dermatopatologia FORUM nuova serie
Novembre 2020

LA RIVOLUZIONE DELLA GENETICA NELLE LESIONI MELANOCITICHE

C. URSO
Centro Studi Dermatopatologia di Firenze

La diagnosi istologica si basa sulla relazione esistente tra la forma di una neoplasia e il suo comportamento biologico [1]. La ragione di questa relazione fondamentale, senza cui nessuna diagnosi istologica sarebbe possibile, non è immediatamente evidente. La domanda che quindi si pone è perché questa relazione esiste, seguita da altre circa le sue caratteristiche, e cioé se tale relazione sia costante (se sempre presente in tutte le lesioni) e se in essa vi si possa sempre configurare una proporzionalità (se esiste un rapporto tra grado di alterazione morfologica e grado di aggressività clinica).

Queste domande possono trovare risposta negli studi genomici, il cui avvento negli anni 2000, per i nuovi orizzonti diagnostici e terapeutici aperti in campo oncologico, può essere paragonato solo a quello dell'istologia agli inizi del 1900. Gli studi genomici hanno finora seguito due indirizzi: uno volto ad una integrazione diagnostica, attraverso la scoperta di possibili *biomarkers* che possono aiutare nella distinzione benigno-maligno, esemplificato nell'uso della tecnica *FISH* nel melanoma [2], e uno volto alla terapia, attraverso l'identificazione di possibili mutazioni *target* di molecole da usare dei pazienti metastatici, esemplificato nell'uso di farmaci come il *vemurafenib*, diretto contro la mutazione BRAF V600E [3]. I risultati sono stati significativi, ma al momento complessivamente modesti. Dalla genomica però giungono informazioni che aiutano a capire meglio le lesioni melanocitarie cutanee.

Lo scenario emergente dallo studio delle aberrazioni genetiche in nevi e melanomi appare complesso. In molti melanomi è identificata una mutazione BRAF, riscontrata anche in molti nevi [4-5]. Con una certa frequenza in certi tipi di melanoma e in certi nevi congeniti è osservata una mutazione NRAS [6-7]. In una frazione di nevi di Spitz è rinvenuta invece una mutazione HRAS [8]. NRAS, HRAS e BRAF sono mutazioni attivanti nella cellula la via di segnalazione MAPK. Inoltre, nei nevi blu, nel nevo blu maligno e nel melanoma uveale sono identificate mutazioni GNAQ e GNA11, codificanti una proteina attiva nella stessa via di segnalazione [9-10]. In certe neoplasie a cellule epitelioidi e in alcuni melanomi con morfologia simile è trovata, accanto ad una mutazione BRAF, un'altra inattivante il gene soppressore tumorale BAP1 [11-12]. Inoltre, nei melanomi insorgenti su cute fotoesposta sono riscontrabili mutazioni NF1, NRAS e particolari varianti di BRAF (non-V660E), tutte attivanti la stessa via di segnalazione MAPK [13]. Molto frequente risulta inoltre la presenza di mutazione NF1 nei melanomi desmoplastici [14]. I melanomi acrali mostrano molte mutazioni, fra cui una mutazione KIT, attivante le vie di segnalazione MAPK, PI3K e STAT3 e rinvenuta anche in una frazione di nevi acrali [15-16]. Nei tumori spitzoidi sono invece riscontrate alcune translocazioni cromosomiche, coinvolgenti geni codificanti diverse chinasi: ALK, ROS1, MET, RET, BRAF, NTR-K1, NTRK3, MAP3K8, attivanti la solita via MAPK [17-20]. I nevi penetranti mostrano una mutazione CTNNB1 associata a mutazioni BRAF, HRAS o MAP2K, attivante la via di segnalazione beta-catenina/WNT [21]. Una mutazione PRKAR1A e una fusione PRKCA vengono riscontrate in lesioni iperpigmentate come il melanocitoma epitelioide pigmentato e il melanoma di tipo animale [22-23]. Nei vari tipi di melanoma, inoltre, si trova un elevato numero di mutazioni che riguardano geni soppressori tumorali e geni attivanti in vario modo il ciclo proliferativo, inclusi CDKN2A, PTEN, CDK-4, TP53 e TERT-p [24-25].

Il quadro complessivo appare difficile da interpretare, ma dall'analisi dei dati emergono alcuni punti importanti. In primo luogo, appare che tutte le lesioni presentano mutazioni, ma mentre i nevi ne presentano una o poche, i melanomi ne presentano molte. Inoltre, alcune mutazioni sono condivise da nevi e melanomi, mentre altre no, presenti solo nei melanomi. Interessante che le mutazioni condivise sono mutuamente esclusive (se c'è una, non c'è l'altra), mentre le mutazioni non condivise sono cumulative (si sommano). Ma il dato più rilevante è che le mutazioni condivise sono diverse nei differenti istotipi di nevo e nei differenti istotipi di melanoma, mentre le mutazioni non condivise risultano le stesse nei differenti istotipi di melanoma. La condivisione di alcune mutazioni tra nevi e melanomi suggerisce che queste sono meno recenti nel processo oncogenetico [26]. Inoltre, considerato che la presenza di una di esse tende ad escludere la presenza di un'altra e che si trovano in nevi e melanomi con caratteri morfologici simili, le mutazioni condivise sembrano avere un ruolo importante nel conferire alla neoplasia specifiche caratteristiche morfo-biologiche (*mutazioni*

driver). Diversamente, le mutazioni non condivise appaiono più recenti, accumulandosi dopo che il processo oncogenetico è iniziato, e sembrano conferire maggiormente proprietà connesse alla malignità, come capacità di invasione locale e di metastasi (*mutazioni promoter*). In sostanza, con il progressivo accumulo delle mutazioni promoter, la morfologia di base della lesione rimane la stessa (una lesione blu rimane blu, una lesione spitzoide rimane spitzoide, secondo le rispettive mutazioni driver), mentre aumenta progressivamente una certa deformazione morfologica cito-architetturale (atipia) e parallelamente l'aggressività clinica (malignità).

Di fronte di questi risultati, molte idee storiche e classici concetti tendono ad apparire obsoleti. Il polimorfismo clinico e istologico di nevi e melanomi, a lungo declassato a mera fluttuazione morfologica, senza significato biologico, emerge invece come il risultato di differenti aberrazioni genetiche (mutazioni driver). Lo schema classico nevo-melanoma sembra un po' troppo semplice e, in qualche misura, improprio. Le categorie diagnostiche "nevo" e "melanoma" appaiono come due grandi agglomerati di neoplasie eterogenee dal punto di vista genetico, clinico, e istologico; quando, invece, tenendo conto delle mutazioni driver, condivise da nevi e melanomi, è possibile, ancora con qualche difficoltà e lacune, individuare alcune vie patologiche [27] o *classi* di neoplasie tendenzialmente [28] geneticamente, clinicamente e istologicamente omogenee. Le cosiddette "neoplasie borderline", spesso rompicapo diagnostico e prognostico, possono trovare maggior chiarezza; il loro assetto genetico, infatti, sembra mostrare più mutazioni dei "nevi" e meno mutazioni dei "melanomi" [27]; ovvero, più specificamente, mostrano le stesse mutazioni driver, ma un numero minore di mutazioni promoter rispetto ai "melanomi". In sintesi, "nevo", "neoplasia borderline" e "melanoma", in ciascuna classe, vengono a differire per il numero di mutazioni promoter: zero nel "nevo", poche nella "neoplasia borderline" e molte nel "melanoma". Pertanto, le "neoplasie borderline" in ciascuna classe possono essere interpretate come forme neoplastiche in progressione tra il "nevo" (solo mutazioni driver) e il "melanoma" (mutazioni driver più alto numero di mutazioni promoter). Ma, se è così, "nevo", "neoplasia borderline" e "melanoma", non sono affatto tre neoplasie diverse, ma più propriamente tre successivi *stati genetici* dello stesso processo neoplastico e, quindi, della stessa neoplasia [29]. Ogni singola neoplasia si presenta, quindi, con un variabile accumulo di mutazioni che le conferisce un certo rischio di eventi avversi, come recidiva locale, metastasi loco-regionale, metastasi a distanza, morte (potenziale di malignità) [29-30]. Questa emergente realtà, ignorata fino a qualche anno fa, spiega perché la diagnosi di alcune lesioni sia così difficile.

In conclusione, gli studi genomici suggeriscono che il fondamento della relazione forma-comportamento risiede nell'assetto genetico delle lesio-ni, cioè nella somma delle mutazioni accumulate dalla cellula neoplastica. Ogni modifica nell'assetto genetico può portare ad una modificata sintesi di proteine, che, se attive nei complessi meccanismi dei processi di crescita e differenziazione cellulare, si riflette sulla morfologia della lesione che ne consegue. Ma una modificata sintesi proteica, prodotta da un variato assetto genetico, può portare anche ad una modifica nei complessi meccanismi di segnalazione e di regolazione del ciclo cellulare, comportando una modifica dei processi di proliferazione e sopravvivenza cellulare, che si riflette sul comportamento biologico della lesione. Questa relazione forma-comportamento appare costante e quindi sempre presente in tutte le lesioni, perché prodotta dall'irreversibile modifica del patrimonio genetico della cellula neoplastica. Essa mostra in generale anche una proporzionalità tra grado di alterazione morfologica e grado di aggressività clinica, perché entrambi dipendono dal progressivo irreversibile accumulo di mutazioni promoter. Tale proporzionalità può essere, però, a volte solo parziale, perché è possibile che mutazioni attive sui meccanismi connessi alla malignità (alta proliferazione, invasione locale, metastasi) si accumulino più velocemente di quelle che modificano la struttura cellulare (atipia), come in alcuni melanomi nevoidi e in alcuni tumori di Spitz. Viceversa, può accadere che mutazioni attive sui meccanismi che modificano la struttura cellulare si accumulino più velocemente di quelle connesse alla malignità, come in alcuni nevi atipici e, ancora, in certi altri tumori di Spitz. In patologia melanocitaria, gli esempi di questi fenomeni, che rendono la diagnosi difficile, difficilissima o impossibile [31], non mancano.

Bibliografia

1. Urso C. Regole ed eccezioni nella diagnosi del melanoma. *Pathologica* 2005; 97: 323-334.
2. Gerami P, Jewell S, Morrison L et al. Fluorescence in situ hybridization (FISH) as an ancillary tool in the diagnosis of melanoma. *Am J Surg Pathol* 2009; 33: 1146-1156.
3. Kim A, Cohen MS. The discovery of vemurafenib for the treatment of BRAF-mutated metastatic melanoma. *Expert Opin Drug Discov* 2016;11:907-916.
4. Davies H, Bignell GR, Cox C *et al*. Mutation of BRAF gene in human cancer. *Nature* 2002; 417: 949-954.
5. Pollock PM, Harper UL, Hansen KS, et al. High frequency of BRAF mutations in nevi. *Nat Genet* 2003; 33: 19–20.
6. van't Veer LJ, Burgering BMT, Vesteeg R, et al. N-*ras* mutations in human cutaneous melanoma from sun-exposed body sites. *Mol Cell Biol* 1989; 9: 3114-3116.
7. Bauer J, Curtin JA, Pinkel D, et al. Congenital melanocytic nevi frequently harbor NRAS mutations but no BRAF mutations. *J Invest Dermatol* 2007; 127: 179–182.
8. van Engen-van Grunsven ACH, van Dijk MC, Ruiter DJ, et al. HRAS-mutated Spitz tumors: a subtype of Spitz tumors with distinct features. *Am J Surg Pathol* 2010; 34: 1436–1441.
9. Van Raamsdonk CD, Bezrookove V, Green G, et al. Frequent somatic mutations of GNAQ in uveal melanoma and blue naevi. *Nature* 2009;457: 599–602.

10. Van Raamsdonk CD, Griewank KG, Crosby MB, et al. Mutations in GNA11 in uveal melanoma. *N Engl J Med* 2010; 363: 2191–2199.
11. Wiesner T, Murali R, Fried I, et al. A distinct subset of atypical Spitz tumors is characterized by BRAF mutation and loss of BAP1 expression. *Am J Surg Pathol* 2012; 36: 818–830.
12. Aung PP, Nagarajan P, Tetzlaff MT, et al. Melanoma with loss of BAP1 in patients with no family history of BAP1-associated cancer susceptibility syndrome: a case series. *Am J Dermatopathol* 2019; 41: 167-179.
13. Krauthammer M, Kong Y, Bacchiocchi A, et al. Exome sequencing identifies recurrent mutations in NF1 and RASopathy genes in sun-exposed melanomas. *Nat Genet* 2015; 47: 996-1002.
14. Wiesner T, Kiuru M, Scott Sn, et al. NF1 mutations are common in desmoplastic melanoma. *Am J Surg Pathol* 2015; 39; 1357-1362.
15. Curtis JA, Busam K, Pinkel D, et al. Somatic activation of KIT in distinct subtypes of melanoma. *J Clin Oncol* 2006; 24: 4340-4346.
16. Moon KR, Chooi YD, Kim JM, et al. Genetic alterations in primary acral melanoma and acral melanocytic nevus in Korea: common mutated genes show distinct cytomorphological features. *J Invest Dermatol* 2018; 138: 933-945.
17. Wiesner T, He J, Yelensky R, et al. Kinase fusions are frequent in Spitz tumours and spitzoid melanomas. *Nat Commun* 2014; 5: 3116.
18. Yeh I, Botton T, Talevich E, et al. Activating MET kinase rear-rangements in melanoma and Spitz tumours. *Nat Commun* 2015; 6: 7174.
19. Yeh I, Tee MG, Botton T, et al. NTRK3 kinase fusions in Spitz tumours *J Pathol* 2016; 240: 282-290.
20. Newman S, Fan L, Pribnow A, et al. Clinical genome sequencing uncovers potentially targetable truncations and fusions of MAP3K8 in spitzoid and other melanomas. *Nat Med* 2019; 25: 597-602.
21. Zembowicz A, Knoepp SM, Bei T, et al. Loss of expression of protein kinase A regulatory subunit 1a in pigmented epithelioid melanocytoma but not in melanoma or other melanocytic lesions. *Am J Surg Pathol* 2007; 31: 1764–1775.
22. Yeh I, Lang UE, Durieux E, et al. Combined activation of MAP kinase pathway and b-catenin signaling cause deep penetrating nevi. *Nat Commun*. 2017; 8: 644.
23. Bahrami A, Lee S, Wu G, et al. Pigment-synthesizing melanocytic neoplasm with protein kinase C alpha (PRKCA) fusion. *JAMA Dermatol* 2016; 152: 318–322.
24. Potrony M, Badenas C, Aguilera P, et al. Update in genetic susceptibility in melanoma. *Ann Transl Med* 2015; 3: 210.
25. Huang FW, Hodis E, Xu MJ, et al. Highly recurrent TERT promoter mutations in human melanoma. *Science* 2013; 339: 957-959.
26. Uribe P, Wistuba II, Gonzalez S. BRAF mutation: a frequent event in benign, atypical, and malignant melanocytic lesions of the skin. *Am J Dermatopathol* 2003; 25: 365- 370.
27. Bastian BC, de la Fouchardiere A, Elder DE, et al. Genomic landscape of melanoma. In: Elder DE, Massi D, Scolyer RA, et al, eds. *WHO Classification of Skin Tumours*. 4th ed. 2018:72–75
28. Urso C. Melanocytic lesions, Spitz tumors, and Don Ferrante's logic. *Am J Dermatopathol* 2007; 29: 491-494.
29. Urso C. Melanocytic skin neoplasms: what lesson from genomic aberrations? *Am J Dermatopathol* 2019; 41: 623-629.
30. Urso C. Certain and uncertain malignant potential in melanocyic skin neoplasms. *J Cutan Pathol* 2019; 46: 711-712.
31. Cook MG. Diagnostic discord with melanoma. *J Pathol* 1997; 182: 247-249.