► Le mélanome cutané a pour origine la transformation tumorale des mélanocytes, des cellules pigmentées qui produisent la mélanine et la transmettent aux kératinocytes environnants de la peau, des poils et des cheveux. La fonction principale de la mélanine est de protéger les cellules et leur ADN des dommages causés par les ultraviolets. Le mélanome est le cancer cutané le plus agressif. Son incidence n'a cessé d'augmenter au cours des dernières décennies. Les progrès de la recherche fondamentale ont cependant permis d'obtenir une meilleure compréhension des événements moléculaires et cellulaires responsables de l'initiation et de la progression des mélanomes. Nous présentons dans cette revue un aperçu des connaissances qui ont été acquises ces dernières années et nous montrons comment les progrès récents permettent d'envisager de nouvelles approches thérapeutiques ciblées plus efficaces. ◀

La mise en place du lignage mélanocytaire

Les mélanocytes cutanés (dits « classiques ») sont des cellules dendritiques qui sont responsables, par leur capacité de synthétiser la mélanine, de la pigmentation de la peau, des poils, et des cheveux. À côté des mélanocytes classiques, des mélanocytes appelés « non classiques », ont été découverts [1]. Ces cellules sont retrouvées, entre autres, dans l'œil, au niveau de la rétine, de la choroïde et de l'iris, dans l'oreille, au niveau de la cochlée, dans le cerveau, au niveau des enveloppes méningées et du bulbe olfactif, et dans le cœur, au niveau des valves cardiaques [1-4]. Les fonctions de ces mélanocytes restent mal définies, mais leur absence a été associée à des déficits sensoriels (vision, olfaction et audition) ainsi qu'à des dysfonctions cardiaques. Les mélanocytes sont principalement dérivés de la crête neurale. Ils se délaminent à partir du toit du tube neural. Les mélanocytes de l'épithélium pigmen-

Le mélanome cutané

Des modèles rationalisés aux soins des patients

Franck Gesbert¹⁻³, Lionel Larue¹⁻³

¹Institut Curie, Paris Sciences et Lettres (PSL) Research University, Inserm U1021, Développement normal et pathologique des mélanocytes, 91405 Orsay, France.

²Univ Paris-Sud, Univ Paris-Saclay, CNRS UMR3347, 91405 Orsay, France.

³Équipe labellisée Ligue contre le cancer, 91405 Orsay, France. lionel.larue@curie.fr

taire de la rétine dérivent, eux, de l'ectoderme céphalique. Chez les mammifères, les mélanocytes cutanés sont localisés principalement dans l'épiderme, au niveau de la couche basale et des follicules pileux. Quelques-uns sont situés dans le derme (Figure 1). Ces cellules ont pour fonction de synthétiser la mélanine, qui protège les cellules de la peau des stress causés par l'environnement, dont les ultra-violets. La mélanine, produite dans des organelles spécialisées des mélanocytes, les mélanosomes, est transférée dans les kératinocytes environnants, permettant ainsi la pigmentation de la peau, des poils et des phanères. Des dysfonctionnements de la mise en place des mélanocytes au cours du développement embryonnaire, ou de leur fonction, sont responsables d'hypo- ou d'hyper-pigmentations locales ou générales. Ainsi, la perte de fonction de gènes impliqués dans l'établissement ou le maintien du lignage mélanocytaire s'accompagne d'une diminution ou d'une absence de pigmentation de la peau, des yeux et des poils. Le piébalisme¹, le syndrome de Tietz² et les syndromes de Waardenburg³, sont trois pathologies héréditaires caractérisées par des absences de pigmentation locales congénitales [5-7]. Une dépigmentation est également observée dans le vitiligo⁴ ou la canitie⁵. Dans le vitiligo, les mélanocytes interfolliculaires et, éventuellement ceux des poils, sont absents. Dans la canitie, les cellules souches mélanocytaires et les mélanocytes des follicules pileux disparaissent [8]. Le gain de fonction de gènes impliqués dans la prolifération des mélanocytes lors du

¹ Le piébalisme est un trouble congénital rare de la pigmentation cutanée caractérisé par la présence de zones hypopigmentées et dépigmentées.

² Le syndrome de Tietz est un syndrome autosomique dominant caractérisé par une hypopigmentation et une surdité.

³ Les syndromes de Waardenburg font partie des syndromes de surdité avec anomalies de la pigmentation.

⁴ Le vitiligo est une maladie acquise, au cours de laquelle des taches blanches apparaissent sur la peau.

⁵ La canitie est la décoloration des cheveux et des poils qui deviennent grisonnants, puis gris, enfin tout à fait blancs.

Figure 1. Classification histologique et événements cellulaires et moléculaires. Les niveaux de Clark et indice de Breslow sont indiqués en abscisse et ordonnées du schéma. Ces éléments de classification prennent en compte le développement de la tumeur ainsi que sa profondeur dans le tissu dermique. Les événements cellulaires notables sont indiqués. Certains événements moléculaires comme les mutations du gène *BRAF*, la perte d'expression de p16 ou *PTEN* sont indiqués. Il est à noter que l'organisation temporelle de ces événements moléculaires n'est pas rigide et l'ordre de ces événements n'est pas fixé.

développement embryonnaire ou après la naissance, peut également conduire à la formation de nævi (ou grains de beauté) congénitaux qui peuvent être limités ou géants [9].

Mélanome cutané, aspects cliniques

Le mélanome cutané, résultat de la transformation tumorale des mélanocytes, ne représente que 10 % des cancers cutanés. Il est cependant responsable d'environ 80 % de la mortalité associée aux cancers de la peau. L'incidence des mélanomes n'a cessé d'augmenter au cours des quatre dernières décennies. Elle atteint aujourd'hui un taux de mortalité globale d'environ 20 %. Les dernières statistiques mondiales, publiées en 2012, révèlent que les cas de mélanomes représentent désormais environ 1,6 % de l'ensemble des cancers dépistés annuellement [10]. Le phototype⁶ et la localisation géographique sont deux critères importants dans l'épidémiologie du mélanome cutané : l'incidence maximale de mélanome est retrouvée en Australie/Nouvelle-Zélande, suivie par les États-Unis et l'Europe du nord, touchant

des populations de type caucasien présentant des phototypes I et II.

L'initiation du développement du mélanome cutané est associée à des facteurs génétiques, épigénétiques et environnementaux. Les facteurs génétiques incluent des mutations touchant le gène *MC1R* (*melanocortin 1 receptor*), qui détermine la couleur de la peau et pouvant être associé à une peau claire (phototypes d'indice faible), ou des mutations du gène *CDKN2A* (*cyclin-dependent kinase inhibitor 2A*) codant INK4a (ou p16), à l'origine possible d'un très grand nombre de grains de beauté. Le facteur environnemental le plus connu est bien évidemment l'exposition inconsidérée au soleil. Les études épidémiologiques ont également révélé un rôle possible des métaux lourds et des pesticides.

La plupart des mélanomes naissent à partir d'un mélanocyte « normal », et non d'un grain de beauté, qui génère un grain de beauté atypique évolutif. Le premier diagnostic repose sur l'aspect clinique de la lésion qui est évalué selon l'abécédaire suivant : (A) asymétrie ; (B) bords irréguliers ; (C) couleur, souvent hétérogène ;

⁶ Les phototypes (de I à IV) définissent la couleur de peau : phototype II (type caucasien), III (type mélangé caucasien) et IV (type méditerranéen).

Figure 2. Résumé des principales voies de signalisation d'intérêt thérapeutique dans le mélanome. Les principales molécules et voies de signalisation impliquées dans l'initiation et la progression du mélanome sont présentées dans ce schéma. Les molécules d'intérêt thérapeutique sont représentées. Elles peuvent déjà faire partie de l'arsenal thérapeutique ou en être à différents stades d'essai clinique (source : www.clinicaltrials.gov). Ce schéma n'est pas exhaustif.

(D) diamètre, supérieur à 5 mm ; et (E) évolution, le plus souvent prenant en compte les modifications des quatre critères précédents en fonction du temps. L'exérèse chirurgicale de la lésion suspecte reste l'acte clinique le plus efficace contre l'évolution du mélanome primitif. L'analyse histopathologique de la lésion permet de poser le diagnostic des patients.

Classes anatomiques et histologiques

Les mélanomes peuvent être classés en cinq niveaux selon la classification proposée par Clark *et al.* qui est un indicateur du stade d'avancement [11]. L'étape d'initiation conduit à la prolifération et à l'agrégation de mélanocytes pour former un nævus bénin ou atypique. Ces mélanocytes peuvent entrer en sénescence pendant un temps plus ou moins long. Cependant, l'acquisition d'un mécanisme de contournement de la sénescence par les mélanocytes leur permet de reprendre leur prolifération. La tumeur s'étend alors horizontalement dans le plan de l'épiderme (phase de croissance radiale ou RGP). Elle s'étend ensuite perpendiculairement au plan de l'épiderme ; c'est la phase de croissance verticale (ou VGP) au cours de laquelle les mélanocytes envahissent le derme. En acquérant différentes caractéristiques, dont la capacité d'invasion, la perte d'adhérence et la résistance à

l'anoïkis⁷, les mélanocytes peuvent disséminer vers des sites secondaires et former ainsi des métastases. La classification de Clark est remise en question par les pathologistes. L'indice de Breslow est une classification anatomique considérée comme un facteur pronostique majeur du mélanome. Il correspond à l'épaisseur maximale de la tumeur exprimée en millimètres. Une relation quasi linéaire existe entre la profondeur de la tumeur et le taux de survie des patients [12].

Lorsque le diagnostic est posé, la classification TNM (préconisée par l'AJCC - *American joint committee on cancer*) est utilisée afin d'en établir le stade parmi les cinq existants (de 0 à IV) [13]. L'épaisseur de la tumeur (T), associée ou non à une ulcération, sera déterminée sur une biopsie. Le nombre de cellules tumorales et la présence de métastases dans les ganglions lymphatiques drainants seront également évalués, et conduiront à une gradation (N). Enfin, la présence de métas-

⁷ L'anoïkis est une mort cellulaire initiée à la suite du détachement d'une cellule de la matrice extracellulaire.

tases, leur taille, leur localisation et leur nombre permettront leur classification (M). Le stade 0 sera ainsi un stade d'excellent pronostic tandis que le stade IV reste incurable à ce jour.

Classes moléculaires

Le consortium collaboratif américain *The cancer genome atlas* (TCGA) qui rassemble les efforts du *National cancer institute* et du *National human genome research institute* a proposé une classification des mélanomes cutanés selon quatre classes moléculaires [14]. Les trois premières regroupent des altérations des oncogènes *BRAF* et *NRAS* et du suppresseur de tumeur *NF1* (*neurofibromin*), qui sont fréquentes dans le mélanome (Figure 2). Elles sont à l'origine d'une activation constitutive de la voie des MAPK (*mitogen-activated protein kinases*) qui participe à la prolifération cellulaire. La quatrième classe correspond à des cas ne faisant pas partie des trois premières classes.

Les mélanomes « BRAF »

Le gène *BRAF* est muté dans 50 % des mélanomes. La mutation activatrice *BRAF*^{V600E} est la plus fréquente. Elle se retrouve dans 39 % des mélanomes. La seconde mutation la plus fréquente affectant *BRAF* est la mutation *BRAF*^{V600K}. Elle est rencontrée dans environ 15 % des cas. Les mutations *BRAF*^{V600R} et *BRAF*^{K601E} sont plus rares.

Les mélanomes « NRAS »

Le gène *NRAS* est muté dans environ 30 % des mélanomes. La très grande majorité (90 %) de ces mutations activatrices concerne la glutamine en position 61 (Q61). Dans 45 % des cas, cette glutamine est remplacée par une arginine (Q61R), et dans 35 %, par une lysine (Q61K) ; les mutations Q61L (leucine) et Q61H (histidine) sont moins fréquentes. Étonnamment, les mutations touchant la glycine en position 12 (G12R/D/A) sont très rares et ne représentent que 5 %. Des mutations dans les gènes *KRAS* et *HRAS* sont également détectées, mais à des taux plus faibles. Elles sont mutuellement exclusives avec les mutations *NRAS* et *BRAF*. Il est important de noter que dans les autres types de cancers associés à des mutations *RAS*, 85 % des mutations concernent le gène *KRAS*. Quelle est la raison de cette spécificité ? Il est possible d'imaginer un effecteur spécifique de *NRAS* exprimé dans les cellules de mélanome et ayant une fonction centrale dans l'ontogénèse des mélanocytes.

Les mélanomes « NF1 »

Les altérations délétères de *NF1* sont repérées dans environ 15 % des mélanomes. Il a récemment été montré que la réduction de l'expression de *NF1* dans des cellules ES (cellules souches embryonnaires) était à l'origine d'une augmentation de l'activité des voies de signalisation impliquant l'AMPc (adénosine monophosphate cyclique) et les MAPK [15].

Les mélanomes « triples négatifs »

Cette classe de mélanomes regroupe des mutants qui induisent différentes voies de signalisation. La voie des MAPK est impliquée avec le récepteur à activité tyrosine kinase (KIT) et les protéines GNAQ (*G pro-*

tein subunit alpha Q) et GNA11, des sous-unités α de protéines G associées aux récepteurs à sept domaines transmembranaires. Ces protéines pourraient activer la voie YAP (*Yes-associated protein*)/TAZ (*transcriptional coactivator with PDZ-binding motif*). Les voies PI3K (*phosphatidylinositol-3-kinase*)/AKT (protéine kinase A) et WNT/ β -caténine sont également des voies de signalisation largement décrites pour être activées lors de la mélanomagenèse [16-18]. Des mutations des gènes *CDKN2A*, *CDK4* (*cyclin-dependent kinase 4*), *BAP1* (*BRCA1-associated protein 1*), *TERT* (*telomerase reverse transcriptase*), *MC1R* et *MITF* (*microphthalmia-associated transcription factor*) induisent également une prédisposition. Environ 10 % des patients présentent un historique de mélanome familial, parmi lesquels près de 40 % sont porteurs d'une altération du gène *CDKN2A*. Une analyse transcriptomique de grande ampleur réalisée chez l'homme (TCGA, *the cancer genome atlas*) a révélé trois groupes de mélanomes : « *immune* », « *keratin* » (considéré également comme « épithélial » ou « pseudo-épithélial »), et « *Mitf-low* » [14]. Ces groupes fournissent des indications de pronostic. Ils définissent également différents degrés d'hétérogénéité génétique des tumeurs. Ainsi, l'analyse *in silico* de ces données révèle que les mélanomes « *Mitf-low* » présentent généralement un niveau faible de β -caténine, et les mélanomes « *keratin* », un niveau élevé.

Hétérogénéité tumorale

Le mélanome cutané est le type de cancer le plus hétérogène au niveau génétique et épigénétique, et de l'expression génique. Au niveau génétique, les mélanomes cutanés peuvent accumuler entre 0,1 et 300 mutations somatiques par million de bases [19]. Au niveau épigénétique, les modifications sont très nombreuses et diverses. Elles incluent des méthylations et déméthylations de l'ADN, des modifications post-traductionnelles de certaines histones, un remodelage de la chromatine, et des altérations des niveaux d'expression d'ARN non codants [20]. Enfin, concernant l'expression génique, la modulation du niveau des ARN messagers et des protéines est très plastique au sein de chaque cellule d'une même tumeur. Les cellules possèdent deux signatures extrêmes : « proliférative » et « invasive ». Elles seraient capables de passer d'un état à un autre, et *vice-versa* [21, 22]. Ce « *switch* » phénotypique serait contrôlé par les facteurs de transcription *MITF*, *BRN2* et le gène *AXL* qui code un récepteur tyrosine kinase [23, 24]. La β -caténine contrôle à la fois la transcription de *MITF* et *BRN2*. Dans d'autres systèmes cellulaires, la β -caténine serait reliée à l'expression d'*AXL*. La

complexité des fonctions physiologiques et physiopathologiques de la β -caténine a été décrite de manière détaillée dans une revue récente [25].

L'hétérogénéité phénotypique se révèle également à travers la morphologie des cellules : « épithélioïde » et « mésenchymateuse », associée à la présence respective de la E-cadhérine et de la N-cadhérine. Ainsi, le type de cadhérines présent à la surface des cellules serait un indicateur du « switch » phénotypique. Ces deux protéines d'adhérence interagissent avec la β -caténine à la membrane des cellules [25]. L'hétérogénéité phénotypique est également modulée par l'interaction cellule-matrice.

Les cytokines et les facteurs de croissance présents dans le micro-environnement des cellules jouent un rôle important dans l'hétérogénéité phénotypique intra-tumorale. Par exemple, la production de cytokines pro-inflammatoires par des cellules myéloïdes conduit à la suppression de l'expression de *MITF* par l'activation de c-Jun [26]. Cet antagonisme entre *MITF* et c-Jun révèle le rôle pro-métastatique que peuvent jouer les neutrophiles infiltrant les tumeurs. Il a en effet été montré que les patients présentant un mélanome primitif infiltré de neutrophiles avaient un risque augmenté de développer des métastases [27]. Inversement, les tumeurs infiltrées par des lymphocytes T sont de meilleur pronostic. Cette observation est le pivot de la recherche clinique en immunothérapie [14].

Approches thérapeutiques

À un stade précoce, le mélanome cutané *in situ* (non infiltrant) traité chirurgicalement est d'excellent pronostic. Avant 2011, la chimiothérapie conventionnelle reposait sur l'utilisation, en monothérapie ou en thérapie combinée, d'agents cytotoxiques ou cytostatiques tels que la Dacarbazine, le cisplatine, le paclitaxel et la nitroso-urée. Ces approches étaient utilisées malgré leur inefficacité. L'identification des mécanismes moléculaires responsables de l'initiation et de la progression des mélanomes a permis de développer un arsenal thérapeutique innovant.

Les thérapies ciblées

Les thérapies ciblées efficaces du mélanome cutané agissent sur des protéines de la voie des MAPK, reconnaissant soit une forme mutée de BRAF, soit MEK (*mitogen-activated protein kinase kinase*) (Figure 2). La modélisation de molécules chimiques de synthèse, fondée sur la structure de la cible (en anglais, *structure-based drug-designed*), a conduit à la synthèse du Vemurafenib, un inhibiteur spécifique des formes oncogéniques mutées *BRAF*^{V600}. Les essais cliniques ont montré une réponse globale d'environ 50 % des personnes portant cette mutation avec une survie sans progression de la tumeur de 5,3 mois contre 1,6 mois avec un traitement par la Dacarbazine. Des résultats similaires ont été obtenus avec le Dabrafenib, un autre inhibiteur de *BRAF*^{V600}. Bien qu'il n'y ait pas eu d'amélioration notable de la survie globale, ces résultats étaient très importants pour montrer que les mélanomes cutanés pouvaient répondre de manière objective à un traitement pharmacologique [28].

Le traitement combiné par le Dabrafenib et le Trametinib, un inhibiteur de MEK, induit une réponse globale de 76 % et une survie globale de 25,1 mois, contre 50 % et 18,7 mois pour la meilleure des monothérapies [29].

Immunothérapies

La découverte de molécules régulatrices du système immunitaire, ces 15 dernières années, a totalement modifié les stratégies thérapeutiques. La première cible identifiée a été la molécule inhibitrice CTLA-4 (*cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4*) exprimée par les lymphocytes T cytotoxiques (Figure 3). L'Ipilimumab, un anticorps monoclonal anti-CTLA-4 qui bloque l'interaction de cette molécule avec ses ligands, a montré une efficacité très importante dans la reconstitution de la réponse immune anti-tumorale. Un peu plus de 20 % des patients répondant à l'Ipilimumab survivent plus de trois ans après le début du traitement [30]. Ces résultats extrêmement encourageants doivent cependant être tempérés par le fait que seuls 15 % des patients répondent au traitement, et par l'apparition d'une toxicité chez plus de 25 % des patients, pouvant aller jusqu'au décès. Les anti-PD-1 (*programmed death-1*), Nivolumab et Pembrolizumab, offrent des taux de réponse d'environ 40 % au-delà d'un an, avec une toxicité de l'ordre de 10 % [31, 32]. La combinaison de l'Ipilimumab et du Nivolumab permet une meilleure réponse globale (60 % *versus* respectivement 20 % et 40 %, en monothérapie) [33]. Malheureusement, ces thérapies combinées conduisent à une augmentation très nette des effets secondaires chez 53 % des patients contre respectivement 25 % et 10 %, en monothérapie. En dix ans, des progrès majeurs ont été réalisés dans le traitement du mélanome cutané. Cependant, des questions cruciales restent encore sans réponse à ce jour. Ainsi, comment prédire les répondeurs par rapport aux non-répondeurs ? Comment choisir le type de combinaison en fonction du patient ? L'association efficace des cliniciens, des chirurgiens, des pathologistes et des chercheurs fondamentaux devrait nous apporter des réponses à ces questions dans les années à venir.

Résistances et mécanismes

La résistance des cellules aux thérapies ciblées et celle aux immunothérapies sont très certainement différentes : la première est principalement d'ordre *cellule-autonome* ; la deuxième est d'ordre *cellule-non-autonome* (qui dépend du micro-environnement). Environ 50 % des patients traités en monothérapie par le Dabrafenib ou le Vemurafenib développent une résistance après sept mois [28, 34]. Cette résistance

Figure 3. Mélanome et immunothérapie. Schéma représentant les cellules et les molécules centrales de la réponse immune anti-cancéreuse. **A.** Au niveau des tissus périphériques, les cellules dendritiques (DC) interagissent avec les cellules tumorales et les phagocytent. **B.** Activées, les DC rejoignent les ganglions lymphatiques (tissu lymphoïde) où elles présentent les antigènes tumoraux aux lymphocytes T CD4 et CD8. Cette présentation se fait au récepteur T (TcR) exprimé par les lymphocytes dans un contexte CMH (complexe majeur d'histocompatibilité) restreint. Un premier signal d'activation est donné à la suite de l'interaction entre CMH/antigène et TcR. Le second signal d'activation qui suit est dû à l'interaction entre CD28 et B7. Les lymphocytes T CD4 participent à l'activation des lymphocytes T CD8 par des interactions entre CD40 et son ligand CD40L, et par la production de cytokines. **C.** Au cours de la réponse immune, l'expression de CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte associated protein 4) par les DC bloque l'activation des lymphocytes T par CD28. Un autre signal d'inhibition repose sur l'interaction entre PD-1 (programmed cell death-1) exprimé par les lymphocytes T et son ligand PD-L1 présent sur les cellules tumorales. **C'.** L'approche par immunothérapie consiste à utiliser des anticorps monoclonaux bloquants dirigés contre CTLA-4, PD-1 ou PD-L1 et qui auront pour effet de bloquer les signaux inhibiteurs et de favoriser, ou de potentialiser, la réponse immune.

est associée, dans 80 % des cas, à une réactivation de la voie de signalisation MEK/ERK (*extracellular signal-regulated kinases*) due à des amplifications de RAF, à des mutations de *NRAS*, ou encore à des pertes d'expression de *NF1*, qui induisent une forte activité de ERK [35]. Ces résultats désignent ainsi ERK comme une cible de choix pour de nouvelles thérapies en association avec des inhibiteurs de BRAF et MEK. Il est à noter que cette résistance diminue en combinant le Dabrafenib ou le Vemurafenib (inhibiteurs de BRAF) avec le Trametinib (inhibiteur de MEK) et un inhibiteur de la voie IGF1R (*insulin-like growth factor 1 receptor*)/PI3K [36, 37]. Dans les 20 % des cas restants, la résistance aux thérapies ciblées est associée à une activation illicite des récepteurs des tyrosines kinase (c-MET, IGF1R, EGFR

[*epidermal growth factor receptor*]) et/ou des voies de signalisation PI3K/AKT, WNT/ β -caténine, ou YAP/TAZ [38, 39]. Enfin, l'activité du facteur de transcription clé du lignage mélanocytaire, *MITF*, conduit à une résistance aux inhibiteurs de la voie des MAPK [40]. Les mécanismes de résistance aux immunothérapies semblent plus complexes et sont aujourd'hui peu compris. Environ 30 % des patients ayant répondu à une immunothérapie rechuteront à long terme et développeront une résistance au traitement [28]. Les mécanismes de résistance sont soit *cellule non-autonome* : ils impliquent une perte de fonction des lymphocytes

T associés (par perte d'activité ou perte de la capacité de reconnaissance de la cellule tumorale) ; soit *cellule autonome*, avec l'échappement des cellules tumorales par l'expression de variants de la cible des anticorps [41]. Dans les deux cas, la résistance à l'immunothérapie peut être primaire, adaptative ou acquise. L'absence de réponse dans le cas des résistances primaires ou adaptatives est plus souvent associée à une absence d'activation de lymphocytes T spécifiques de la tumeur. L'activation de la voie de signalisation PI3K/PTEN (*phosphatase and TENsin homolog*), qui se produit dans 30 % des mélanomes, serait prédictive de résistances aux immunothérapies et donc de mauvais pronostic [42]. Le développement de la résistance à l'Ipilimumab serait associé à des mutations dans des gènes dont les produits sont impliqués dans la signalisation de l'IFN γ (interféron gamma) via ses récepteurs exprimés par les cellules tumorales [43]. Les cellules échapperaient alors à l'action des lymphocytes T infiltrants. Elles n'exprimeraient plus PD-L1 (*programmed death-ligand 1*) et seraient donc également résistantes aux traitements par le Nivolumab ou le Pembrolizumab qui ciblent le ligand de cette molécule, PD-1.

Modèles cellulaires et animaux – pertinence

Les modèles cellulaires et animaux sont indispensables pour disséquer les mécanismes cellulaires et moléculaires impliqués dans la mélanomagenèse et pour évaluer certains traitements (Figure 4).

Les lignées de cellules de mélanomes humains

Les lignées de cellules de mélanomes humains ont été établies au début des années 1980 à partir de tumeurs. La très grande variabilité des mélanomes se retrouve dans la très large panoplie (estimée à 200) de lignées cellulaires qui ont été établies. Ces lignées permettent d'évaluer l'importance de différents acteurs dans les mécanismes moléculaires et cellulaires fondamentaux, leurs caractéristiques oncogéniques *in vitro*, par des tests d'invasion cellulaire, et *in vivo*, en mesurant la capacité des cellules de se développer et de métastaser une fois implantées dans des animaux immunodéficients.

Les classifications établies pour typer les mélanomes ont tendance à ne pas être représentatives du comportement des cellules *in vivo*. Une analyse non-supervisée des signatures d'expression de transcrits (ARNm et microARN) fondée sur la spécificité d'expression du mélanome par rapport à sept autres types de tumeurs a permis d'identifier des signatures moléculaires spécifiques et des réseaux moléculaires communs aux différents modèles cellulaires utilisés, et ainsi d'évaluer l'agressivité des lignées de cellules et des tumeurs des patients ainsi que leurs agressivités relatives [44]. Cette étude a montré clairement que les lignées de cellules cultivées en deux dimensions sur plastique en présence de sérum de veau fœtal et en l'absence de cellules du micro-environnement (dont les cellules immunitaires) ont une certaine pertinence pour comprendre les mécanismes de la mélanomagenèse *in vivo*. Les conclusions obtenues avec ces modèles de lignées nécessitent cependant d'être appréhendées avec précaution. Les cultures cellulaires en trois dimensions sont réalisables bien que plus complexes. En présence ou en l'absence de cellules hétérologues,

elles apportent d'autres informations topologiques en 2D et 3D.

Les xénogreffes dérivées de patients (PDX)

Les tumeurs humaines peuvent être greffées directement dans des souris immunodéficientes, le stroma humain étant remplacé par celui de la souris, pour réaliser des xénogreffes dérivées de patients ou PDX (*patient-derived xenograft*). Les PDX sont devenues un système de choix pour tester de nouveaux agents thérapeutiques dans les essais précliniques. Cette approche présente cependant deux principales limitations : les tumeurs se développent dans un environnement dépourvu de système immunitaire (l'animal étant immunodéficient) ; et une sélection s'effectue : seules les cellules capables de proliférer dans un contexte murin pourront être évaluées.

Les PDX peuvent être implantées soit en sous-cutané, au niveau du flanc, soit sous la graisse brune, dans la partie dorsale du cou, ou entre le rein et la capsule rénale. Le site de greffe est important : certains sites sont en effet plus favorables à la croissance des PDX. Il est également possible de dissocier les PDX en cellules uniques qui seront injectées soit dans la veine caudale, pour favoriser une croissance dans le poumon, soit dans le ventricule droit, pour faciliter les métastases dans les différents organes.

Les modèles transgéniques

L'importance des modifications géniques retrouvées dans les mélanomes humains peut être évaluée *in vivo* dans un contexte physiologique chez d'autres mammifères comme la souris, ou chez des vertébrés « inférieurs » comme le poisson-zèbre [50] (→). Des modèles transgéniques permettent d'étudier l'initiation et la progression des mélanomes dans un contexte immunocompétent.

(→) Voir la Synthèse de P. Völkel et al., m/s n° 4, avril 2018, page 345

Les modèles de souris

Les souris ne développent pas spontanément de mélanomes cutanés. Cependant, des souris génétiquement modifiées se sont révélées être d'excellents modèles d'étude [45]. Ainsi, des souris exprimant les formes activées-oncogéniques de *BRAF* ou *NRAS* développent des mélanomes. Associées à la perte d'hétérozygotie de *PTEN* ou *CDKN2A*, l'apparition des mélanomes est plus rapide et la prévalence plus importante. L'activation de la voie des MAPK induit la prolifération, mais entraîne également une sénescence cellulaire. L'inactivation de *PTEN* ou de *CDKN2A*, ou l'activation de la β -caténine permet le contournement de sénescence des cellules.

Figure 4. Stratégie générale pour obtenir des modèles pertinents pour les mélanomes humains. Des tumeurs sont prélevées sur des patients et analysées aux niveaux histologiques et moléculaires (Omics). Ces tumeurs peuvent également être établies en culture et analysées par différentes approches en réponse à des modifications génétiques ou à des traitements. Des souris immunodéficientes sont utilisées afin de recevoir des tumeurs (xénogreffes) issues de patients (PDX) ou des lignées de cellules manipulées. Ces approches permettent d'évaluer les fonctions moléculaires et cellulaires pour prédire la réponse à des traitements *in vivo*. En parallèle, des modèles de souris génétiquement modifiées sont utilisés afin de mimer au mieux le contexte physiopathologique de l'initiation et de la progression tumorale. Ces modèles permettent d'établir des lignées de cellule murine d'intérêt. Ces lignées peuvent à leur tour être manipulées et réimplantées dans des souris. Cette approche présente l'avantage d'être réalisée dans un contexte syngénique en présence d'un système immunitaire fonctionnel. Ces modèles permettent également de réaliser des analyses cliniques, histologiques, cellulaires et moléculaires qui peuvent être comparées à la situation rencontrée chez l'humain. Dans le contexte du mélanome, un modèle de souris génétiquement modifié peut être un bon modèle pour un type de mélanome. Cette approche permet de s'affranchir du frein expérimental que représente la grande hétérogénéité des mélanomes chez l'homme. GDI : *genetically-modified-organism derived isograft*.

Ces modèles de souris transgéniques sont aujourd'hui largement partagés et utilisés dans les laboratoires du monde entier. Ils sont pour la plupart, sur un fond génétique défini, les souris C57BL/6, ce qui permet de réaliser des greffes sur des hôtes de même génotype (syngénique) pour créer des GDI (*genetically-modified-organism derived isograft*) dans un environnement immunitaire compétent.

Les modèles de poissons zèbres

Un second modèle animal particulièrement utilisé dans le domaine de la recherche sur le développement des mélanocytes et des mélanomes est celui du poisson zèbre (*Danio rerio*) [50] (→). La manipulation génétique de cet animal est relativement aisée et

rapide ; il a ainsi permis de confirmer que la mutation *BRAF*^{V600E} conduit à la formation de naevi, et que des mutations additionnelles associées à la sénescence sont requises pour initier la formation d'un mélanome [46]. Ce modèle a récemment conduit à l'identification de nouveaux gènes impliqués dans la mélanomagenèse [47] et a montré son utilité pour l'obtention rapide de résultats concernant de nouvelles approches thérapeutiques [46].

Les lignées de cellules de mélanome de souris

La lignée de cellules de mélanome de souris, B16, obtenue par induction chimique à partir de souris C57BL/6,

(→) Voir la Synthèse de P. Völkel et al., m/s n° 4, avril 2018, page 345

et les sous-clones qui en ont été dérivés (B16-C3, -F1, et -F10), présentent différentes capacités invasives lorsqu'ils sont injectés à des souris syngéniques. Selon les sous-clones, les cellules peuvent être plus ou moins pigmentées et plus ou moins agressives une fois implantées. Ces lignées de cellules sont très largement utilisées bien que leurs caractéristiques moléculaires soient loin d'être optimales. Des lignées de cellules de mélanome ont été, et seront, établies à partir de différents modèles de mélanome transgéniques. Les lignées de cellules syngéniques issues de souris génétiquement modifiées devraient remplacer les cellules B16 dans les essais précliniques afin de disséquer les mécanismes cellulaires et moléculaires fondamentaux de ce cancer.

Conclusion

L'exérèse chirurgicale du mélanome représente aujourd'hui l'approche thérapeutique précoce la plus efficace face à un cancer en constante progression depuis plus de quarante ans. L'éducation, la médiatisation, le dépistage précoce et, par conséquent, la formation des médecins sont des gages de succès dans la prévention du mélanome.

Le mélanome est devenu un modèle pour la recherche translationnelle sur les immunothérapies et les thérapies ciblées. Les combinaisons d'immunothérapies et/ou de thérapies ciblées ont ainsi permis d'améliorer la réponse globale et la survie des patients. Des traitements séquentiels permettraient d'augmenter leur réponse objective et leur survie. Trouver la séquence d'administration optimale de chaque traitement pour chaque patient reste encore un lointain objectif. Pour autant, une plus grande connaissance fondamentale de l'initiation et la progression des mélanomes cutanés générera sans aucun doute un bénéfice avec, en particulier, la définition de biomarqueurs adaptés pour le traitement de chaque patient.

La thérapie cellulaire adoptive représente également une voie de recherche digne d'intérêt dans le cadre du traitement du mélanome. Cette approche fait appel à la réinjection de lymphocytes infiltrant les tumeurs, ou à des approches de thérapie cellulaire de type CAR-T (*chimeric antigen receptor-T*, des lymphocytes T génétiquement modifiés et exprimant un récepteur pour l'antigène spécifique ou chimérique) [48, 49]. Ces approches sont très efficaces dans la lutte contre des cancers hématologiques, leur efficacité restant à démontrer dans le cas de tumeurs solides, et du mélanome cutané en particulier.

L'ensemble de ces approches est le fruit de plus de 50 ans de recherche dans le domaine du cancer, mais également de la chimie organique, l'immunologie, la signalisation cellulaire, la génétique moléculaire des espèces, la signalisation cellulaire, la génomique. Les avancées obtenues dans les domaines de la médecine personnalisée montrent à quel point notre connaissance des mécanismes d'initiation et de progression des tumeurs s'est précisée. Les approches thérapeutiques validées dans la lutte contre le mélanome donnent des résultats très prometteurs et encourageants. La recherche et les essais précliniques de nouvelles approches thérapeutiques nécessitent le raffinement de modèles cellulaires et animaux adaptés et rationnels. Cependant, ces approches, de plus en plus fines et spécifiques, sont également

de plus en plus coûteuses. Les enjeux du futur sont non seulement scientifiques et médicaux, mais également économiques. ♦

SUMMARY

Cutaneous melanoma: from rationalized models to patients care

Cutaneous melanoma derives from the tumoral transformation of melanocytes. These pigmented cells produce melanin prior transmitting it to the surrounding keratinocytes of the skin, hair and mane. The main function of melanin is to protect cells and their DNA from damage caused by ultraviolet light. Melanoma is the most aggressive skin cancer whose incidence has increased steadily in recent decades. Advances in basic research have resulted in a better understanding of the molecular and cellular events responsible for the initiation and progression of melanomas. In this review, we present an overview of the knowledge gained in recent years and show how recent advances lead to new targeted and more efficient therapeutic approaches. ♦

REMERCIEMENTS

Ce travail a été financé par la Ligue Contre le Cancer - comité de l'Oise, INCa, Gefluc, ITMO Cancer, ARC et l'ANR Labex CelTisPhyBio (ANR-11-LBX-0038 and ANR-10-IDEX-0001-02 PSL).

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

- Colombo S, Berlin I, Delmas V, Larue L. Classical and non-classical melanocytes in vertebrates. In : Riley PA, Borovansky J, eds. *Melanins and melanosomes*. Weinheim : Wiley-VCH Verlag Co, 2011 : 21-51.
- Yajima I, Larue L. The location of heart melanocytes is specified and the level of pigmentation in the heart may correlate with coat color. *Pigment Cell Melanoma Res* 2008 ; 21 : 471-6.
- Gudjohnsen SA, Atacho DA, Gesbert F, et al. Meningeal melanocytes in the mouse: distribution and dependence on. *Front Neuroanat* 2015 ; 9 : 149.
- Brito FC, Kos L. Timeline and distribution of melanocyte precursors in the mouse heart. *Pigment Cell Melanoma Res* 2008 ; 21 : 464-70.
- Amiel J, Watkin PM, Tassabehji M, et al. Mutation of the MITF gene in albinism-deafness syndrome (Tietz syndrome). *Clin Dysmorphol* 1998 ; 7 : 17-20.
- Oiso N, Suzuki T, Wataya-Kaneda M, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of vitiligo in Japan. *J Dermatol* 2013 ; 40 : 344-54.
- Tachibana M. Sound needs sound melanocytes to be heard. *Pigment Cell Res* 1999 ; 12 : 344-54.
- Mort RL, Jackson IJ, Patton EE. The melanocyte lineage in development and disease. *Development* 2015 ; 142 : 620-32.
- Kinsler VA, Larue L. The patterns of birthmarks suggest a novel population of melanocyte precursors arising around the time of gastrulation. *Pigment Cell Melanoma Res* 2018 ; 31 : 95-109.
- Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer* 2015 ; 136 : E359-86.
- Clark WH Jr, Elder DE, Guerry DT, et al. A study of tumor progression: the precursor lesions of superficial spreading and nodular melanoma. *Hum Pathol* 1984 ; 15 : 1147-65.

RÉFÉRENCES

12. Breslow A. Thickness, cross-sectional areas and depth of invasion in the prognosis of cutaneous melanoma. *Ann Surg* 1970 ; 172 : 902-8.
13. Balch CM, Gershenwald JE, Soong SJ, et al. Final version of 2009 AJCC melanoma staging and classification. *J Clin Oncol* 2009 ; 27 : 6199-206.
14. Cancer Genome Atlas Network. Electronic address imo, cancer genome atlas. Genomic classification of cutaneous melanoma. *Cell* 2015 ; 161 : 1681-96.
15. Allouche J, Bellon N, Saidani M, et al. *In vitro* modeling of hyperpigmentation associated to neurofibromatosis type 1 using melanocytes derived from human embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015 ; 112 : 9034-9.
16. Fecher LA, Cummings SD, Keefe MJ, Alani RM. Toward a molecular classification of melanoma. *J Clin Oncol* 2007 ; 25 : 1606-20.
17. Zhang T, Dutton-Regester K, Brown KM, Hayward NK. The genomic landscape of cutaneous melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res* 2016 ; 29 : 266-83.
18. Larue L, Delmas V. The WNT/Beta-catenin pathway in melanoma. *Front Biosci* 2006 ; 11 : 733-42.
19. Lawrence MS, Stojanov P, Polak P, et al. Mutational heterogeneity in cancer and the search for new cancer-associated genes. *Nature* 2013 ; 499 : 214-8.
20. Moran B, Silva R, Perry AS, Gallagher WM. Epigenetics of malignant melanoma. *Semin Cancer Biol* 2017. pii: S1044-579X(17)30130-X.
21. Carreira S, Goodall J, Denat L, et al. Mitf regulation of Dila controls melanoma proliferation and invasiveness. *Genes Dev* 2006 ; 20 : 3426-39.
22. Hoek KS, Goding CR. Cancer stem cells versus phenotype-switching in melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res* 2010 ; 23 : 746-59.
23. Strub T, Giuliano S, Ye T, et al. Essential role of microphthalmia transcription factor for DNA replication, mitosis and genomic stability in melanoma. *Oncogene* 2011 ; 30 : 2319-32.
24. Goding CR. Commentary. A picture of Mitf in melanoma immortality. *Oncogene* 2011 ; 30 : 2304-6.
25. Aktary Z, Bertrand JU, Larue L. The WNT-less wonder: WNT-independent beta-catenin signaling. *Pigment Cell Melanoma Res* 2016 ; 29 : 524-40.
26. Riesenberger S, Groetchen A, Siddaway R, et al. MITF and c-Jun antagonism interconnects melanoma dedifferentiation with pro-inflammatory cytokine responsiveness and myeloid cell recruitment. *Nat Commun* 2015 ; 6 : 8755.
27. Bald T, Quast T, Landsberg J, et al. Ultraviolet-radiation-induced inflammation promotes angiogenesis and metastasis in melanoma. *Nature* 2014 ; 507 : 109-13.
28. Chapman PB, Hauschild A, Robert C, et al. Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation. *N Engl J Med* 2011 ; 364 : 2507-16.
29. Long GV, Flaherty KT, Stroyakovskiy D, et al. Dabrafenib plus trametinib versus dabrafenib monotherapy in patients with metastatic BRAF V600E/K-mutant melanoma: long-term survival and safety analysis of a phase 3 study. *Ann Oncol* 2017 ; 28 : 1631-9.
30. Luke JJ, Flaherty KT, Ribas A, Long GV. Targeted agents and immunotherapies: optimizing outcomes in melanoma. *Nat Rev Clin Oncol* 2017 ; 14 : 463-82.
31. Robert C, Schachter J, Long GV, et al. Pembrolizumab versus ipilimumab in advanced melanoma. *N Engl J Med* 2015 ; 372 : 2521-32.
32. Topalian SL, Sznol M, McDermott DF, et al. Survival, durable tumor remission, and long-term safety in patients with advanced melanoma receiving nivolumab. *J Clin Oncol* 2014 ; 32 : 1020-30.
33. Wolchok JD, Kluger H, Callahan MK, et al. Nivolumab plus ipilimumab in advanced melanoma. *N Engl J Med* 2013 ; 369 : 122-33.
34. Hauschild A, Grob JJ, Demidov LV, et al. Dabrafenib in BRAF-mutated metastatic melanoma: a multicentre, open-label, phase 3 randomised controlled trial. *Lancet* 2012 ; 380 : 358-65.
35. Shi H, Moriceau G, Kong X, et al. Melanoma whole-exome sequencing identifies (V600E)B-RAF amplification-mediated acquired B-RAF inhibitor resistance. *Nat Commun* 2012 ; 3 : 724.
36. Villanueva J, Vultur A, Lee JT, et al. Acquired resistance to BRAF inhibitors mediated by a RAF kinase switch in melanoma can be overcome by cotargeting MEK and IGF-1R/PI3K. *Cancer Cell* 2010 ; 18 : 683-95.
37. Spagnolo F, Ghorzo P, Queirolo P. Overcoming resistance to BRAF inhibition in BRAF-mutated metastatic melanoma. *Oncotarget* 2014 ; 5 : 10206-21.
38. Shi H, Kong X, Ribas A, Lo RS. Combinatorial treatments that overcome PDGFRbeta-driven resistance of melanoma cells to V600EB-RAF inhibition. *Cancer Res* 2011 ; 71 : 5067-74.
39. Hugo W, Shi H, Sun L, et al. Non-genomic and immune evolution of melanoma acquiring MAPK1 resistance. *Cell* 2015 ; 162 : 1271-85.
40. Johannessen CM, Johnson LA, Piccioni F, et al. A melanocyte lineage program confers resistance to MAP kinase pathway inhibition. *Nature* 2013 ; 504 : 138-42.
41. Zaretsky JM, Garcia-Diaz A, Shin DS, et al. Mutations Associated with Acquired Resistance to PD-1 Blockade in Melanoma. *N Engl J Med* 2016 ; 375 : 819-29.
42. Peng W, Chen JQ, Liu C, et al. Loss of PTEN promotes resistance to T cell-mediated immunotherapy. *Cancer Discov* 2016 ; 6 : 202-16.
43. Sharma P, Hu-Lieskova S, Wargo JA, Ribas A. Primary, adaptive, and acquired resistance to cancer immunotherapy. *Cell* 2017 ; 168 : 707-23.
44. Rambow F, Job B, Petit V, et al. New functional signatures for understanding melanoma biology from tumor cell lineage-specific analysis. *Cell Rep* 2015 ; 13 : 840-53.
45. Aktary Z, McMahon M, Larue L. Animal models of melanoma. In: Fisher DE, Bastian BC, eds. *Melanoma*. New York : Springer Science, Business Media LLC, 2018.
46. Patton EE, Widlund HR, Kutok JL, et al. BRAF mutations are sufficient to promote nevi formation and cooperate with p53 in the genesis of melanoma. *Curr Biol* 2005 ; 15 : 249-54.
47. Kim IS, Heilmann S, Kansler ER, et al. Microenvironment-derived factors driving metastatic plasticity in melanoma. *Nat Commun* 2017 ; 8 : 14343.
48. Rosenberg SA, Restifo NP, Yang JC, et al. Adoptive cell transfer: a clinical path to effective cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer* 2008 ; 8 : 299-308.
49. Kershaw MH, Westwood JA, Darcy PK. Gene-engineered T cells for cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2013 ; 13 : 525-41.
50. Völkel P, Dupret B, Le Bourhis X, Angrand PO. Le modèle poisson zèbre dans la lutte contre le cancer. *Med Sci (Paris)* 2018 ; 34 : 345-53.

TIRÉS À PART

L. Larue

Bon de commande

À retourner à EDP Sciences, 109, avenue Aristide Briand, 92541 Montrouge Cedex
Tél. : 01 49 85 60 69 - Fax : 01 49 85 03 45 - E-mail : francois.flori@edpsciences.org

NOM : Prénom :

Adresse :

Code postal : Ville :

Pays :

Fonction :

Je souhaite recevoir l'ouvrage **Hépatite B** : 54 € + 3 € de port = **57 € TTC** offre exceptionnelle réservée aux abonnés à m/s jusqu'au 31 décembre 2010

en exemplaire, soit un total de €

☐ Par chèque, à l'ordre de EDP Sciences

☐ Par carte bancaire :

☐ Visa

☐ Eurocard/Mastercard

Carte n° | | | | | | | | | | | | | | | |

Date d'expiration : | | | | | |

N° de contrôle au dos de la carte : | | | | |

Signature :

Hépatite B

Jean-Michel Pawlowsky
Daniel Dhumeaux

ISBN : 978-2-8425-4131-6 576 pages