

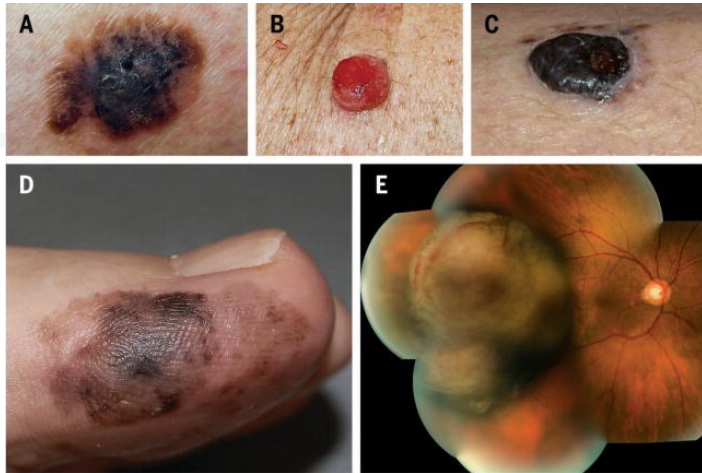


UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI TRIESTE

BIOMARCATORI NEL MELANOMA

Serena Bonin

Melanoma ? Cos'è?



Lo JA, Fisher DE. Science 2014 346(6212):945-9

È un tumore maligno che può originare dai melanociti della cute e delle mucose, dai nevociti (melanociti che costituiscono i nevi) o da melanociti posti in sedi extracutanee

Il melanoma è una neoplasia altamente aggressiva

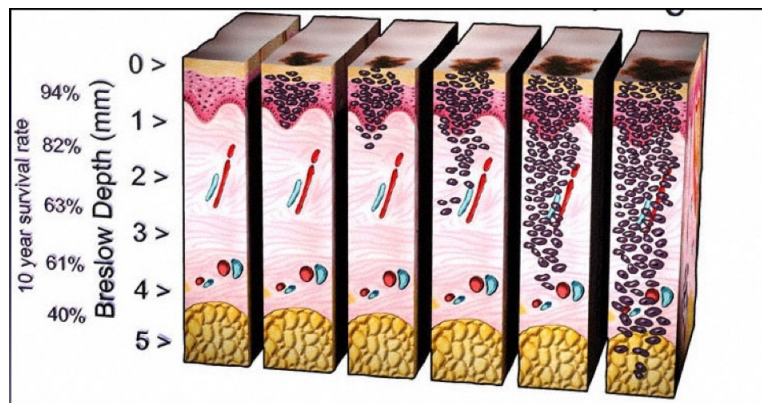
Una volta raro, oggi è in **continua crescita.**

Colpisce prevalentemente soggetti di razza bianca.

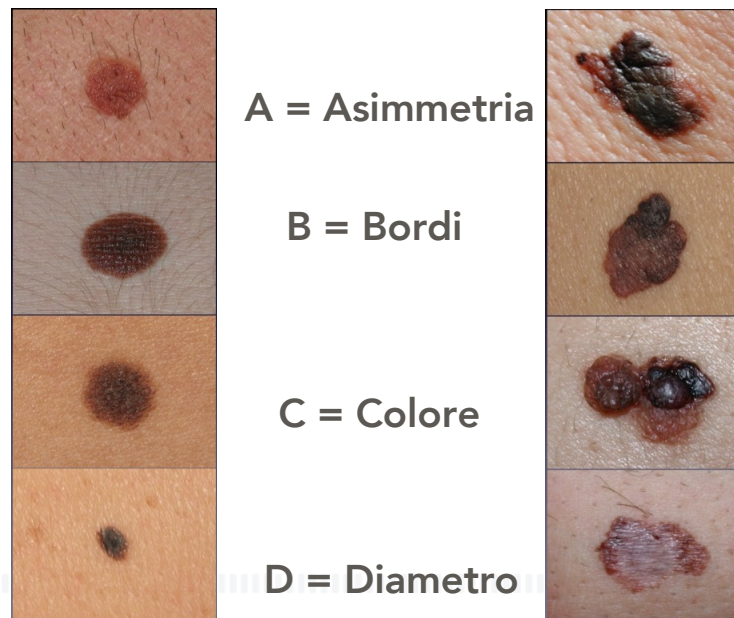


UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI TRIESTE

LO SPESSORE DEL MELANOMA



È IL PARAMETRO CLINICO
PIÙ IMPORTANTE



E = evoluzione

lesioni a rapido accrescimento



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI TRIESTE

A. Melanomas typically associated with CSD

Pathway I. Superficial spreading melanoma/low-CSD melanoma

Pathway II. Lentigo maligna melanoma/high-CSD melanoma

Pathway III. Desmoplastic melanoma

B. Melanomas not consistently associated with cumulative solar damage (no CSD)

Pathway IV. Spitz melanomas

Pathway V. Acral melanoma

Pathway VI. Mucosal melanomas

Pathway VII. Melanomas arising in congenital nevi

Pathway VIII. Melanomas arising in blue nevi

Pathway IX. Uveal melanoma (not considered further in this review)

C. Nodular melanoma (may occur in any or most of the pathways)



Circa il 5% dei melanomi cutanei sono familiari, con 2 o più componenti familiari affetti



Bassa prevalenza di geni ad alta penetranza

Nel melanoma cutaneo sporadico che coinvolge i Caucasici con pelle chiara vi è

alta prevalenza di geni a bassa penetranza che possono interagire con i fattori ambientali, principalmente **l'esposizione al sole**

Fattori di
Rischio
dell'ospite



Fattori di
rischio
ambientali

Predisposizione familiare
(10%)
Più di 50 nevi
melanocitari
Suscettibilità- carnagione
chiera

Esposizione al sole:
Esposizione continua
Esposizione intermittente ed
intensa
Esposizione a pesticidi



MELANINA

FEOMELANINA

EUMELANINA

UVR

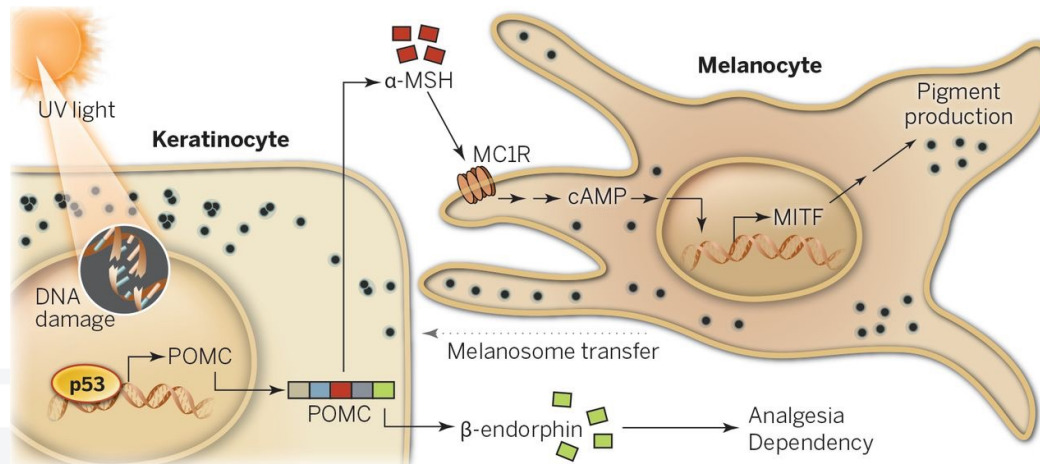
Fototipo

Il rapporto fra feomelanina ed
eumelanina è modulato dal gene
MC1R



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI TRIESTE

La biosintesi della melanina



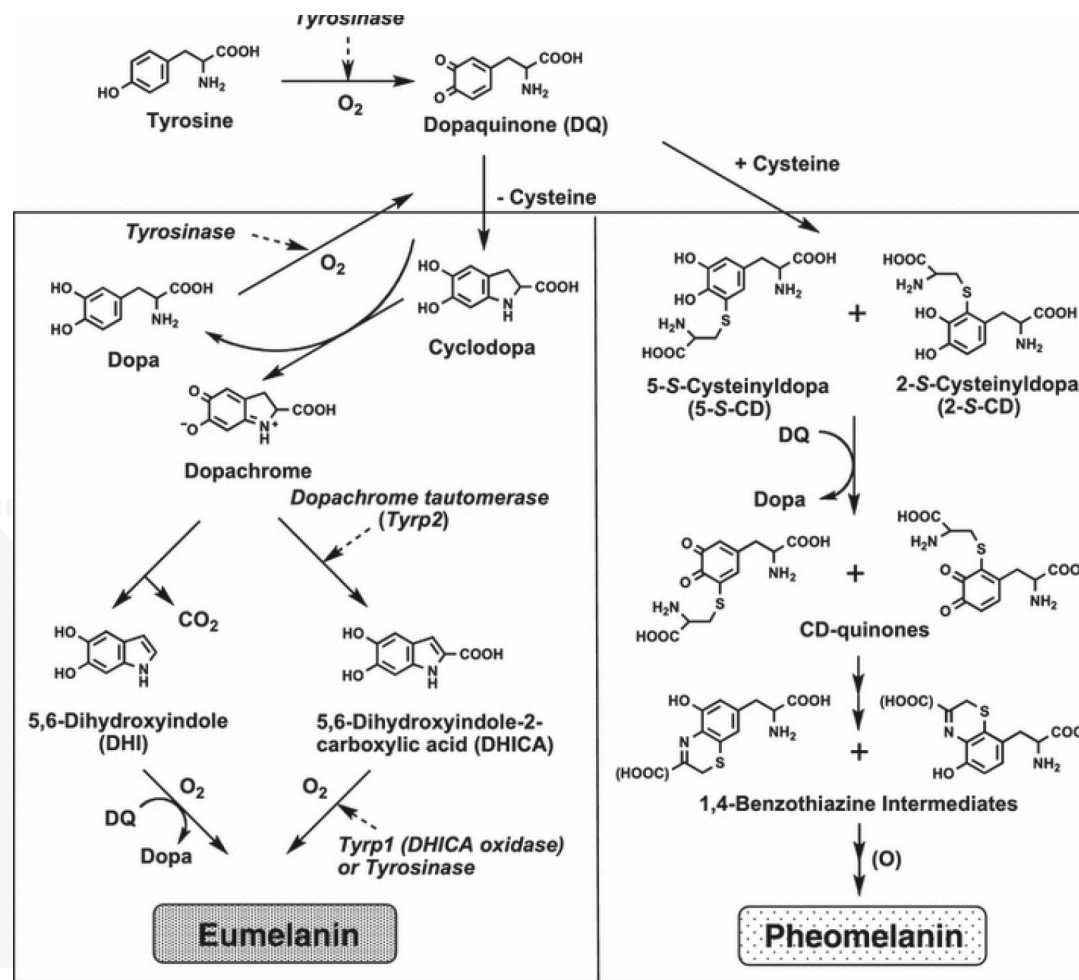
Lo JA, Fisher DE. Science 2014 346(6212):945-9

Attivazione di p53 nei cheratinociti in risposta al danno nel DNA indotto dagli UV

Aumenta l'espressione di POMC- Proopiomelanocortina, un pro-ormone dal cui si generano l'ormone melanotropo e le β-endorfine (analgesia e dipendenza- tanorressia)



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI TRIESTE



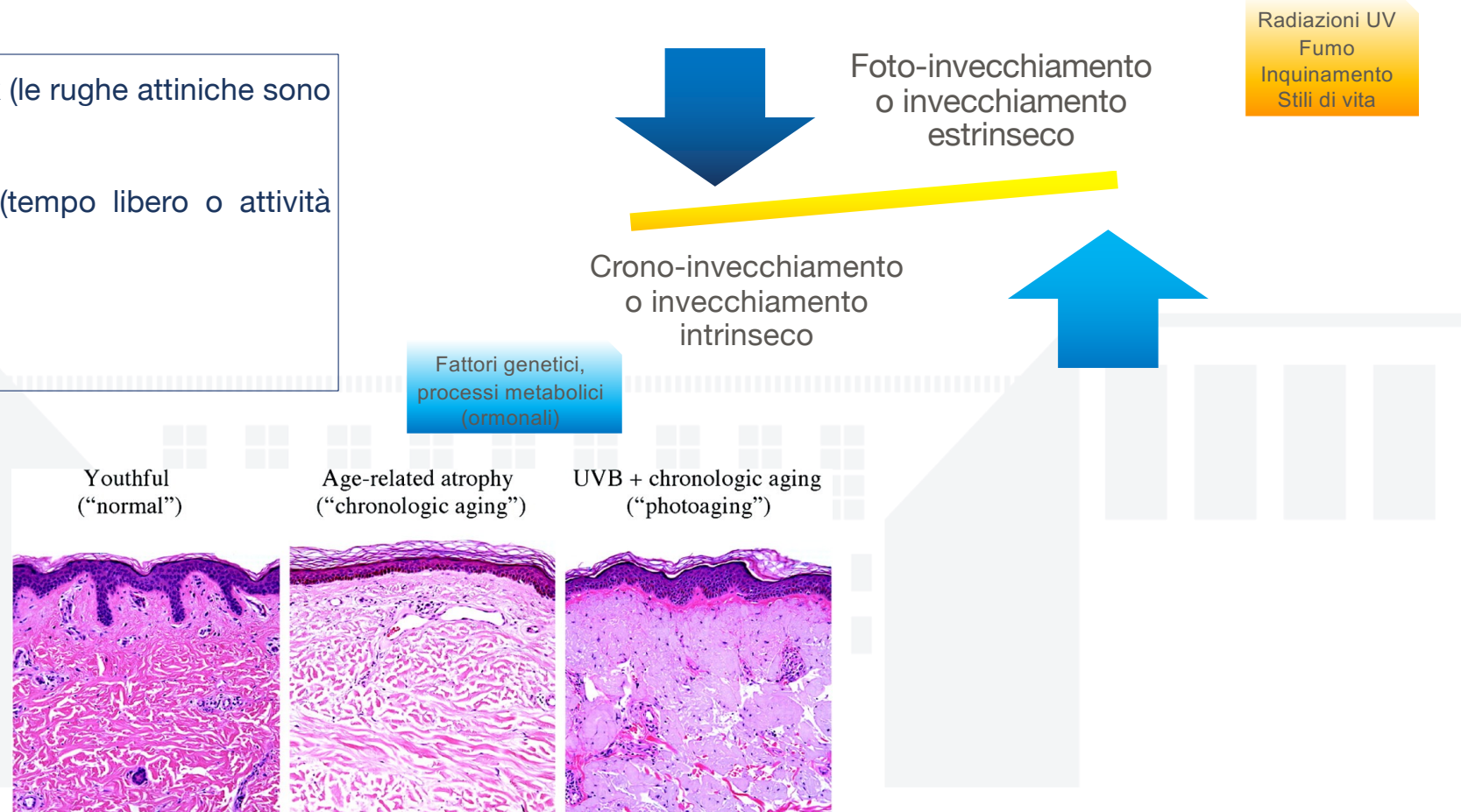
I FOTOTIPI DI FITZPATRICK



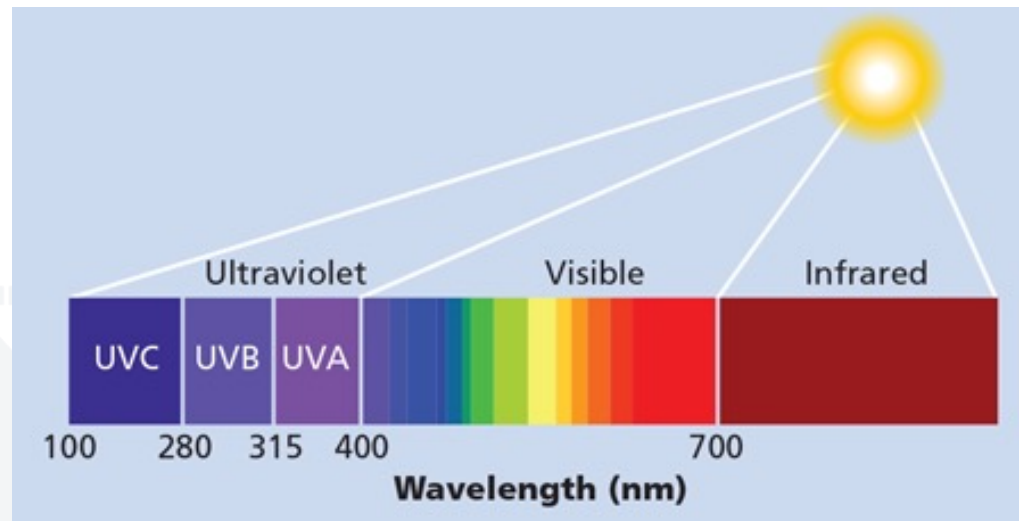
- ✓ **Fototipo 1:** Bianco, capelli rossi o biondi, occhi celesti, efelidi, si brucia sempre e non si abbronzia mai
- ✓ **Fototipo 2:** Bianco, capelli rossi o biondi, occhi blu', marroni o verdi, si brucia solitamente, si abbronzia con difficoltà
- ✓ **Fototipo 3:** Cute color crema, occhi di qualsiasi colore, qualche volta si brucia, gradualmente si abbronzia
- ✓ **Fototipo 4:** Bruno, cute caucasica mediterranea, raramente si brucia, si abbronzia facilmente
- ✓ **Fototipo 5:** Bruno scuro, tipo est asiatico, si brucia molto raramente e si abbronzia con facilità
- ✓ **Fototipo 6:** Nero, non si brucia mai e si abbronzia molto facilmente

Fattori determinanti il foto-invecchiamento cutaneo

- Fototipo secondo Fitzpatrick (le rughe attiniche sono precoci nei fototipi 1 e 2)
- Tempo di fotoesposizione (tempo libero o attività lavorativa)
- Latitudine
- Misure di Protezione



LE RADIAZIONI SOLARI



- ✓ L'energia solare associata alla radiazione rappresenta l'insieme delle radiazioni elettromagnetiche emesse dal Sole.
- ✓ Solo una piccola parte dello spettro solare raggiunge la superficie terrestre.
- ✓ Lo strato di ozono (O_3) nella stratosfera assorbe ad esempio le radiazioni UVC.

Fotobiologia cutanea- UV

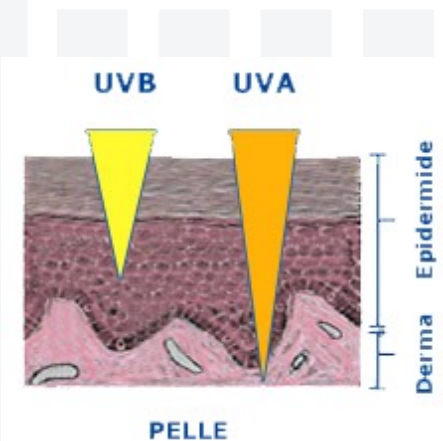
$$E = h\nu$$

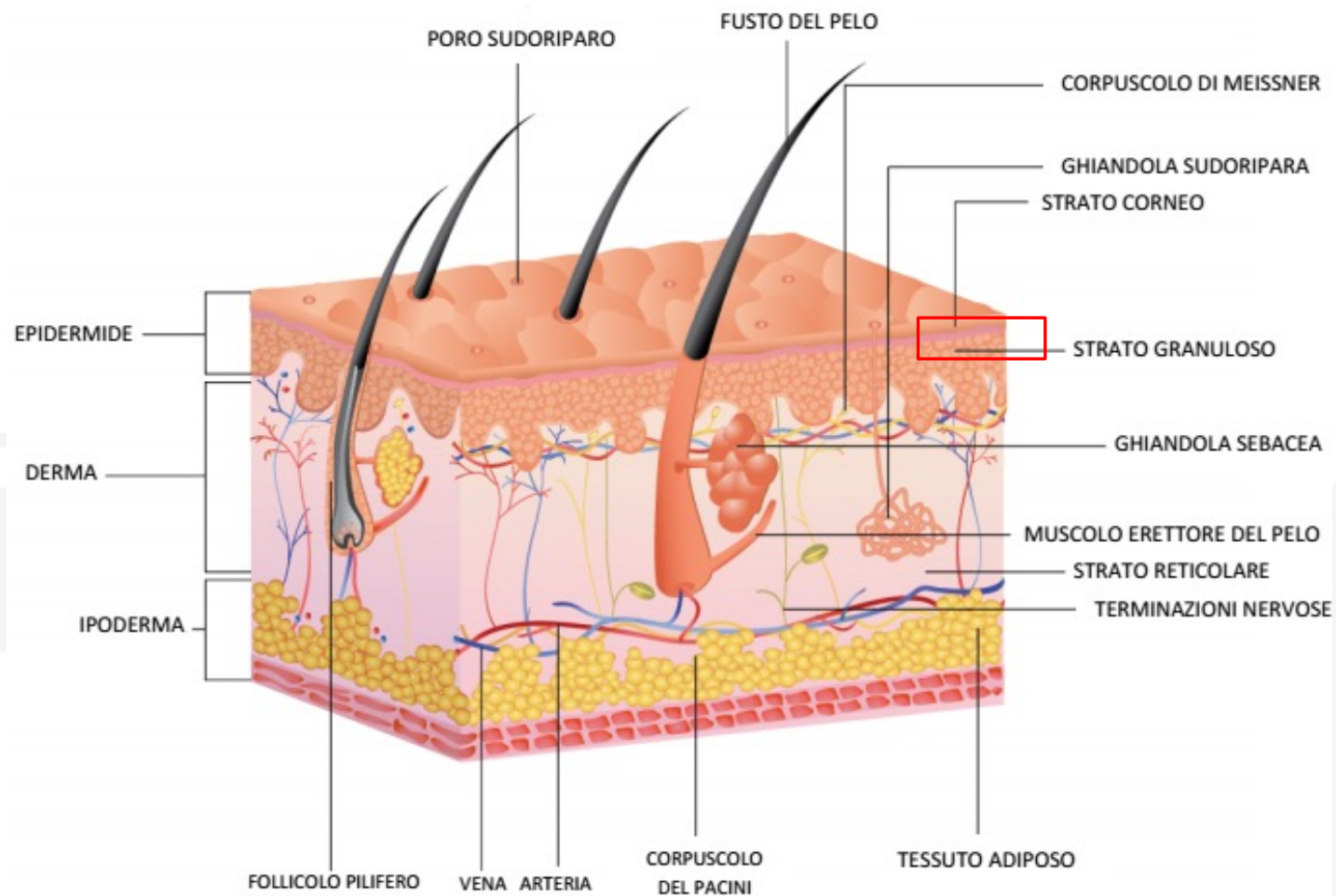
UVC: (190-290 nm) non raggiungono la superficie terrestre perché schermati dallo strato di O_3 . Nocivi per l'uomo

UVB: (290-320 nm) raggiungono la superficie terrestre, hanno più energia degli UVA, sono bloccati dal vetro. Sono responsabili della **pigmentazione indiretta**. Come effetto a lungo termine sono legati allo sviluppo di tumori cutanei (fotocarcinogenesi).

UVA: (320-400 nm) raggiungono la superficie terrestre, passano il vetro e le nuvole. Sono responsabili della **pigmentazione diretta** (effetto Meyrowsky).

Con l'aumento della lunghezza d'onda aumenta il grado di riflessione, ma anche l'intensità di penetrazione della radiazione.





Fattori ambientali che influenzano il livello delle radiazioni UV

1. Altezza del sole: più alto è il sole > è il livello di UV ⇒ radiazione UV varia nel corso della giornata e nell'anno. Massimo a mezzogiorno e nei mesi estivi
2. Latitudine: > vicinanza all'equatore > radiazione UV. È ridotta dalle nuvole, > con cielo sereno. Le nuvole possono diffondere la radiazione UV per effetto dell'umidità dell'aria e particelle (H₂O atmosferica)
3. Altitudine: a quote più elevate l'atmosfera più sottile filtra meno le radiazioni UV. Ogni 1000 m di incremento la radiazione aumenta del 10-12%.
4. Riflessione: i raggi UV sono riflessi o diffusi da diverse superfici, la neve riflette circa l'80% della radiazione UV, la sabbia asciutta circa il 15%, il mare o il lago circa il 10%.



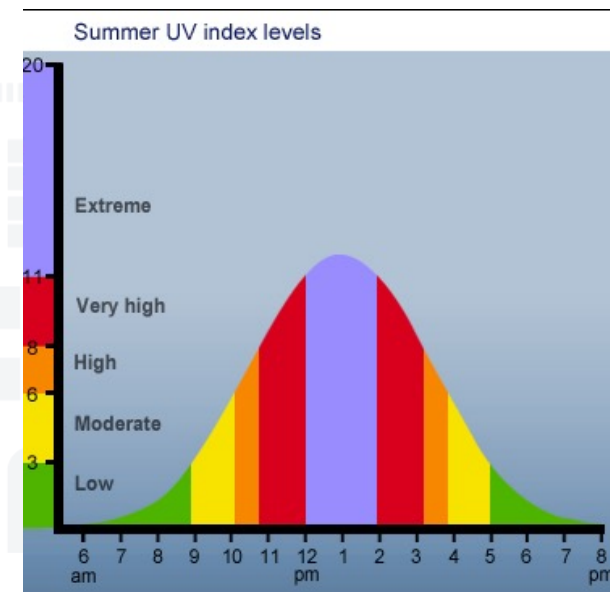
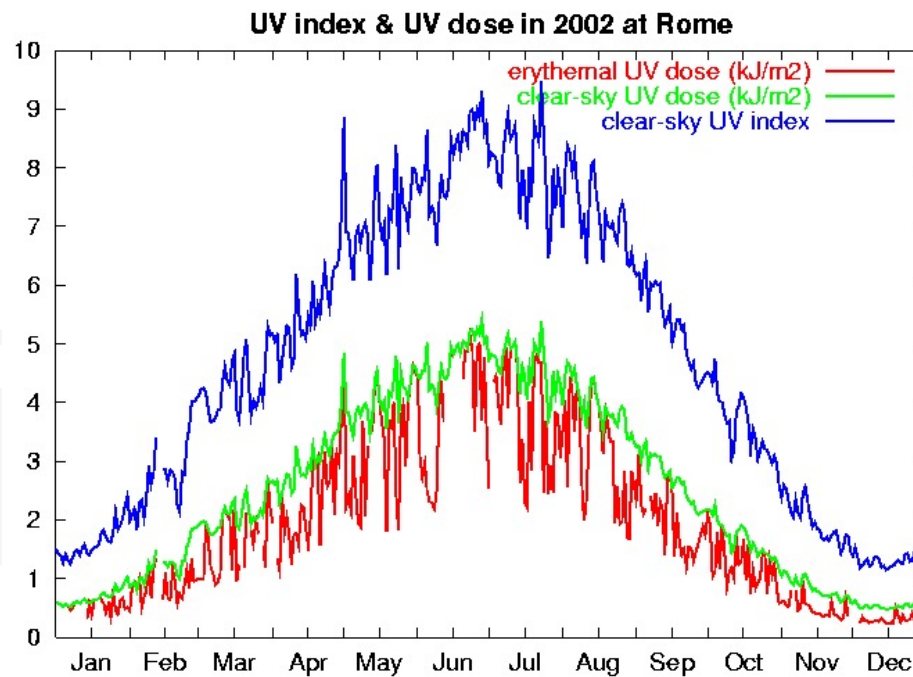
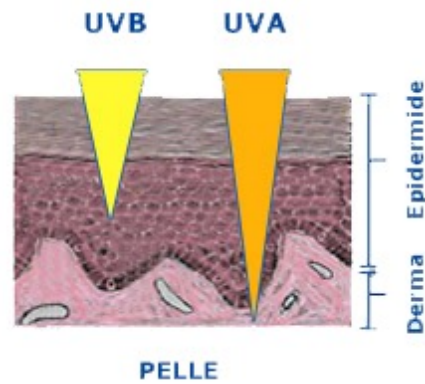




FOTO INVECCHIAMENTO IN GEMELLE OMOZIGOTI



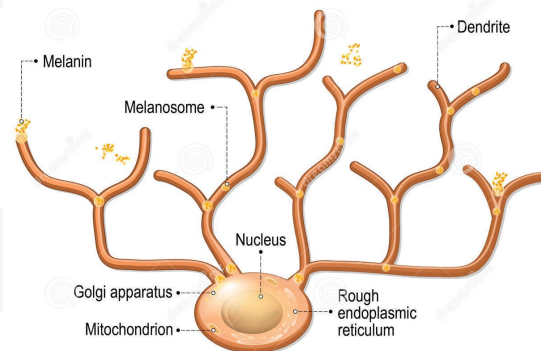
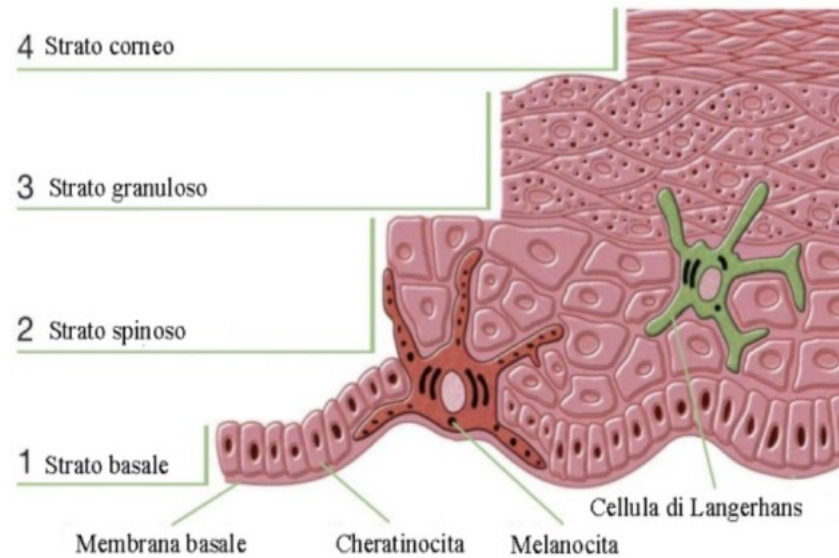
Che cosa determina il colore della pelle?

Unità melanica-epidermica

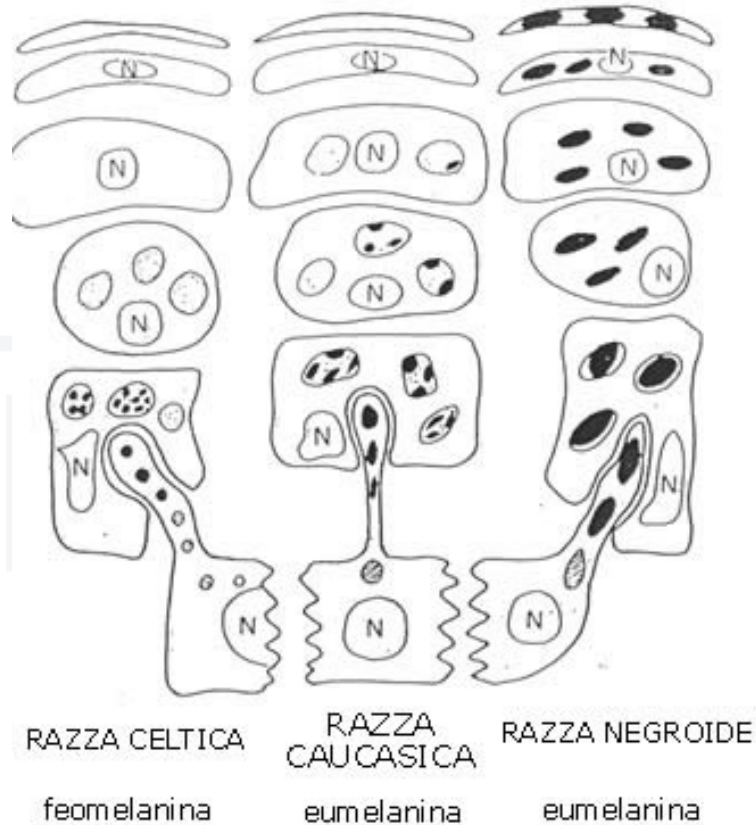
2 tipi di cellule: **cheratinociti** dell'epidermide e **melanociti** (gli unici preposti alla biosintesi della melanina).

1 melanocita per circa 36 cheratinociti.

In tutte le etnie.



Che cosa varia nelle diverse etnie?



I melanosomi si trasferiscono dai melanociti ai cheratinociti, per coprirne il nucleo proteggendone così il materiale genetico.

Nella razza negroide i melanosomi, oltre ad essere più grandi e maturi

Sono in quantità maggiore e vengono trasferiti come unità nei cheratinociti. Non

degradano e si ritrovano intatti anche nello parte superficiale della cute (corneo), a formare uno strato continuo che assorbe gli UV.

Diagnosi

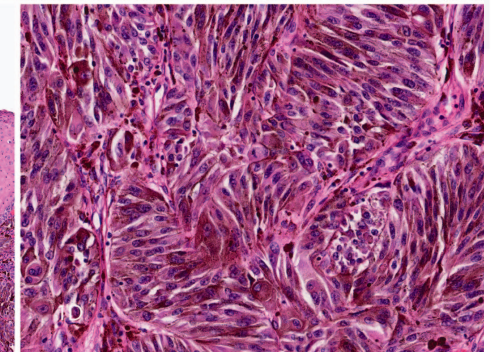
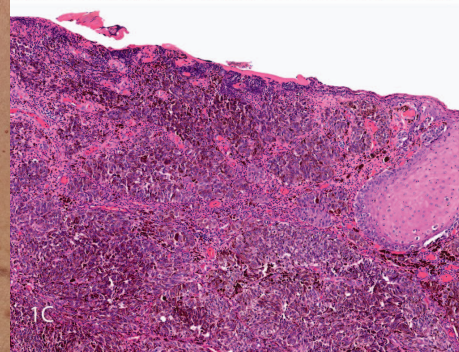
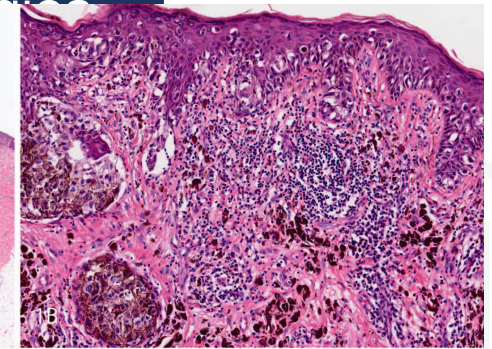
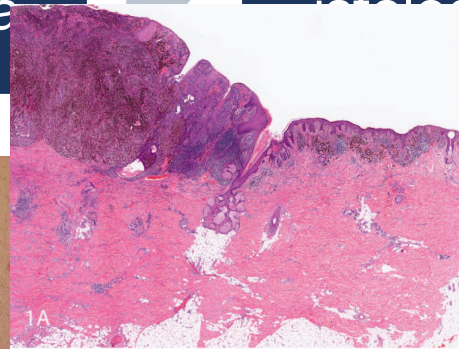
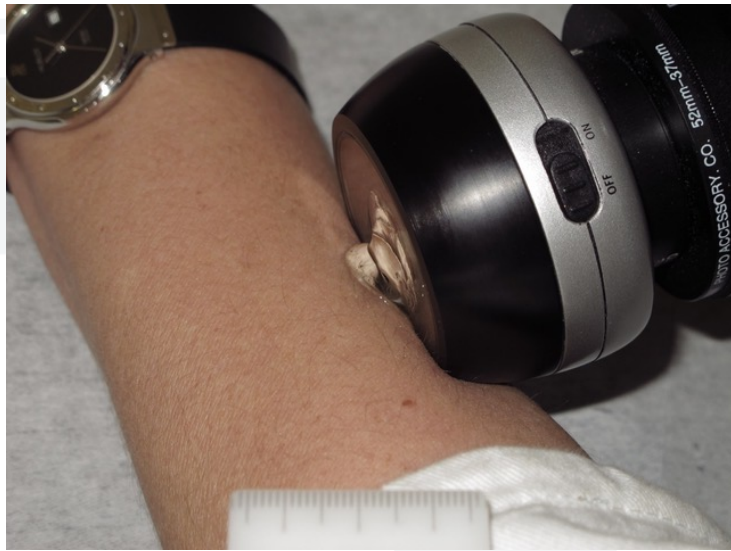
Sospetto
clinico
Dermoscopia



Resezione
chirurgica



Conferma
istologica



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI TRIESTE

Diagnosi

Sospetto
clinico
Dermoscopia



Resezione
chirurgica



Conferma
istologica

IMMUNO PROFILE OF MELANOCYTIC TUMORS

TUMOR TYPE

POSITIVE IN > 90%

POSITIVE IN 50-90% (+/-)

POSITIVE IN 10-50% (-/+)

POSITIVE IN <10% (-)

MELANOMA

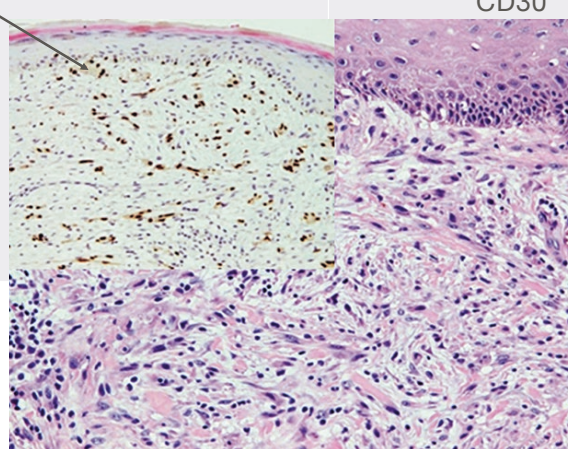
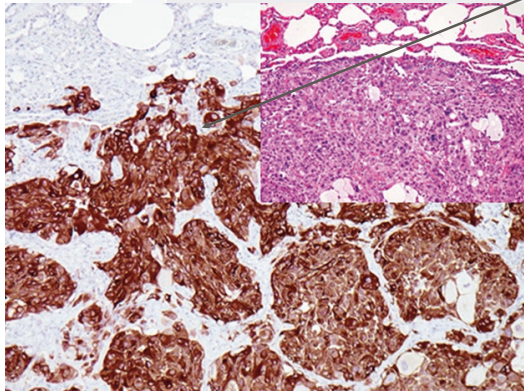
HMB45, MELAN A, SOX 10, TYROSINASE, S100, MAGE, MITF, CD63, PNL2, WT-1, VIMENTIN, KI67
(HIGH PROLIFERATION INDEX IN MELANOMA BUT VERY LOW IN NEVI CELLS)

NESTIN, P16, CD10

CD68, CD117, MUM-1, CD30

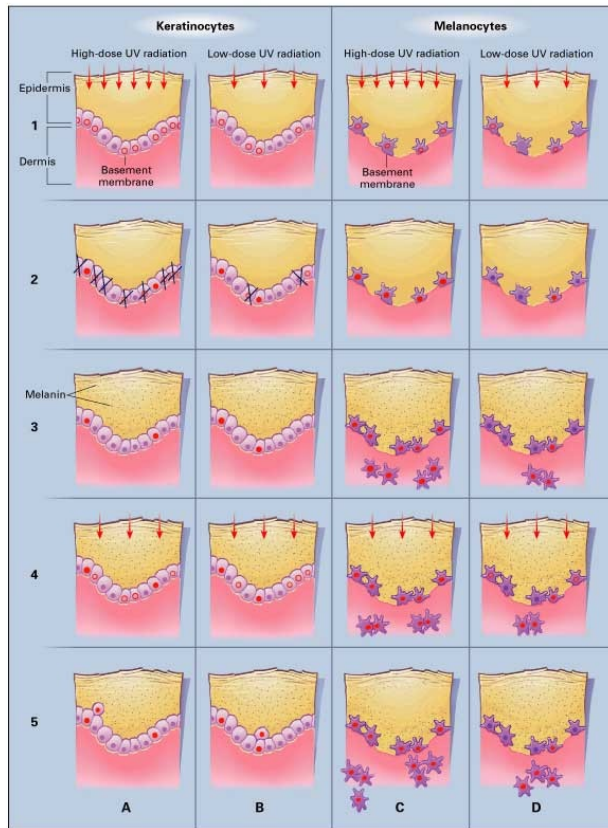
PAN-CYTOKERATIN, EMA

↓
A WEAK FOCAL CYTOKERATIN EXPRESSION MAYBE FOUND IN A SMALL SUBSET OF MALIGNANT MELANOMA

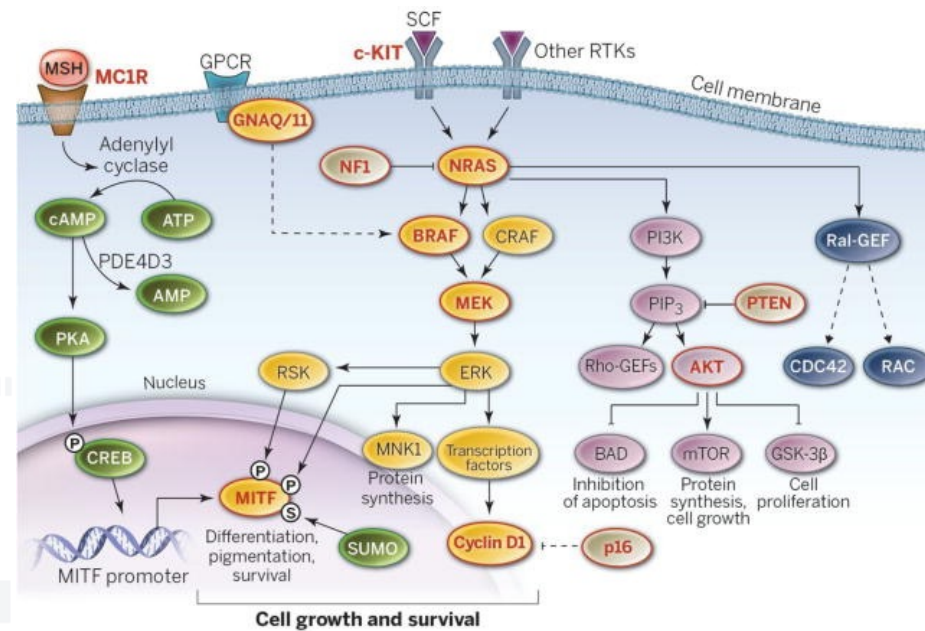


UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI TRIESTE

Multi-step carcinogenesis



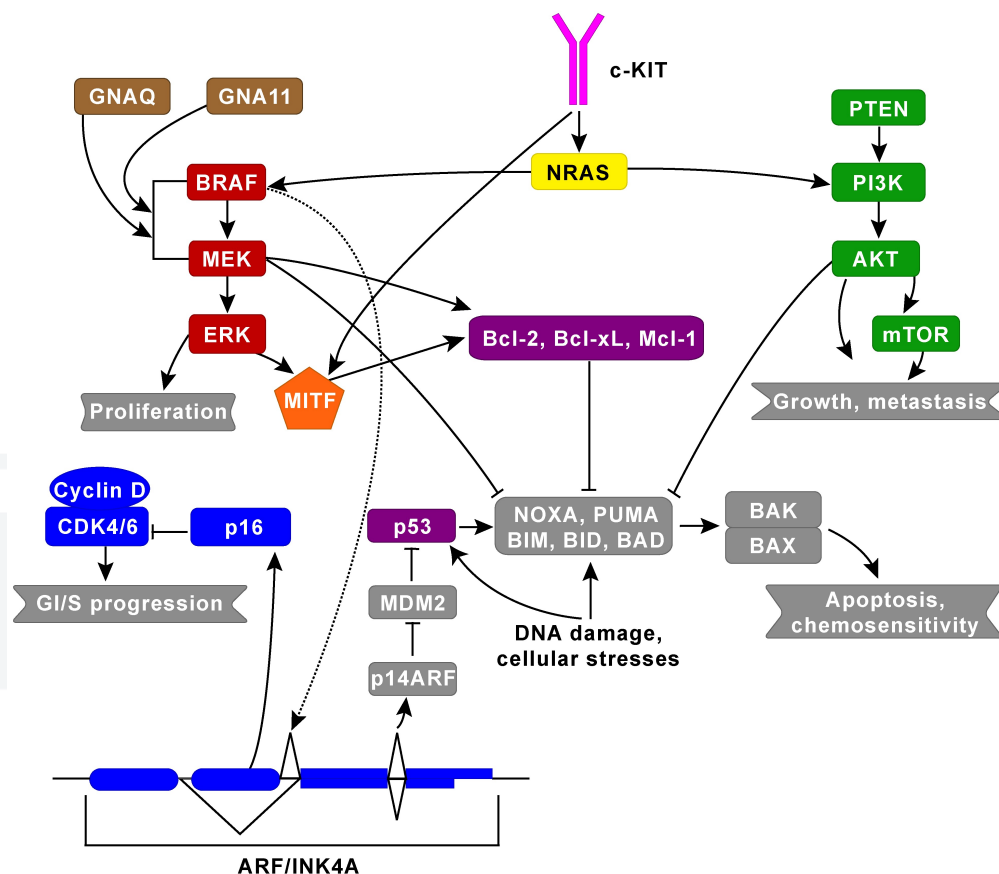
Gilchrest BA et al. N Engl J Med 1999;340:1341-1348.



Lo JA, Fisher DE. Science 2014 346(6212):945-9



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI TRIESTE



MAPK e PI3K/AKT sono le vie del segnale maggiormente coinvolte nel melanoma.

Melanoma Cutaneo

Oncogeni

BRAF (40–70% mutato)

NRAS (15–30% mutato)

AKT3 (overespresso)

Oncosoppressori **CDKN2A**

A (30–70% delecto, mutato, o silenziato)

PTEN (5–20% delecto o mutato)

APAF1 (40% silenziato)

TP53 (10% perso o mutato)

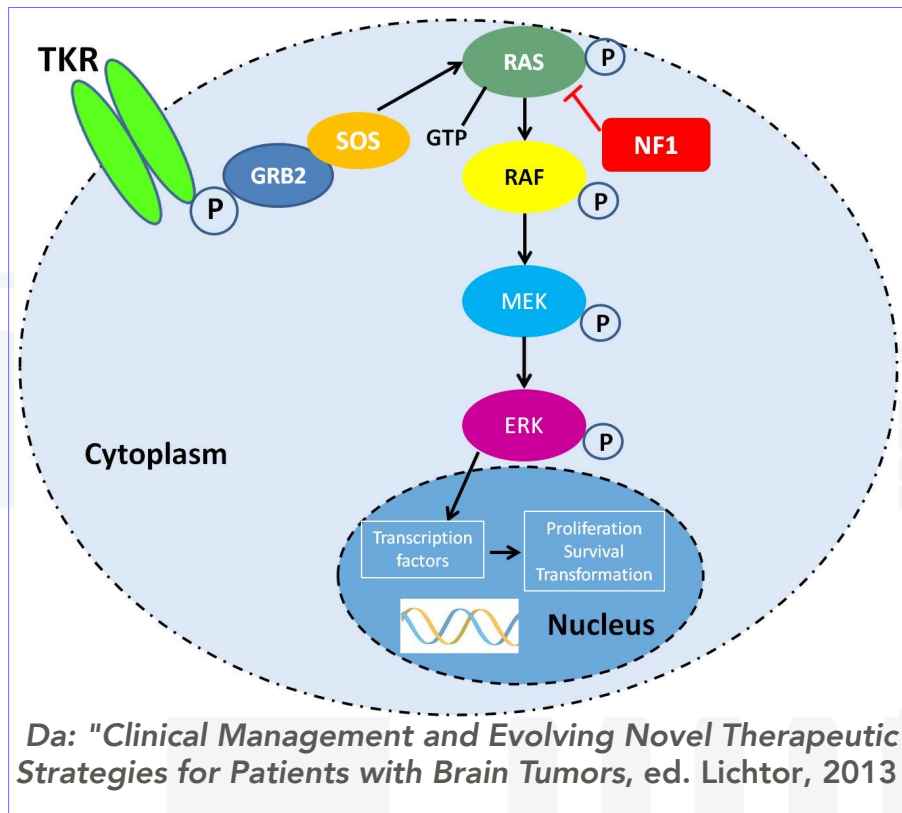
perso o mutato)

Altro **Ciclina D1 (6–44%)**



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI TRIESTE

ERK → BRAF O NRAS



Il melanoma dipende dalla funzionalità di ERK. La maggioranza dei melanomi presenta mutazioni a BRAF o NRAS, o perdita di funzione di NF1 o qualunque alterazione che porti alla iper-attivazione di ERK.

In cute non
danneggiata
cronicamente dal
sole → Mutazioni
BRAF o NRAS

1. Non presentano mutazioni a BRAF o NRAS
2. Spesso amplificazione genica di CDK4 o Ciclina D1 o mutazioni a c-KIT

Melanoma della
mucose

Melanoma

Melanoma della
Coroide → Mutazioni
GNAQ o GNA11

Cute
cronicamente
danneggiata
dal sole

Melanoma
acrale



.....PUNTO DI PARTENZA

Mutations of the *BRAF* gene in human cancer

NATURE | VOL 417 | 27 JUNE 2002 | www.nature.com/nature

[CANCER RESEARCH 64, 2338–2342, April 1, 2004]

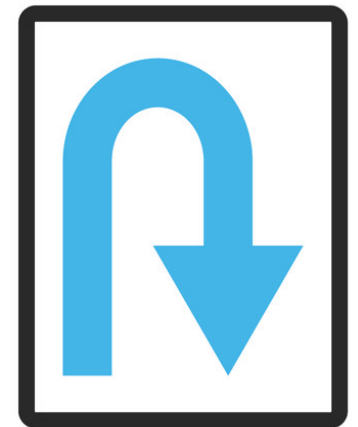
Advances in Brief

V599E *B-RAF* is an Oncogene in Melanocytes

Claudia Wellbrock,¹ Lesley Ogilvie,² Douglas Hedley,² Maria Karasarides,¹ Jan Martin,² Dan Niculescu-Duvaz,²
Caroline J. Springer,² and Richard Marais¹

¹Signal Transduction Team, Cancer Research UK Centre of Cell and Molecular Biology, The Institute of Cancer Research, London, United Kingdom, and ²Gene and Oncogene Targeting Team, The Institute of Cancer Research, Sutton, Surrey, United Kingdom

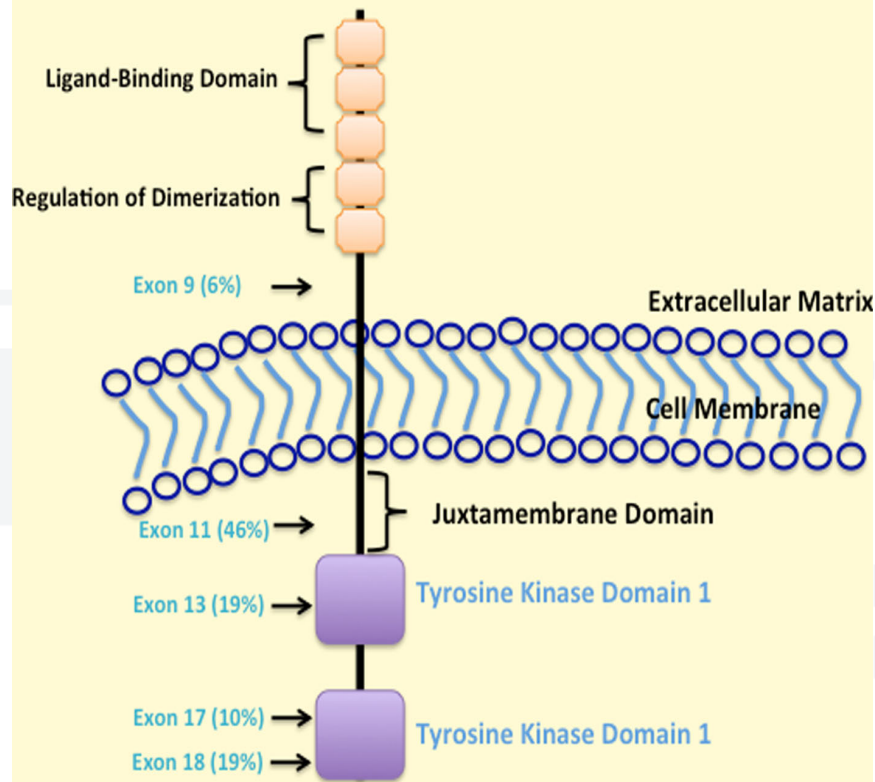
2011 un inibitore di BRAF mutato viene approvato da FDA per il trattamento del melanoma cutaneo metastatico o non resecabile



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI TRIESTE

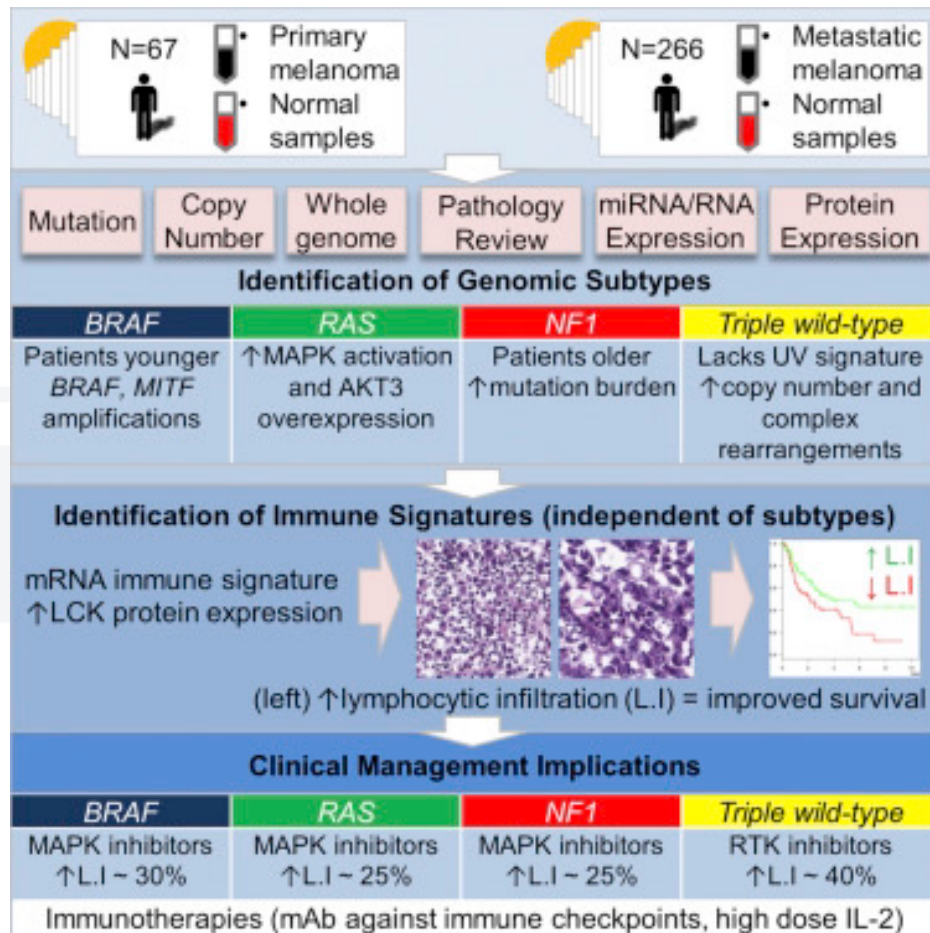
KIT (20%)*

Ann Surg Oncol (2014) 21:2059–2067



- ✓ È un recettore tirosin chinasi
- ✓ Mutazioni a c-KIT caratterizzano circa il 20% dei melanomi delle mucose, il 17% de melanomi che insorgono in aree cutanee danneggiate cronicamente dal sole e nell'11% dei melanomi acrali.

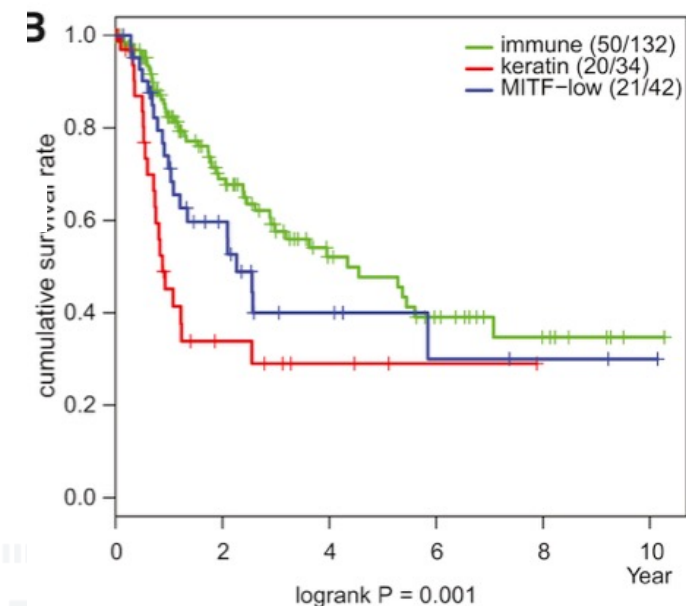
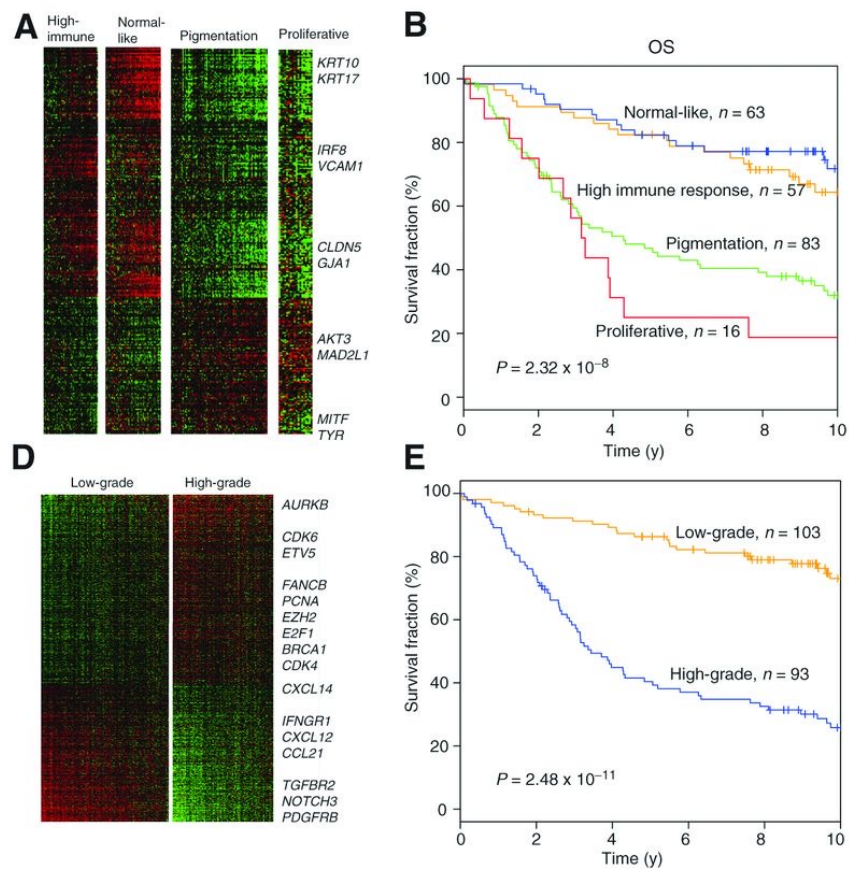
CLASSIFICAZIONE MOLECOLARE



Genomic Classification of Cutaneous Melanoma. Cell, Volume 161, Issue 7, 2015.

		PRIMARY TUMORS (N = 67)		METASTATIC TUMORS (N = 266)	
A. PATIENT DEMOGRAPHIC DATA AND CLINICAL INFORMATION					
DATA ELEMENT	VALUE	(PERCENTAGE)		VALUE	(PERCENTAGE)
AGE (AT DIAGNOSIS), IN YEARS					
MEAN	61,7			55,6	
MEDIAN	62.5			55.0	
RANGE	24 - 90			15 - 87	
GENDER					
MALE	30	(67%)		153	(61%)
FEMALE	15	(33%)		96	(39%)
ETHNICITY					
WHITE (NON-HISPANIC/LATINO)	41	(91%)		242	(97%)
HISPANIC/LATINO	1	(2%)		3	(1.2%)
BLACK/AFRICAN AMERICAN	0	(0%)		1	(0.4%)
ASIAN	3	(7%)		3	(1.2%)

BRAF MUTATION	MUTATION AT CODON 600 OF BRAF GENE	INCIDENCE IN BRAF-MUTANT MELANOMA, %
COMMON BRAF MUTATIONS		
V600E	VALINE → GLUTAMIC ACID	84.6
V600K	VALINE → LYSINE	7.7
OTHER BRAF MUTATIONS		
V600R	VALINE → ARGININE	1
V600M	VALINE → LEUCINE	0.3
V600D	VALINE → ASPARTIC ACID	0.1
NON-V600 MUTATIONS (EG, K601E, D594N)	—	<1



High Immune/Normal like

Pigmentation/Proliferative

Katja Harbst et al. Clin Cancer Res 2012;18:4026-4036

©2012 by American Association for Cancer Research

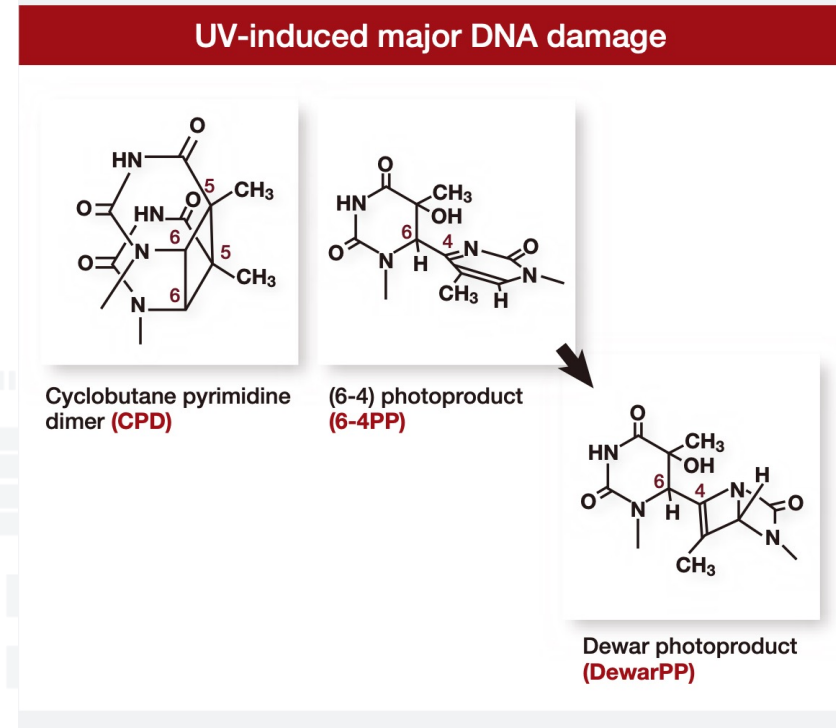
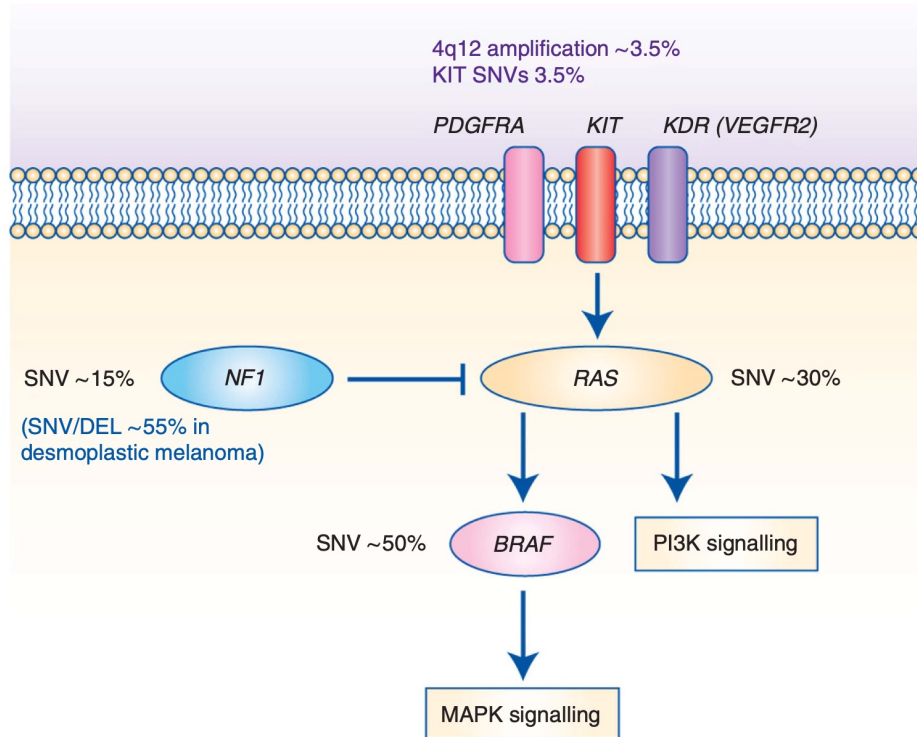
Clinical
Cancer Research

AACR American Association
for Cancer Research



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI TRIESTE

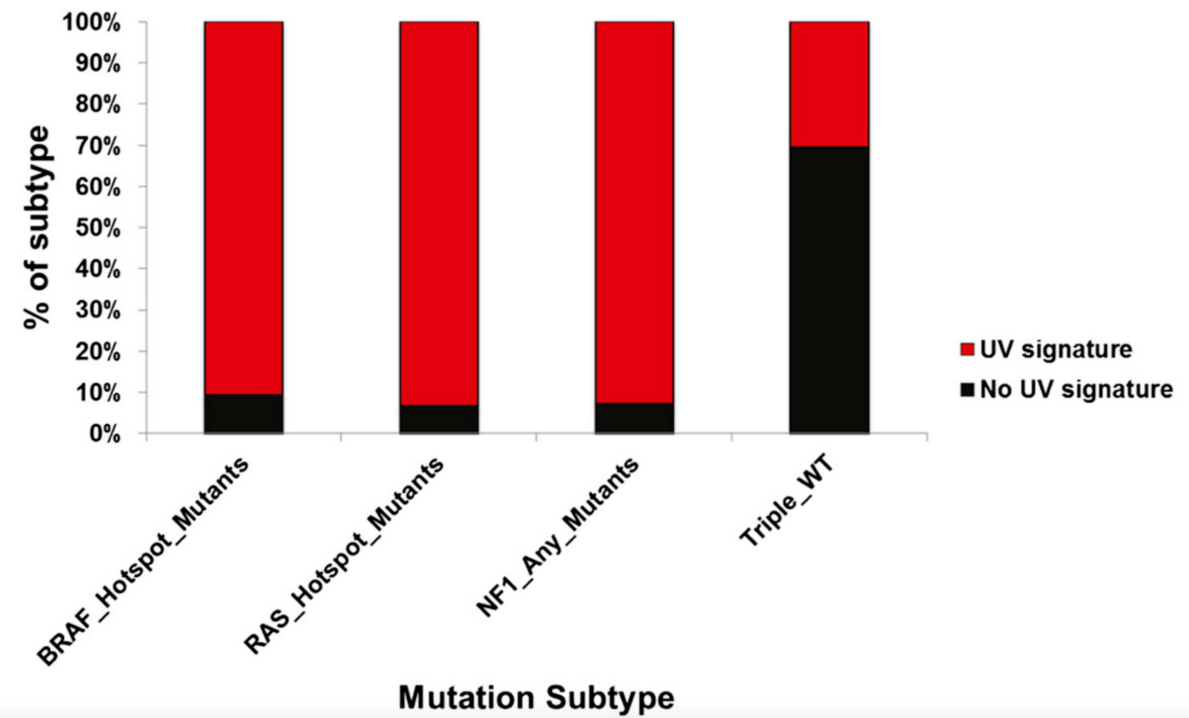
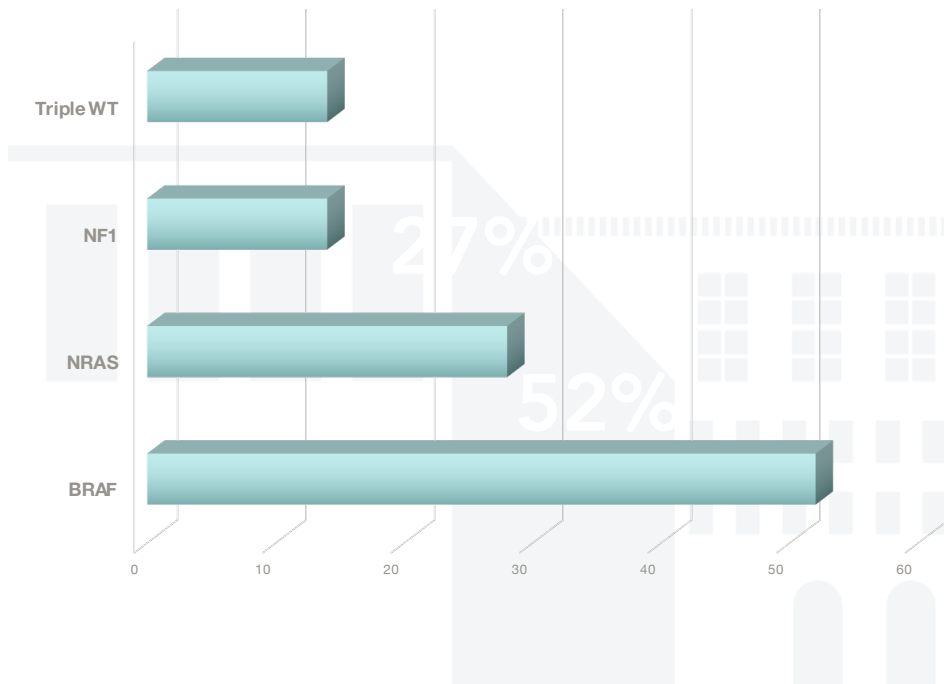
UV SIGNATURE



https://search.cosmobio.co.jp/cosmo_search_p/search_gate2/docs/CAC_/NMDND001.20130201.pdf

Foto-prodotti dipirimidinici → Sostituzioni C→T , incluse CC→TT

UV SIGNATURE E SOTTOTIPI GENOMICI



Genomic Classification of Cutaneous Melanoma. Cell, Volume 161, Issue 7, 2015.



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI TRIESTE

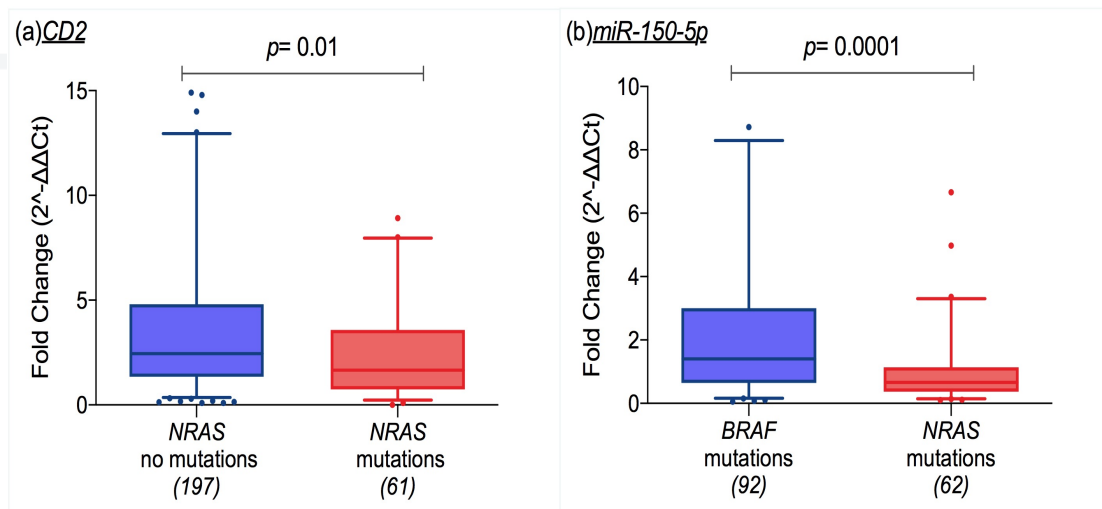
SOTTOTIPI E DEMOGRAFIA PAZIENTI

BRAF → pz più giovani, tronco, cute senza danno cronico da sole, SSM.

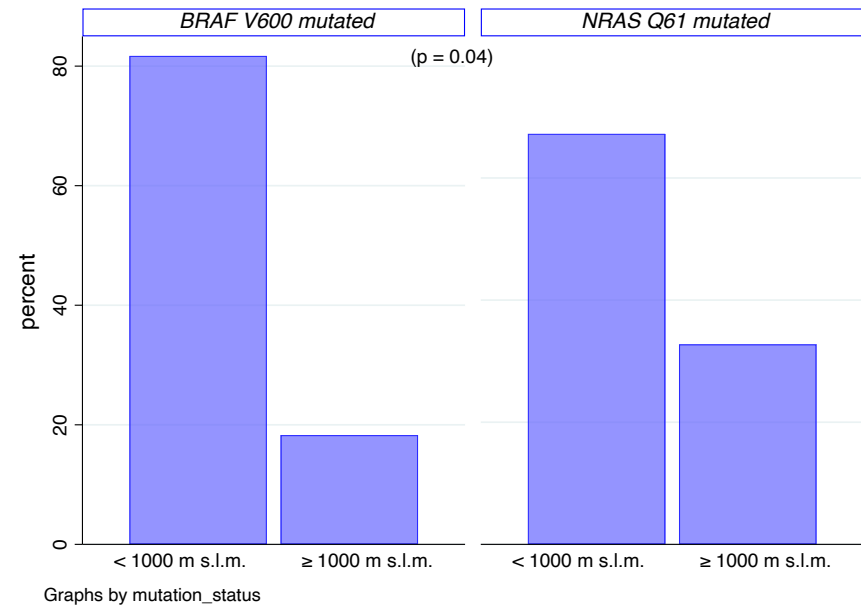
NRAS → pz più vecchi dei BRAF, estremità, > mitosi, prognosi peggiore.

NF1 → pz più anziani

Tripli WT- cKIT- melanomi delle mucose e acrali



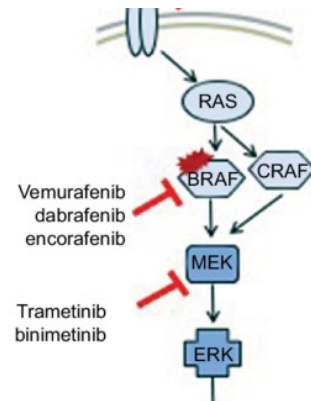
De Martino E. et al. The influence of residential altitude on the molecular profile and survival of melanoma: Results of an Interreg study. Cancers 2020



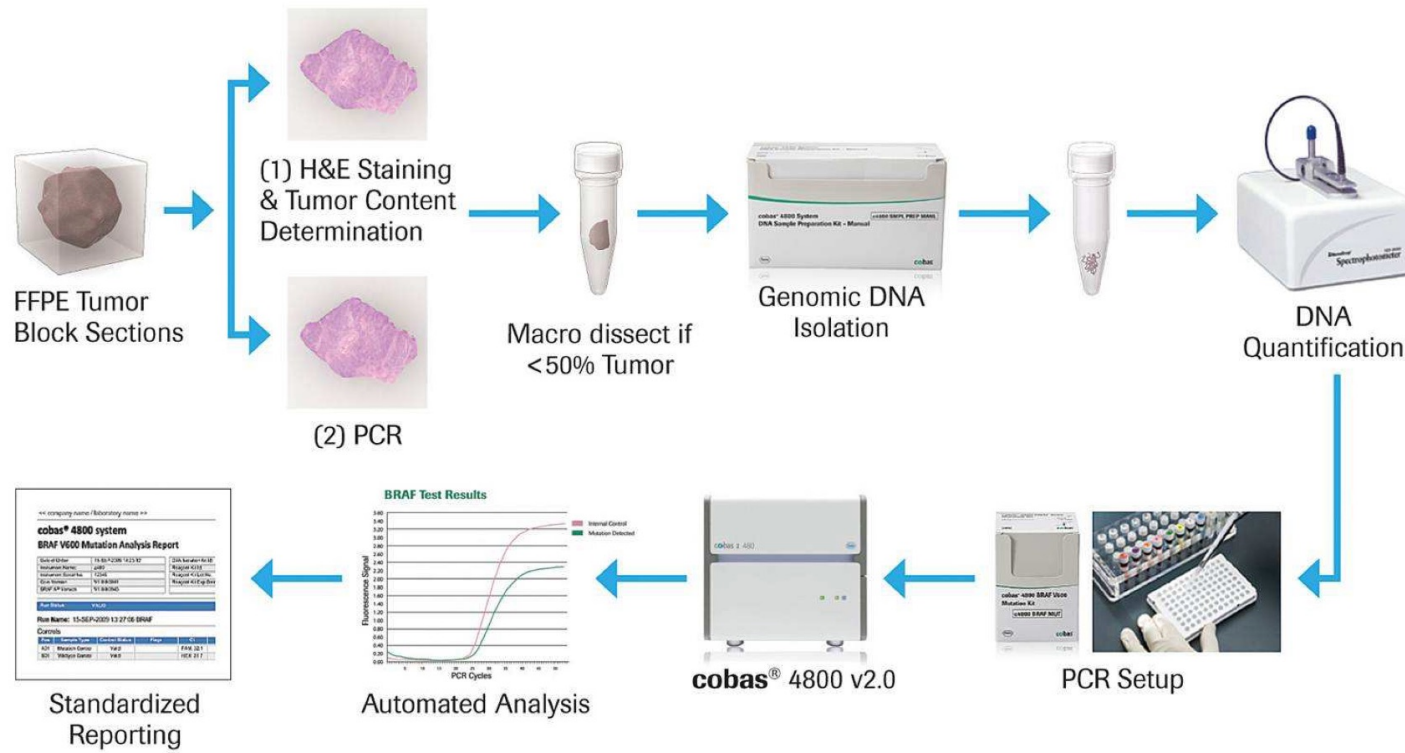
UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI TRIESTE

FDA approved test

GENE NAME (N° APPROVED TEST)	METHOD	PATHOLOGY	DRUG
BRAF V600E, BRAF V600K	FAST REAL TIME PCR	MELANOMA	DABRAFENIB (BRAF V600E), TRAMETINIB (V600E, V600K) BRAFTOVI (ENCORAFENIB- BRAF INHIBITOR)) AND MEKTOVI (BINIMETINIB MEK INHIBITOR) (QUALUNQUE MUTAZIONE BRAFV600)
BRAF V600E (BRAF V600K)*	REAL- TIME PCR	MELANOMA	ZELBORAF (VEMURAFENIB) COTELLIC (COBIMETINIB- MEK INHIBITOR) - COMBINATION WITH ZELBORAF (VEMURAFENIB- BRAF INHIBITOR)
BRAF V600E	FAST REAL-TIME PCR	COLON CANCER	BRAFTOVI (ENCORAFENIB) –COMBINATION WITH ERBITUX (CETUXIMAB))



*** test**

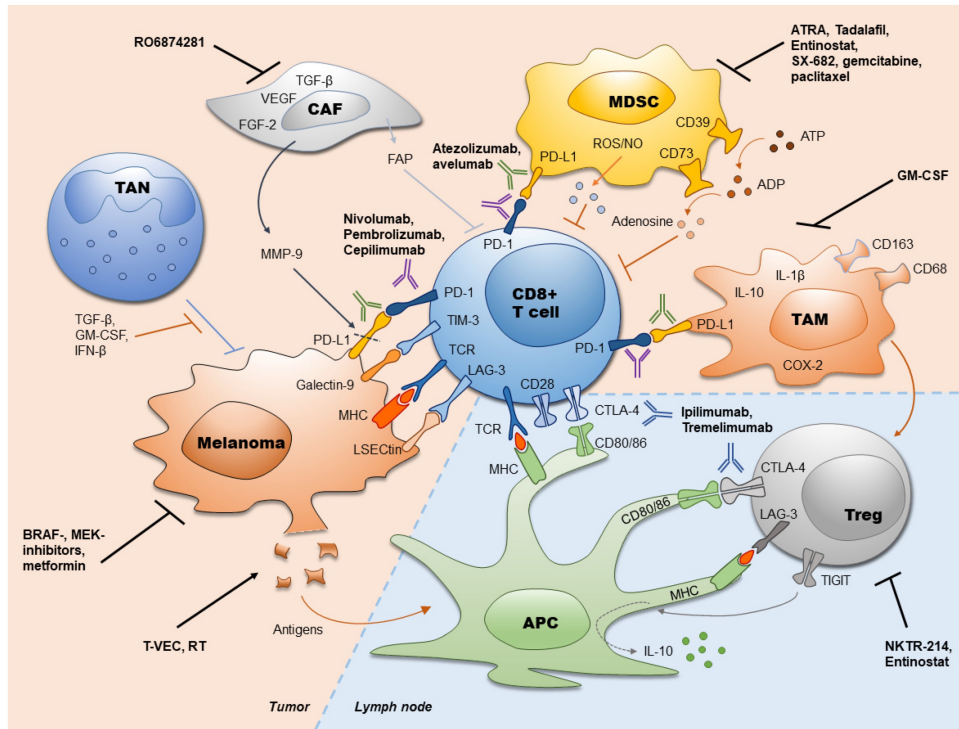


Per V600E, ma
"Sensibile" anche
alle V600K e V600D



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI TRIESTE

L'IMMUNOTERAPIA NEL MELANOMA

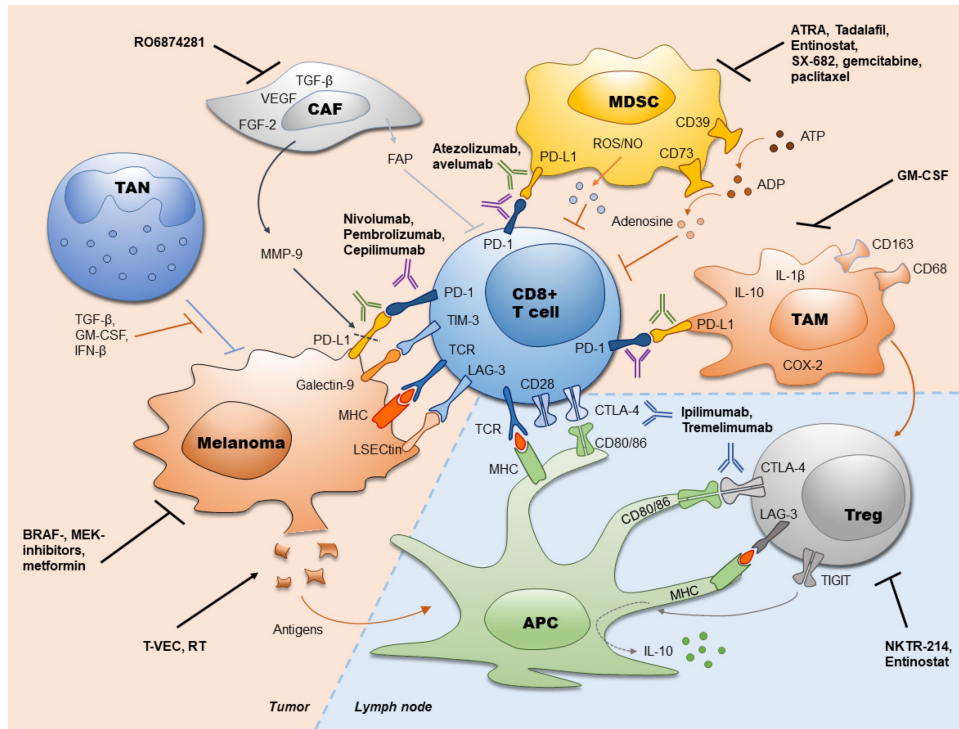


PD-1 inhibitors: pembrolizumab, Nivolumab
 Anti PD-L1: Atezolizumab
 Anti-CTLA4: Ipilimumab

Farmaci anti-PD-1 sono la prima scelta di immunoterapia nel trattamento del melanoma avanzato. Programmed cell death receptor 1 (PD-1, PDCD1, CD279) è una molecola checkpoint presente sui linfociti T, sui linfociti B e sui linfociti NK, che possono interagire con i suoi ligandi: PD-L1 (CD274; espresso su cellule tumorali, fibroblasti, APC) o PD-L2 (cellule ematopoietiche). Il legame di PD-1 con il suo ligando PD-L1 porta a disfunzione delle cellule T, neutralizzazione e anergia, motivo per cui la sovraespressione di PD-L1 da parte delle cellule tumorali attenua la risposta antitumorale. Intuitivamente, i pazienti con un livello elevato di questa proteina nel tumore dovrebbero avere la migliore risposta a questa terapia.

In teoria quindi, i pazienti con sovraespressione di questo ligando sulle cellule di melanoma hanno maggiori probabilità di trarre beneficio dalla terapia con nivolumab o pembrolizumab rispetto a quelli con bassa o nessuna espressione del ligando.

L'IMMUNOTERAPIA NEL MELANOMA



PD-1 inhibitors: pembrolizumab, Nivolumab
 Anti PD-L1: Atezolizumab
 Anti-CTLA4: Ipilimumab

Biomarcatori tumorali:

TMB

MHC-I (CD8, possibile risposta a farmaci anti CTLA4) e
 MHC-II sul melanoma (CD4, possibile risposta a farmaci anti
 PD-1)

PD-L1

Biomarcatori del microambiente

TILs

INF-γ signature

Biomarcatori sistemici

Fattori circolanti (LDH come surrogate di TMB, CRP, HGF,
 IL-6, IL-8, CXCL5, sPD-L1, sCTLA4)

Linfociti circolanti (neutrophil to lymphocyte ratio < PFS e
 OS)

Microbiota: > microbiota diversity > response

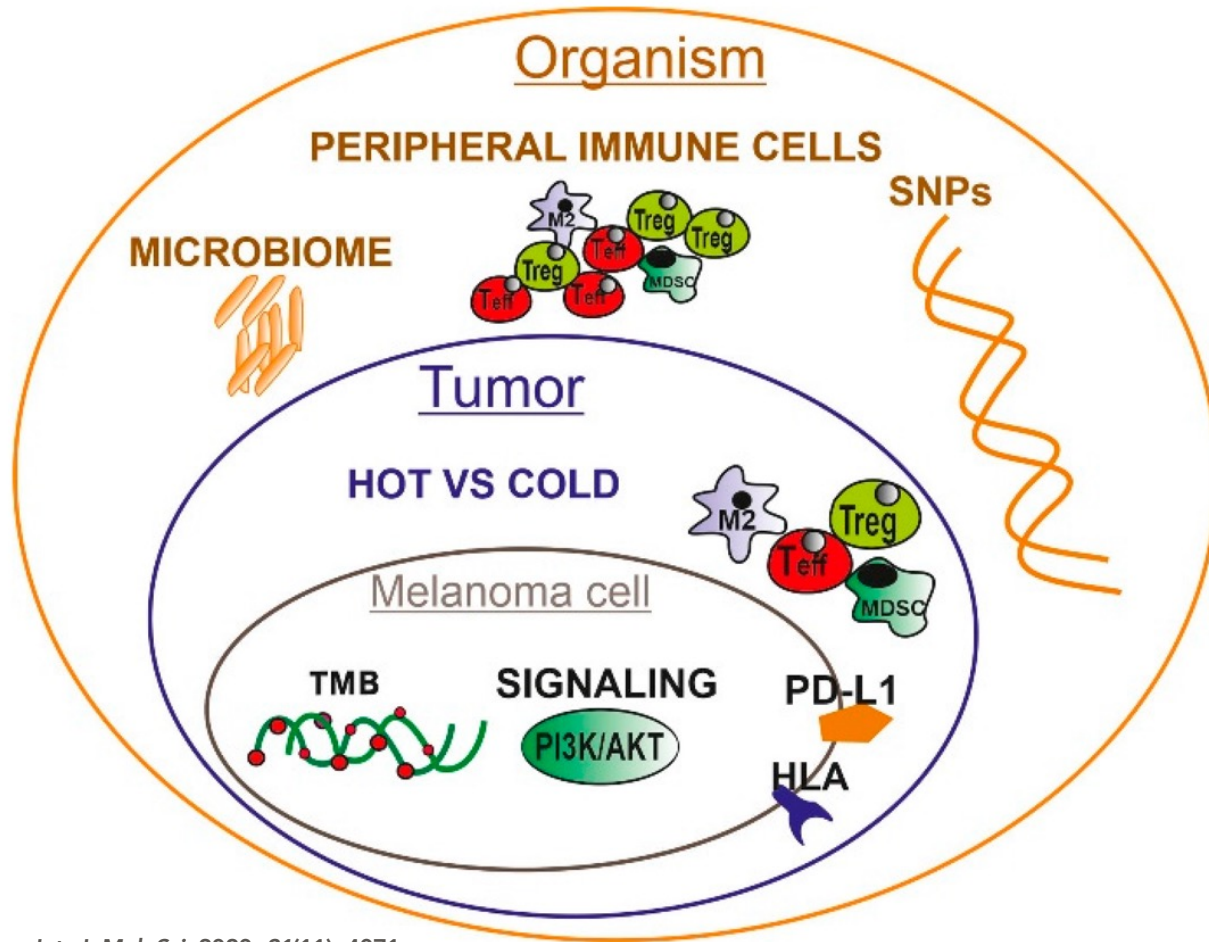
Altri

NRAS, PD-L2 promoter hypermethylation...



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI TRIESTE

BIOMARCATORI PER L'IMMUNOTERAPIA



La risposta immunitaria dipende da molteplici fattori: TMB, l'espressione del ligando di PD-1 (PD-L1), le proteine HLA responsabili della presentazione dei neoantigeni. A livello tumorale, la risposta anti-melanoma è regolata dalla presenza di cellule immunitarie (tumori “caldi” vs. tumori “freddi”) e a livello dell'organismo dal microbioma, profilo ereditato dei SNPs e lo stato del sistema immunitario periferico.

BIOMARCATORI PER L'IMMUNOTERAPIA NEL MELANOMA?

Diversi biomarcatori candidati per la predittività all'immunoterapia

→ un singolo fattore non riassume l'intera complessità del melanoma.

→ nessun biomarcatore (TMB, PD-L1, TIL, MHC, microbiota.....) ha sensibilità e specificità tali da esser usati da solo.

→ una combinazione di più biomarcatori potrebbe prevedere meglio l'efficacia dell'immunoterapia.

→ "immunogramma del cancro", che tiene conto di diversi parametri che combinati potrebbero stimare l'efficacia dei trattamenti immunologici

RESISTENZA SECONDARIA



Fig 2. A 38-year-old man with BRAF-mutant melanoma and miliary, subcutaneous metastatic deposits. Photographs were taken (A) before initiation of PLX4032, (B) after 15 weeks of therapy with PLX4032, and (C) after relapse, after 23 weeks of therapy.

Published in: Nikhil Wagle; Caroline Emery; Michael F. Berger; Matthew J. Davis; Allison Sawyer; Panisa Pochanard; Sarah M. Kehoe; Cory M. Johannessen; Laura E. MacConaill; William C. Hahn; Matthew Meyerson; Levi A. Garraway; *Journal of Clinical Oncology* **2011**, 29, 3085-3096.

DOI: 10.1200/JCO.2010.33.2312

Copyright © 2011



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI TRIESTE