

Malígný melanóm – nové aspekty výskumu

MUDr. Pavol Janega, PhD.^{1,3,4}, RNDr. Tomáš Szemes, PhD.^{2,5}, RNDr. Gabriel Minárik, PhD.¹

¹MEDIREX GROUP ACADEMY, n. o., Bratislava

²Geneton, s. r. o., Bratislava

³Ústav patologickej anatómie, Lekárska fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave

⁴Ústav normálnej a patologickej fyziológie, Slovenská akadémia vied, Bratislava

⁵Centrum genomiky, Univerzitný vedecký park, Univerzita Komenského v Bratislave

Malígný melanóm patrí v Slovenskej republike medzi nádory s neustále rastúcou incidenciou a mortalitou. Problematika malígneho melanómu bola a v súčasnosti je predmetom intenzívneho výskumu mnohých projektov. Ich ciele sú zamerané na identifikáciu nových diagnostických a prognostických markerov, ale najmä potenciálnych terapeutických cieľov. Prognóza pacientov sa za posledné roky zlepšila. Súvisí to najmä so zavedením nových terapeutických postupov v liečbe malígneho melanómu. Cílená terapia a hlavne inhibítory imunitnej odpovede priniesli zásadný obrat v liečbe metastázujúcich malígných melanómov. Aplikácia výsledkov výskumu do praxe predstavuje do budúcnosti novú nádej pre pacientov s malígnym melanómom.

Kľúčové slová: malígný melanóm, výskum, review, súčasný pohľad

Malignant melanoma – new research aspects

Malignant melanoma belongs to cancer with increasing incidence and mortality in the Slovak Republic. The current issue of malignant melanoma has been and still is the subject of intensive research in many projects. Their objectives aim to identify new diagnostic and prognostic markers, with emphasis on therapeutic targets. The prognosis of patients has improved in recent years. It is particularly related to new therapies in the treatment of malignant melanoma. The targeted therapy and especially the use of immune response inhibitors brought a turning point in the treatment of metastatic malignant melanoma. Application of research results in practice represents new hope for patients with malignant melanoma in the future.

Keywords: malignant melanoma, research, review, current concept

NewsLab, 2017; roč. 8(1): 44 – 47

Aj keď malígný melanóm nepatrí v Slovenskej republike medzi malígne nádory s najvyššou incidenciou, je závažný svojou relatívne vysokou mortalitou, najmä v prípade, ak je zachytený v neskorších štádiách choroby. Alarmujúca je stále stúpajúca incidencia tohto nádoru v celej Európe. V Slovenskej republike sa jeho výskyt za posledných 30 rokov viac ako stonásobil, v roku 1978 bola incidencia 3,9 na 100 000 obyvateľov, v roku 2007 dosiahla 12,19 na 100 000 obyvateľov (graf 1)⁽¹⁾. Kritický je aj štvornásobný vzostup mortality za rovnaký časový interval, z 0,8 na 100 000 obyvateľov v roku 1978 na hodnotu 3,65 na 100 000 obyvateľov v roku 2010. Výskyt melanómu sa v posledných desaťročiach zvyšuje najmä v populácii ľudí starších ako 45 rokov, incidencia u starších ako 70 rokov je viac ako 40 na 100 000 obyvateľov (graf 2)⁽¹⁾.

Kľúčovým rizikovým faktorom jeho vzniku je expozícia UV žiareniu. Nádor je preventabilný, vyhýbanie priamemu slnečnému žiareniu či používanie protektívnych prípravkov znižuje riziko jeho vzniku u predisponovaných ľudí.

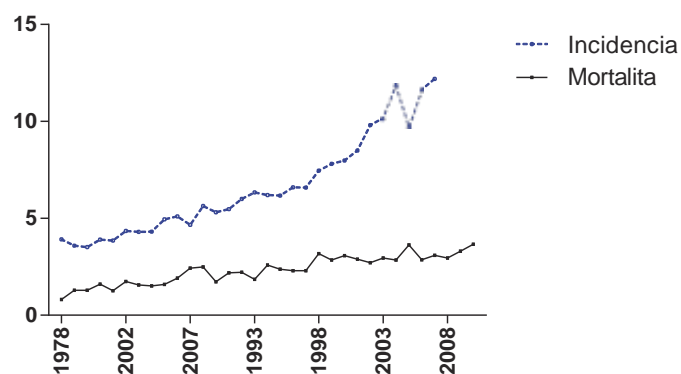
Sekundárna prevencia, odborné dermatologické vyšetrenie s použitím dermatoskopu umožní zachytenie skorých neinvazívnych alebo nízkoinvazívnych lézií. Práve skorá detekcia výrazným spôsobom zvyšuje prežívanie pacientov. Väčšina melanómov je vďaka dostupnosti vyšetrovacích

metód a vďaka dlhodobému vzdelávaniu populácie o rizikách zachytená v skorom, teda liečiteľnom štádiu. Päťročné prežívanie je priemerne 91 %, v prípade lokalizovaného nádoru až 98 %. Prežívanie však výrazne klesá, ak je choroba zachytená v neskoršom štádiu⁽²⁾. Metastázujúci melanóm predstavuje jeden z najagresívnejších a najrýchlejšie progredujúcich nádorov historicky len s veľmi obmedzenými možnosťami efektívnej liečby. V prípadoch metastázujúceho melanómu je 10-ročné prežívanie menšie ako 10 %⁽³⁾. Problémom je aj skutočnosť, že napriek včasnemu zachyteniu a terapii v skorom štádiu nie sú výnimkou neskoré metastázy.

Problematika malígneho melanómu bola a v súčasnosti je predmetom intenzívneho výskumu. Ten umožnil objasniť viaceré molekulárne mechanizmy zodpovedné za transformáciu a rast melanómových buniek. Pozorované boli mutácie viacerých génov, kľúčových v iniciácii nádorovej transformácie. Zasiiahnuté dráhy sú zaujímavé aj z hľadiska hľadania nových cieľov pre protinádorovú terapiu.

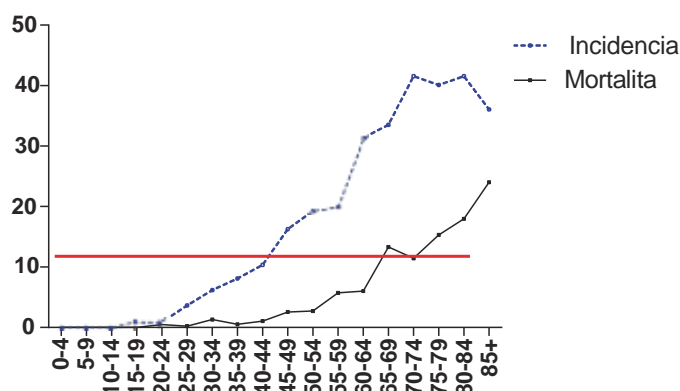
Historicky najznámejší mechanizmus iniciácie tumorigenézy malígneho melanómu súvisí s konštitutívnou aktiváciou proteínkinázovej dráhy aktivovanej mitogénom (MAPK), komplexnej signálnej dráhy zahrňujúcej proteíny RAS/RAF a ďalšie proteínkinázy vrátane MEK a ERK. Táto dráha sa ukazuje ako kritická aj pre rastovú fázu melanómu⁽⁴⁾. Odhaduje sa, že

Graf 1. Graf nárastu incidencie a mortality na malígnym melanóm v Slovenskej republike. Počet prípadov na 100 000 obyvateľov



Spracované podľa Steliarova-Foucher a spol.⁽¹⁾

Graf 2. Incidencia a mortalita na malígnym melanóm v závislosti od vekovej skupiny pacientov



Počet prípadov na 100 000 obyvateľov. Spracované podľa Steliarova-Foucher a spol.⁽¹⁾

takmer polovica malígnych melanómov je asociovaná s aktivačnou mutáciou v MAPK dráhe^(2,5). Onkogénna aktivácia pri melanóme môže vzniknúť v dôsledku mutácie v ktoromkoľvek komponente alebo promotore tejto dráhy⁽⁶⁾.

Charakteristickým iniciačným onkogénom zahrnutým v MAPK dráhe je mutovaný gén *BRAF* s bodovými mutáciami. Viac ako 50 percent melanómov nesie mutáciu v géne *BRAF* a z toho 80 percent predstavuje mutácia *BRAF* V600E (resp. V599E)^(7,8). Okrem onkogénnych mutácií v *BRAF* sú dobre opísané iniciačné onkogénne bodové mutácie v géne *NRAS* (15 – 20 %). Mutácie v *BRAF* géne sa spájajú typicky so vznikom melanómu šíriaceho sa povrchovo, v *NRAS* géne s nodulárnym melanómom⁽⁹⁾. Blokátory *BRAF* *vemurafenib* a *dabrafenib* sú štandardom v liečbe metastázujúceho malígneho melanómu kože⁽¹⁰⁾. Ukazuje sa, že súčasné podávanie inhibítora MEK *trametinib* zlepšuje prežívanie s dobrou toleranciou liečby⁽¹¹⁾.

Aj keď mutácia v géne *BRAF* sa považuje za kľúčovú v iniciácii tumorigenézy, vyskytuje sa vo vysokom percente aj v bunkách benígnych névov, ktoré ešte nemajú vlastnosti malígneho procesu.

Opísané boli aj mutácie v *CDKN2A*, *PTEN*, *APAF1*, *TP53*, *GNAQ*, *GNAI1*^(6,7,12) aj aktivačné fúzie génu *BRAF* s receptorovými tyrozínkinázami *ALK*, *ROSI*, *RET*, *MET*, *NTRK1* a *ROSI*⁽¹³⁻¹⁵⁾. Samotné *GNAQ/GNAI1* proteíny síce, ako sa zdá, nie sú vhodné na cieľnú terapiu, no ich aktivácia je čiastočne regulovaná prostredníctvom proteínu *YAP*⁽¹⁶⁾, ktorý môže mať terapeutický potenciál. V malígnom melanóme kože zatiaľ tento prístup použitý nebol.

Opisujú sa aj mutačné zmeny v dráhe p16INK4A-CDK4-RB (s mutačným postihnutím najmä *INK4A* alebo *CDK4*) a dráhy ARF-p53⁽¹⁷⁾. V menšej frekvencii boli pozorované aj mutácie v dráhe AKT/mTOR, ktorá reprezentuje pravdepodobne alternatívny mechanizmus aktivácie v malígnom melanóme⁽¹⁸⁾.

Veľmi zaujímavú oblasť výskumu predstavujú aj mutačné zmeny vo Wnt signálnej dráhe s β -katenínom ako kľúčovým komponentom. Zmeny aktivácie tejto dráhy vedú k zmenám fenotypu melanómových buniek, ovplyvňujú nádorové mikroprostredie, bunkový rast, invazivitu nádorových buniek aj vznik rezistencie na terapiu⁽¹⁹⁾. Z hľadiska nových terapeutických prístupov sa ukazuje ako zásadný aj vzťah Wnt

signálnej dráhy k ovplyvneniu protinádorovej imunity v mikroprostredí buniek malígneho melanómu a k vzniku rezistencie na imunoterapiu⁽²⁰⁾. Výskum naznačuje možné využitie viacerých molekúl tejto dráhy ako potenciálnych cieľov pre cieľnú terapiu.

Z hľadiska možného terapeutického ovplyvnenia sú zaujímavé aj antiapoptotické proteíny survivín a livín. Survivín je v malígnom melanóme exprimovaný vo zvýšenej miere vo väčšine prípadov⁽²¹⁾. Uvažuje sa, že práve upregulácia survivínu môže byť jedným zo stimulov nádorovej transformácie v névových bunkách. Takeuchi a spol.⁽²²⁾ preukázali, že nízka expresia survivínu v rekurentnom metastatickom malígnom melanóme kože je spájaná so signifikantne lepším prežívaním pacientov. Zvýšenú citlivosť buniek malígneho melanómu na chemoterapiu pri súčasnej inhibícii survivínu *in vitro* preukázal aj Pennati a spol.⁽²³⁾. Výsledky publikovaných štúdií naznačujú, že môže ísť o nádejnú molekulu aj z hľadiska možného klinického ovplyvnenia.

Livín je nedávno opísaný proteín s komplexným prevažne antiapoptotickým, za určitých okolností proapoptotickým účinkom. Vyššia expresia preukázaná v malígnom melanóme kože koreluje s progresiou a so zlou prognózou pacientov⁽²⁴⁾. Práve vysoká expresia livínu súvisí s rezistenciou na chemoterapiu, naznačujúc budúci cieľ výskumu cieľenej protinádorovej terapie^(25,26).

S aktivitou apoptotických dráh úzko súvisí regulácia PARP proteínu, ktorý je, naopak, zodpovedný za DNA reparáciu. Inhibícia PARP interferuje s kľúčovými procesmi metastázovania a inhibuje invazivitu a metastázovanie buniek malígneho melanómu kože do vzdialených orgánov⁽²⁷⁾, predstavuje kľúčový marker agresívneho kožného MM⁽²⁸⁾. Jeho cieľný blokátor *temozolomid* je v súčasnosti v štádiu klinického testovania (II. fáza).

Progresia melanómu je spojená so sériou onkogénnych udalostí, ktorá je charakterizovaná ako geneticky vysoko heterogénna. Identifikované boli viaceré kandidátne „driver“ mutácie, k najštudovanejším patria alternatívne transkripty génu *ALK*, identifikovateľné na úrovni prepisovanej RNA⁽²⁹⁾. Častou „driver“ udalosťou pri rôznych variantoch melanómov je aj bialelická strata histónovej deubikvitinázy BAP1 ako *de novo* udalosť u ľudí s germinálnou poruchou jednej kópie

génu⁽³⁰⁾. Viaceré subchromozomálne aberácie, zmeny v počte kópií repetitívnych elementov ako príčina mikrosatelitnej instability boli opísané pri metastázujúcich melanómoch^(31,32).

Študované boli a potenciálny klinický význam môžu mať aj epigenetické zmeny. Boli identifikované viaceré kandidátne gény, ktoré sú ovplyvnené aberantnou DNA metyláciou, resp. modifikáciou histónov, a kde sa ukazuje, že tieto zmeny korelujú s bunkovými charakteristikami nádoru a majú vplyv na klinickopatologický obraz choroby. Ako gény s najvyššou frekvenciou hypermetylácie sú študované najmä *RIL* a *ECAD*, *RASSF1A*, *NKX2-3*, *HAND1* a *OLIG2*. Ich potvrdenie v ďalších štúdiách môže priniesť nové možnosti v terapii. Epigenetická terapia malígneho melanómu je síce nová oblasť, ale perspektívne s veľkým potenciálom a možným dosahom na pacientov⁽³³⁾.

Štúdium transformácie névových buniek sa v poslednom čase zameriava najmä na problematiku regulácie aktivácie a inhibície protinádorovej imunitnej reakcie. Protinádorová imunoterapia je založená na pôsobení vlastného imunitného systému pacienta. Využíva fyziologické princípy, prirodzenú schopnosť organizmu ničiť poškodené bunky vrátane nádorovo transformovaných buniek. Súčasná liečba sa orientuje najmä na inhibíciu kontrolných bodov imunitnej odpovede. Ich fyziologickou úlohou je zabrániť hyperaktivácii imunitného systému, a tým vzniku imunopatologických stavov. Bunky malígneho melanómu sú schopné využiť ich a uniknúť tak protinádorovej imunitnej odpovedi. Veľkým prevratom v terapii metastázujúceho malígneho melanómu sa stali ich inhibítory. V roku 2011 bola v liečbe malígneho melanómu schválená molekula *ipilimumab*, protilátka proti CTLA-4 receptoru, ktorá sa stala súčasťou bežnej klinickej praxe⁽³⁴⁾. Veľmi perspektívne sa v štúdiách ukazujú aj blokátory receptorov PD-1 *nivolumab* a *pembrolizumab*⁽³⁵⁾. Perspektívna

môže byť aj protinádorová vakcinácia, aj adoptívny transfer imunokompetentných buniek⁽³⁶⁾.

Záver

Chirurgické odstránenie malígneho melanómu je základom terapie vo všetkých štádiách, nasledovaná v prípade I. a II. štádia lymfadenektómiou, v III., vo IV. štádiu a v prípadoch rekurentného melanómu imuno- a chemoterapiou. Práve zavedenie cieľenej terapie, inhibítorov imunitnej regulácie ako anti-PD-1 (*nivolumab*, *pembrolizumab*), anti-CTLA-4 (*ipilimumab*) a cieľená terapia inhibítormi BRAF proteínu (*vemurafenib* a *dabrafenib*), prípadne MEK inhibítorov (*trametinib*, *cobimetinib*) predstavujú zásadný obrat v liečbe neresekovateľných a metastázujúcich malígných melanómov a sú testované v klinických skúškach.

Problémom je však výrazná heterogenita melanómových buniek, umožňujúca nádoru meniť nádorové mikroprostredie a unikať terapeutickým stratégiám. Použitá cieľená liečba sa často spája s mnohými neobvyklými nežiaducimi účinkami, znižujúcimi jej využiteľnosť v praxi⁽³⁷⁾.

Až doteraz bola terapia malígneho melanómu v neskoršom štádiu neefektívna. Zavádzanie nových poznatkov do praxe spolu so štúdiom správanie nádorových buniek a hľadáním ďalších alternatívnych terapeutických cieľov a ich kombinácií zvyšujú aj v pokročilejšom štádiu nádej na liečbu choroby, ktorá je intenzívne študovanou a aktuálnou problematikou.

Podakovanie

Tento článok vznikol vďaka podpore v rámci OP Výskum a vývoj pre projekt „Dobudovanie multidisciplinárneho centra pre biomedicínsky výskum – BIOMEDIRES“, ITMS 26210120041, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

LITERATÚRA

1. Steliarova-Foucher E, O'Callaghan M, Ferlay J, et al. The European Cancer Observatory: A new data resource. *Eur J Cancer* 2015; 51(9): p. 1131-43.
2. Niezgodá A, Niezgodá P, Czajkowski R, Novel Approaches to Treatment of Advanced Melanoma: A Review on Targeted Therapy and Immunotherapy. *Biomed Res Int* 2015; 2015: p. 851387.
3. Balch, C.M., Buzaid, A.C., Soong, S.J., et al., Final version of the American Joint Committee on Cancer staging system for cutaneous melanoma. *J Clin Oncol* 2001; 19(16): p. 3635-48.
4. Junkins-Hopkins JM. Malignant melanoma: molecular cytogenetics and their implications in clinical medicine. *J Am Acad Dermatol* 2010; 63(2): p. 329-32.
5. Shah DJ, Dronca, RS. Latest advances in chemotherapeutic, targeted, and immune approaches in the treatment of metastatic melanoma. *Mayo Clin Proc* 2014; 89(4): p. 504-19.
6. Omholt K, Platz A, Kanter L, et al. NRAS and BRAF mutations arise early during melanoma pathogenesis and are preserved throughout tumor progression. *Clin Cancer Res* 2003; 9(17): p. 6483-8.
7. Davies H, Bignell GR, Cox C, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature* 2002; 417(6892): p. 949-54.
8. Kumar R, Angelini S, Czene K, et al. BRAF mutations in metastatic melanoma: a possible association with clinical outcome. *Clin Cancer Res* 2003; 9(9): p. 3362-8.
9. Lee JH, Choi JW, Kim YS, Frequencies of BRAF and NRAS mutations are different in histological types and sites of origin of cutaneous melanoma: a meta-analysis. *Br J Dermatol* 2011; 164(4): p. 776-84.
10. Atkinson, V., Medical management of malignant melanoma. *Aust Prescr* 2015; 38(3): p. 74-8.
11. Lugowska I, Kosela-Paterczyk H, Kozak K, et al. Trametinib: a MEK inhibitor for management of metastatic melanoma. *Onco Targets Ther* 2015; 8: p. 2251-9.
12. Romano E, Schwartz GK, Chapman PB, et al. Treatment implications of the emerging molecular classification system for melanoma. *Lancet Oncol* 2011; 12(9): p. 913-22.
13. Yeh I, Botton T, Talevich E, et al. Activating MET kinase rearrangements in melanoma and Spitz tumours. *Nat Commun* 2015; 6: p. 7174.
14. Wiesner T, He J, Yelensky R, et al. Kinase fusions are frequent in Spitz tumours and spitzoid melanomas. *Nat Commun* 2014; 5: p. 3116.
15. Botton T, Yeh I, Nelson T, et al. Recurrent BRAF kinase fusions in melanocytic tumors offer an opportunity for targeted therapy. *Pigment Cell Melanoma Res* 2013; 26(6): p. 845-51.
16. Yu FX, Zhang K, Guan KL. YAP as oncotarget in uveal melanoma. *Oncoscience* 2014; 1(7): p. 480-1.
17. Dahl C, Guldberg P. The genome and epigenome of malignant melanoma. *APMIS* 2007; 115(10): p. 1161-76.
18. Omholt K, Krockel D, Ringborg U, et al. Mutations of PIK3CA are rare in cutaneous melanoma. *Melanoma Res* 2006; 16(2): p. 197-200.
19. Kaur A, Webster MR, Weeraratna AT. In the Wnt-er of life: Wnt signaling in melanoma and ageing. *Br J Cancer* 2016; 115(11): p. 1273-9.
20. Webster MR, Kugel CH 3rd, Weeraratna AT. The Wnts of change: How Wnts regulate phenotype switching in melanoma. *Biochim Biophys Acta* 2015; 1856(2): p. 244-51.
21. Grossman D, McNiff JM, Li F, et al. Expression and targeting of the apoptosis inhibitor, survivin, in human melanoma. *J Invest Dermatol* 1999; 113(6): p. 1076-81.

22. Takeuchi H, Morton DL, Elashoff D, et al., Survivin expression by metastatic melanoma predicts poor disease outcome in patients receiving adjuvant polyvalent vaccine. *Int J Cancer* 2005; 117(6): p. 1032-8.
23. Pennati M., Binda, M., Colella, G., et al., Radiosensitization of human melanoma cells by ribozyme-mediated inhibition of survivin expression. *J Invest Dermatol*, 2003. 120(4): p. 648-54.
24. Lazar I, Perlman R, Lotem M, et al. The clinical effect of the inhibitor of apoptosis protein livin in melanoma. *Oncology* 2012; 82(4): p. 197-204.
25. Chang H, Schimmer AD. Livin/melanoma inhibitor of apoptosis protein as a potential therapeutic target for the treatment of malignancy. *Mol Cancer Ther* 2007; 6(1): p. 24-30.
26. Zhou J, Yuen NK, Zhan Q, et al. Immunity to the melanoma inhibitor of apoptosis protein (ML-IAP; livin) in patients with malignant melanoma. *Cancer Immunol Immunother* 2012; 61(5): p. 655-65.
27. Rodriguez MI, Peralta-Leal A, O'Valle F, et al. PARP-1 regulates metastatic melanoma through modulation of vimentin-induced malignant transformation. *PLoS Genet* 2013; 9(6): p. e1003531.
28. Staibano S, Pepe S, Lo Muzio L, et al. Poly(adenosine diphosphate-ribose) polymerase 1 expression in malignant melanomas from photoexposed areas of the head and neck region. *Hum Pathol* 2005; 36(7): p. 724-31.
29. Busam KJ, Vilain RE, Lum T, et al. Primary and Metastatic Cutaneous Melanomas Express ALK Through Alternative Transcriptional Initiation. *Am J Surg Pathol* 2016; 40(6): p. 786-95.
30. Wiesner T, Obenaus AC, Murali R, et al. Germline mutations in BAP1 predispose to melanocytic tumors. *Nat Genet* 2011; 43(10): p. 1018-21.
31. Yeh I, Mully TW, Wiesner T, et al. Ambiguous melanocytic tumors with loss of 3p21. *Am J Surg Pathol*, 2014. 38(8): p. 1088-95.
32. Curtin JA, Fridlyand J, Kageshita T, et al. Distinct sets of genetic alterations in melanoma. *N Engl J Med* 2005; 353(20): p. 2135-47.
33. Besaratinia A, Tommasi S. Epigenetics of human melanoma: promises and challenges. *J Mol Cell Biol* 2014; 6(5): p. 356-67.
34. Eggermont AM, Chiarion-Sileni V, Grob JJ, et al. Prolonged Survival in Stage III Melanoma with Ipilimumab Adjuvant Therapy. *N Engl J Med* 2016; 375(19): p. 1845-55.
35. Shu CA, Rizvi NA. Into the Clinic With Nivolumab and Pembrolizumab. *Oncologist* 2016; 21(5): p. 527-8.
36. Singh BP, Salama AK. Updates in Therapy for Advanced Melanoma. *Cancers (Basel)* 2016; 8(1).
37. Steenbruggen TG, van den Heuvel MM, Blank CU, et al. No hair loss, but colitis or pneumonitis: unique side effects of immune checkpoint inhibitors for cancer. *Ned Tijdschr Geneesk* 2016; 160(0): p. A9873.



MUDr. Pavol Janega, PhD.

MEDIREX GROUP ACADEMY, n. o.

Galvaniho 17/C, 820 16 Bratislava

e-mail: pavol.janega@medirexgroupacademy.sk



ALL YOU NEED FOR HISTOLOGY & CYTOLOGY

- 1 Histology
- 1 Cytology
- 1 Microscopes and accessories
- 1 Archiving and storage
- 1 Molecular histopathology
- 1 Personal protection, safety and hygiene



Request your copy from your local VWR sales office or sk.vwr.com