

UNIVERSITE DE LILLE  
**FACULTE DE MEDECINE HENRI WAREMBOURG**  
Année 2023

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT  
DE DOCTEUR EN MEDECINE

**Pertinence de la recherche d'altérations moléculaires rares  
dans le mélanome pan-négatif en pratique courante**

Présentée et soutenue publiquement le 24 mai 2023  
à 18 h au pôle formation

**Par Guillaume DELZENNE**

---

**JURY**

**Président :**

Monsieur le Professeur Laurent Mortier

**Asseseurs :**

Madame le Professeur Delphine Staumont

Monsieur le Professeur Alexis Cortot

Madame le Docteur Clotilde Descarpentries

**Directeur de thèse :**

Monsieur le Docteur Philippe Jamme

---

# Avertissement

La Faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs.

# Liste des abréviations

**ADN** : acide désoxyribonucléique

**AKT** : protein kinase B

**ALK** : anaplastic lymphoma kinase

**ALM** : acral lentiginous melanoma

**ARN** : acide ribonucléique

**BAD** : BCL2 associated agonist Of cell death

**BAP 1** : BRCA1-associated protein-1

**BCR-ABL** : breakpoint cluster region-abelson

**cAMP** : cyclic adenosine monophosphate

**CBNPC** : cancers bronchiques non à petites cellules

**CD28** : cluster of differentiation 28

**CDK4** : cyclin dependent kinase 4

**CDKN2A** : cyclin dependent kinase inhibitor 2A

**CMH** : complexe majeur d'histocompatibilité

**CPK** : créatine phosphokinase

**CREB** : cAMP responsive element binding protein

**CTLA4** : cytotoxique-T-lymphocyte- antigen 4 proteine

**C-Kit/CD117** : SCF receptor

**ERK** : extracellular signal-regulated kinase

**FEVG** : fraction d'éjection ventriculaire gauche

**FGFR** : fibroblast growth factor

**FISH** : fluorescence in situ hybridization

**GDP** : guanosine diphosphate

**Grb2** : growth factor receptor-bound protein 2

**GTP** : guanosine triphosphate

**HR** : hazard ratio

**IC** : intervalle de confiance

**LAG-3** : lymphocyte-activation gene 3

**LM** : lentigo melanoma

**LMC** : leucémie myéloïde chronique

**MAP2K** : mitogen-activated protein kinase kinase

**MAPK** : mitogen-activated protein kinase

**MC1R** : melanocortin 1 Receptor

**MEK** : mitogen-activated ERK kinase

**MET** : met proto-oncogene (hepatocyte growth factor receptor)

**MITF** : microphthalmia-associated transcription factor

**MLM** : mucosal lentiginous melanoma

**MSH** : melanocyte-stimulating hormone

**mTOR** : mammalian target of rapamycin

**NF1** : neurofibromin 1

**NGS** : next generation sequencing

**NM** : nodular melanoma

**NTRK** : neurotrophic tyrosine receptor kinase

**OCA**: oncomine comprehensive assay

**OVCR** : occlusion veineuse centrale de la rétine

**PCR** : polymerase chain reaction

**PD1** : programmed cell death protein 1

**PD-L1** : programmed death-ligand 1

**PH** : pleckstrin homology

**PI3K** : phosphoinositide 3-kinase

**PIP2** : phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate

**PIP3** : phosphatidylinositol 3,4,5-Trisphosphate

**PKA** : protein kinase A

**PTEN** : phosphatase and TENsin homolog

**PUVAthérapie** : traitement consistant en l'irradiation du corps par des rayons ultraviolets A (UVA) après la prise d'un médicament photosensibilisant

**RAF** : rapidly accelerated fibrosarcoma

**RAS** : rat sarcoma virus protein

**RET** : rearranged during transfection

**ROS1** : c-ros oncogene 1

**RTK** : receptor tyrosine kinase

**SCF** : stem cell factor

**Shc** : src homology/collagen

**SOS** : son of sevenless protein

**SSM** : superficial spreading melanoma

**TCR** : T cell receptor

**UV** : rayonnement ultraviolet

**$\alpha$ -MSH** : alpha-melanocyte stimulating Hormone

# Sommaire

Avertissement .....	2
Remerciements .....	3
Liste des abréviations.....	11
Sommaire.....	15
Contextualisation du sujet .....	17
1 Introduction générale sur le mélanome .....	17
1.1 Définition .....	17
1.2 Epidémiologie.....	17
1.3 Facteurs de risque.....	20
1.4 Diagnostic .....	24
1.5 Histogénèse et classification anatomoclinique.....	30
2 Biologie moléculaire des mélanomes .....	32
2.1 La voie MAPK .....	33
2.1.1 Mutations BRAF.....	34
2.1.2 Mutations NRAS .....	35
2.1.3 Mutations NF1 .....	37
2.1.4 Mutations MAP2K1/MAP2K2 .....	38
2.1.5 Mutations Kit.....	38
2.2 La voie PI3K.....	39
2.3 La voie de l'AMPC et MITF .....	40
2.4 La voie P16/CDK4.....	41
3 Prise en charge thérapeutique du mélanome métastatique.....	42
3.1 Immunothérapies .....	42
3.1.1 L'ipilimumab (anti-CTLA4) .....	44
3.1.2 Les anti-PD1 (nivolumab et pembrolizumab) .....	44
3.1.3 Les associations anti-PD1 + anti-CTLA4.....	45
3.1.4 Les anti-LAG-3.....	47
3.2 Thérapies ciblées .....	48
3.2.1 BRAF inhibiteurs (encorafenib, dabrafenib, vemurafenib).....	49
3.2.2 MEK inhibiteurs (binimetinib, trametinib, cobimetinib) .....	50

3.2.3	Associations BRAF inhibiteurs + MEK inhibiteurs .....	51
3.2.4	Inhibiteurs de tyrosine kinase (imatinib) .....	52
3.3	Chimiothérapies .....	53
4	Les transcrits de fusion en cancérologie .....	54
4.1	Définition et épidémiologie .....	54
4.1.1	Techniques de détection des fusions d'oncogènes .....	56
4.1.2	Impact thérapeutique des fusions d'oncogènes .....	57
5	Objectif de l'étude .....	59
	Relevance of detection of RAF fusion transcripts in pan-negative melanoma in routine practice .....	61
1	Introduction .....	62
2	Materials and Methods .....	63
2.1	Study Design and Patients .....	63
2.2	Molecular analysis.....	64
3	Results .....	64
4	Discussion.....	66
5	Conclusion .....	68
6	Table 1: Characteristics of the study population .....	69
7	Figure 1: Treatments received and best response for patients with fusion oncogenes .....	70
	Conclusion .....	71
	ANNEXES .....	73
1	Annexes de l'introduction .....	73
1.1	Liste des tables .....	73
1.2	Liste des figures .....	73
1.2.1	Références bibliographiques.....	74
2	Annexes de l'article .....	84
2.1	Liste des tables .....	84
2.2	Liste des figures .....	84
2.3	Références bibliographiques .....	85



# Contextualisation du sujet

## 1 Introduction générale sur le mélanome

### 1.1 Définition

Le mélanome est un cancer de la peau ou des muqueuses, développé aux dépens des mélanocytes.

### 1.2 Epidémiologie

En Europe, le taux d'incidence est de 10 à 25 nouveaux cas de mélanome pour 100 000 habitants ; aux États-Unis, de 20 à 30 pour 100 000 ; et en Australie, où l'incidence est très élevée, de 50 à 60 pour 100 000. Ces dernières années, est observée une augmentation spectaculaire de l'incidence chez les personnes âgées de plus de 60 ans, en particulier chez les hommes dans certaines régions d'Europe. Cependant, l'incidence continue d'augmenter dans tous les groupes d'âge et cela devrait perdurer pendant des décennies [1].

C'est surtout l'incidence des mélanomes de faible épaisseur qui augmente, tandis que celle des mélanomes de forte épaisseur, qui influent le plus sur la mortalité, reste stable. Une partie de cette augmentation est donc artificielle liée à des exérèses systématiques aboutissant fréquemment à un diagnostic de mélanomes intra

épidermiques, et il n'est pas exclu que certains de ces mélanomes n'auraient pas évolué vers un mélanome invasif [2–4]

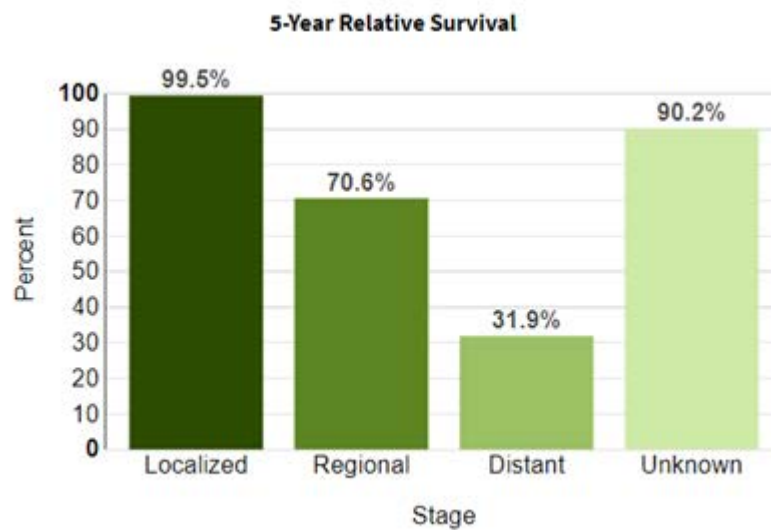
Le mélanome affecte principalement les personnes jeunes et d'âge moyen. L'âge médian au moment du diagnostic de mélanome est de 57 ans et il a été observé que l'incidence de ce cancer augmente de façon linéaire après l'âge de 25 ans jusqu'à l'âge de 50 ans puis ralentit, surtout chez les femmes.

Les hommes sont environ 1,5 fois plus susceptibles de développer un mélanome que les femmes. Cependant, la prévalence différente dans les deux sexes doit être analysée en fonction de l'âge. Le taux d'incidence du mélanome est plus important chez les femmes que les hommes jusqu'à l'âge de 40 ans, alors que, à 75 ans, l'incidence est presque 3 fois plus élevée chez les hommes que chez les femmes [5,6].

Parallèlement à cette augmentation du taux d'incidence, il faut noter également une augmentation de la mortalité liée au mélanome, bien qu'à un degré moindre.

Le stade du mélanome au moment du diagnostic, faisant référence à l'étendue de la maladie, détermine les options de traitement et exerce une forte influence sur la durée de survie. Ainsi, plus le mélanome est détecté précocement, plus une personne a de chances de survivre cinq ans après avoir été diagnostiquée.

Pour ce qui est des mélanomes primitivement cutanés, 81,6 % d'entre-eux sont diagnostiqués au stade local. La survie relative à 5 ans dans ce contexte est de 99,5 %. En cas d'atteinte ganglionnaire, la survie relative à 5 ans est de 70,6%. En cas d'atteinte métastatique à distance, elle n'est que de 31,9% à cinq ans [7].



*Figure 1: Survie relative à 5 ans en cas de mélanome en fonction du stade.*

*SEER 17 2012–2018, All Races, Both Sexes by SEER Combined Summary Stage*

Les taux de mortalité sont également plus élevés chez les personnes d'âge moyen et les personnes âgées [7]

Le nombre de décès en 2018 en France est estimé à 1 975 dont 57 % chez l'homme. Les taux de mortalité sont respectivement de 1,7 chez l'homme et 1,0 chez la femme [8].

### 1.3 Facteurs de risque

Aujourd'hui, le mélanome est considéré comme une maladie multifactorielle résultante d'une interaction entre la susceptibilité génétique et l'exposition environnementale.

Le facteur de risque environnemental le plus important pour le développement du mélanome est l'exposition à la lumière ultraviolette en raison de ses effets génotoxiques. L'exposition intermittente au soleil semble être un déterminant important du risque de survenue d'un mélanome [9].

Des antécédents d'érythèmes actiniques (coups de soleil) peuvent indiquer une exposition à la lumière solaire intense et intermittente. De plus, l'exposition au soleil pendant l'enfance est associée au risque le plus élevé [10].

Cependant, ces données qui attribuent le rôle majeur aux expositions solaires intermittentes et à celles reçues dans l'enfance et qui écartent le rôle des expositions cumulatives sont sans doute trop simplistes.

Il y a en réalité plusieurs types épidémiologiques de mélanomes, dans lesquels on peut schématiquement isoler des 'mélanomes à forte composante génétique' plus souvent associés à des nævi multiples et survenant plus fréquemment chez le sujet jeune, parfois avec peu d'expositions solaires, et des 'mélanomes à faible composante

génétique' qui surviennent plus tard dans la vie sur les zones exposées au soleil en permanence.

Enfin, les mélanomes des paumes, des plantes et des muqueuses, qui ne sont à l'évidence pas directement liés aux expositions solaires, achèvent de confirmer que tous les mélanomes ne répondent pas aux mêmes règles épidémiologiques. Cette conception est également cohérente avec ce qui est observé dans le mélanome de Dubreuilh qui survient en fin de vie sur les zones exposées au soleil en permanence.

L'exposition à la lumière UV artificielle peut être impliquée dans le développement du mélanome. En fait, la quantité d'UVA produite lors d'une séance de bronzage typique est nettement plus élevée que lors d'une activité extérieure normale [11]. L'augmentation du risque est plus importante en cas de première utilisation avant 35 ans et d'usage intensif. En raison de ce phénomène, certains pays ont commencé à adopter des lois visant à réguler l'accès aux cabines de bronzage et à en interdire l'usage aux mineurs.

De plus, la PUVAthérapie avec irradiation UV-A au psoralène pour le traitement du psoriasis est également associée à un risque accru de mélanomes [12].

Concernant les facteurs génétiques, environ 10% des mélanomes surviennent dans un contexte familial [13], défini comme la survenue d'au moins deux mélanomes sur trois générations.

Tsao et collaborateurs ont étudié des familles atteintes de mélanomes héréditaires démontrant la présence d'un schéma clair d'hérédité autosomique dominante avec plusieurs membres de la famille touchés au-delà de la première génération. Les mutations de l'inhibiteur de la kinase cycline-dépendante 2A (CDKN2A ou p16) représentaient les anomalies génétiques les plus courantes trouvées dans ces familles, tandis que la mutation de la kinase cycline-dépendante 4 (CDK4) constituait un événement plus rare [14].

Parmi les autres gènes importants, se trouvent :

- **MC1R** qui code le récepteur de la MSH dont les mutations sont associées au phénotype roux, et qui module la pénétrance de CDKN2A [15],
- **MITF** (Microphthalmia-associated transcription factor) qui régule la différenciation mélanocytaire dont les mutations sont également observées chez des patients présentant une association de mélanome et de carcinome rénal [15],
- **BAP 1**, gène suppresseur de tumeur dont les mutations prédisposent à des cancers héréditaires : mélanomes cutanés ou uvéaux, mésothéliome, carcinome à cellules rénales [15].

Les patients ayant une prédisposition génétique sous-jacente à développer un mélanome sont en général plus jeunes (<40 ans), présentent plusieurs mélanomes primitifs ou des antécédents de lésions précurseurs de mélanomes tels que des nævi dysplasiques. Ils ont en outre un meilleur pronostic [16,17].

De plus, les patients atteints de syndromes cancéreux familiaux (à titre d'exemple : le rétinoblastome familial, le syndrome de Li-Fraumeni et le syndrome de Lynch de type II) présentent un risque plus élevé de développer un mélanome [18].

Parmi les autres facteurs de risque, il faut citer le syndrome des nævi atypiques. En effet, environ 25% des cas de mélanome surviennent en conjonction avec un nævus préexistant [19]. De plus, le nombre total de nævi est positivement corrélé au risque de mélanome et il varie en fonction du nombre, de la taille et du type de nævus [20–22].

Les résultats d'une méta-analyse récente ont souligné que les patients avec plus de 100 nævi ont un risque 7 fois plus élevé de mélanomes [23].

En ce qui concerne la taille, les nævi plus grands (> 5 mm) et géants (> 20 cm) sont associés à un risque significativement plus élevé de mélanomes [24].

Enfin, certaines caractéristiques phénotypiques tels que les cheveux roux, la peau claire, de nombreuses taches de rousseur, les yeux clairs, la sensibilité au soleil et l'incapacité à bronzer, augmentent le risque de développer un mélanome d'environ 50 % [25].

## **1.4 Diagnostic**

Le diagnostic précoce du mélanome représente le facteur clé de la baisse de la mortalité. Le pronostic est directement proportionnel à la profondeur du néoplasme (indice de Breslow), qui augmente avec le temps.

Le mélanome, par rapport aux autres cancers, présente l'avantage de la localisation cutanée qui permet sa détection précoce par des approches non invasives. Néanmoins, l'examen anatomopathologique reste le gold standard pour le diagnostic [26].

Avant les années 1980, les mélanomes étaient souvent reconnus en identifiant des caractéristiques cliniquement macroscopiques. Ils étaient fréquemment détectés à un stade avancé lorsqu'ils apparaissaient volumineux et ulcérés [27]. Leurs pronostics étaient en conséquence moins bons et le risque de métastases plus important.



Il en résulte que la reconnaissance précoce du mélanome devient une importante priorité de santé publique [28]. Or, plus tôt on souhaite faire le diagnostic, moins celui-ci est évident et il faut alors écarter les autres tumeurs noires : avant tout les nævi atypiques, mais également les kératoses séborrhéiques, plus rarement les carcinomes basocellulaires tatoués, les fibromes pigmentés et les angiomes thrombosés.

Les critères de malignité sont fréquemment formulés en A (asymétrie), B (bords irréguliers), C (couleur inhomogène) auxquels on ajoute souvent « D » pour diamètre supérieur à 6 mm et « E » pour évolutivité. [29,30]. En adoptant les critères ABCDE, la sensibilité de l'auto-examen de la peau varie de 57 % à 90 % [31].

Cependant, le nombre de nævi et de kératoses séborrhéiques qui répondent aussi à ces critères ABCDE est considérablement plus élevé que celui des mélanomes et certains mélanomes n'y répondent même pas (notamment certains mélanomes nodulaires ou achromiques). Le dermatologue expérimenté utilise plutôt un processus de reconnaissance globale de type cognitif qui prend en compte une multitude d'éléments notamment une série d'images mémorisées par les lectures et l'expérience.

# ABCDE rule for the early detection of melanoma

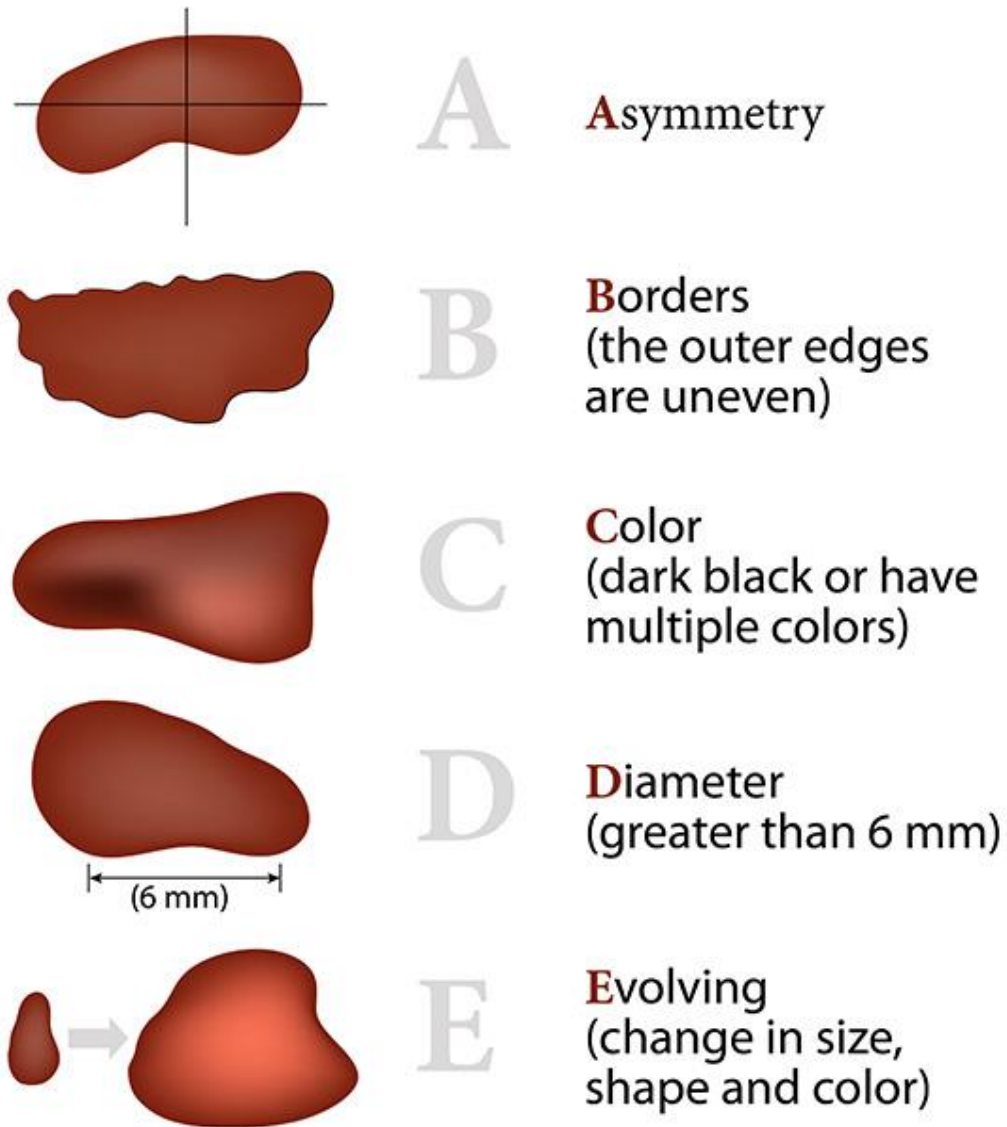


Figure 2: Critères ABCDE (schéma issu du site du SNDV)

En ce sens, la prise en compte de tous les nævi d'un sujet est utile. Chaque sujet a un profil général de ses nævi qui lui est propre. Une lésion atypique est d'autant plus suspecte qu'elle est différente des autres nævi d'un sujet étudié et d'autant moins qu'elle partage leur allure générale. Il s'agit d'une règle communément appelée « règle du vilain petit canard » [32]. Ce concept peut également s'appliquer à la dermoscopie.

La dermoscopie (connue aussi sous le nom de microscopie par épiluminescence, ou microscopie de surface) est une méthode simple, facile à l'emploi pour le diagnostic précoce du mélanome et le diagnostic différentiel des lésions pigmentées [33]. Cette approche rend les premiers signes de la maladie visibles dans les lésions pigmentées bien avant les changements cliniques macroscopiques.

Les caractéristiques dermoscopiques devant faire évoquer le diagnostic de mélanome et réaliser une exérèse de la lésion sont les suivantes :

- **Réseau pigmentaire atypique** : l'une des caractéristiques des lésions mélanocytaires est le patron réticulaire, qui se caractérise par un réseau pigmenté brun clair à brun foncé avec de petits trous symétriques et de fines lignes de réseau couvrant la majeure partie de la lésion. De petits changements dans ce réseau pigmenté peuvent être appréciés dans les mélanomes précoces et lorsqu'un réseau atypique est présent. Alors, la probabilité de mélanome est augmentée. Le patron réticulaire pigmenté atypique est caractérisé par un réseau noir, brun ou gris avec des trous irréguliers et des lignes épaisses

irrégulièrement réparties dans toute la lésion, se terminant généralement brusquement à la périphérie [34].

- **Points/globules irréguliers** : dans les lésions pigmentées, il existe une présence possible de points agrégés et de globules. Dans les lésions mélanocytaires bénignes, les points et les globules sont de taille et de forme régulières et sont uniformément répartis, tandis que dans les lésions malignes, des points et des globules irréguliers (pour la forme, la taille et la distribution au sein de la lésion) sont observés [34].
- **Les pseudopodes et stries radiaires périphériques** : ils correspondent cliniquement à l'extension du pigment de façon centrifuge, en périphérie d'une lésion mélanocytaire en phase de croissance. Histologiquement, ils représentent la confluence des thèques de mélanocytes pigmentés jonctionnels à la périphérie de la lésion.

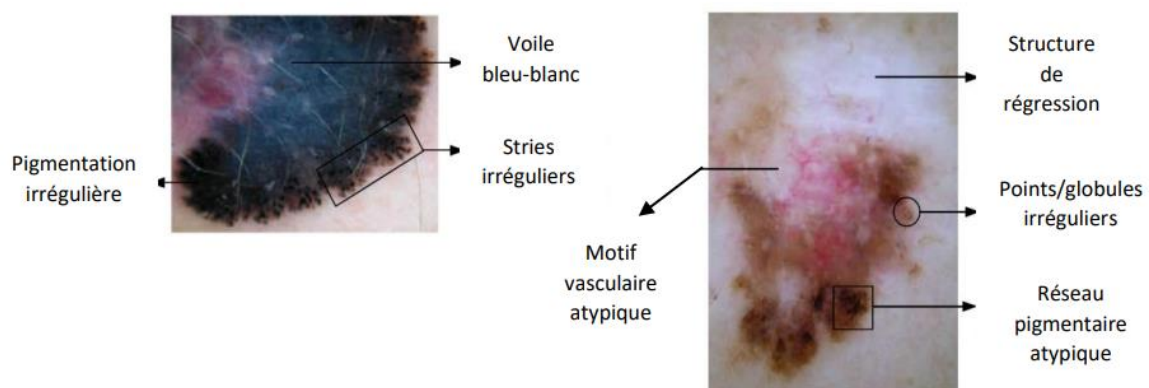
Les pseudopodes ont une extrémité renflée d'aspect digitiforme ou en forme de raquette de tennis. Ils sont en connexion avec le réseau pigmenté,

Les stries radiaires périphériques sont des extensions linéaires et parallèles.

La répartition asymétrique et irrégulière des pseudopodes et des stries radiaires périphériques est fortement évocatrice d'un mélanome en phase de croissance horizontale [34].

- **Pigmentation irrégulière** : il est possible d'observer des zones pigmentées noires, brunes et grises de forme et/ou de répartition irrégulières dans les cas de mélanomes [34].

- **Les zones de régression** : elles se manifestent sur le plan histologique par la présence d'une fibrose dermique, d'une perte de la pigmentation, d'un amincissement de l'épiderme, souvent associés à la présence de mélanine dans le derme libre ou dans les mélanophages du derme. Les zones de régression apparaissent dermoscopiquement, soit sous la forme d'une zone cicatricielle dépigmentée (régression blanche), soit par un aspect « poivré » avec présence de granules bleus-gris au sein d'une zone hypopigmentée (régression bleue) [34].
- **Le voile blanc – bleu** : il correspond à une pigmentation bleue irrégulière, confluyente avec un aspect opaque en superficie en rapport avec l'agrégation de mélanocytes atypiques, de mélanophages ou de mélanine dans le derme [34].
- **L'architecture vasculaire atypique** : les lésions pigmentées peuvent avoir une architecture vasculaire visible à l'examen dermoscopique. Les architectures vasculaires atypiques correspondent à des vaisseaux linéaires, en pointillés ou globulaires, répartis de façon irrégulière, dans la lésion. Une partie de l'architecture vasculaire peut être due à une néovascularisation [34].



*Figure 3: Illustration dermoscopique d'un mélanome [35]*

Parmi les autres éléments pouvant apporter une aide au diagnostic du mélanome, on retiendra l'apport potentiel de la microscopie confocale. La microscopie confocale par réflectance utilise un laser de 830 nm comme source, ce qui offre une bonne pénétration et une bonne résolution. Elle permet une vision horizontale des structures cutanées jusqu'à la jonction dermo-épidermique [34,36].

## 1.5 Histogénèse et classification anatomoclinique

L'examen anatomopathologique permet d'infirmer ou de confirmer le diagnostic clinique. Il apporte les deux critères prédictifs de la durée de survie des patients :

- L'indice de Breslow (correspondant à l'épaisseur de la lésion, c'est-à-dire l'épaisseur entre la partie supérieure de la granuleuse épidermique et la cellule tumorale la plus profonde),
- L'ulcération.

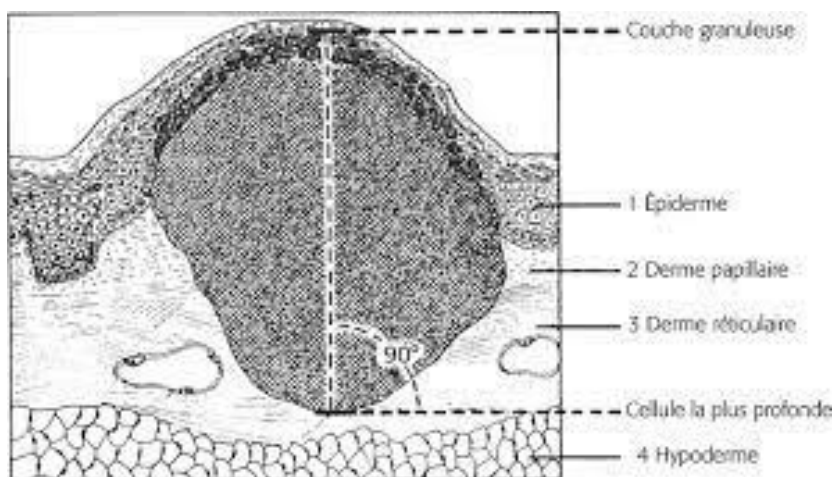


Figure 4: Indice de Breslow (schéma issu du CEDEF)

Toutes les lésions suspectes de mélanomes doivent être excisées en vue d'un examen histopathologique. L'exérèse doit être chirurgicale et complète, emportant la tumeur dans son entier. Une biopsie partielle (biopsie-exérèse) d'une lésion pigmentée suspecte n'est pas indiquée sauf en cas de lésion de grande taille dont l'exérèse totale sans justification carcinologique serait délabrante.

L'histogénèse des mélanomes se déroule sur un mode biphasique. Dans une première phase, l'extension est « horizontale » intraépidermique puis dans une seconde phase, l'extension est « verticale » avec envahissement du derme superficiel (phase microinvasive), puis du derme profond et de l'hypoderme (phase invasive).

La classification anatomoclinique très utilisée tente de résumer l'infinité des profils évolutifs des mélanomes à cinq grandes variétés [37] :

- Le mélanome nodulaire ou NM (*Nodular Melanoma*)
- Le mélanome superficiel extensif ou SSM (*Superficial Spreading Melanoma*)
- Le mélanome acral lentigineux ou ALM (*Acral lentiginous Melanoma*)
- Le lentigo malin de Dubreuilh ou LM (*Lentigo Melanoma*)
- Le mélanome des muqueuses ou MLM (*Mucosal Lentiginous Melanoma*)

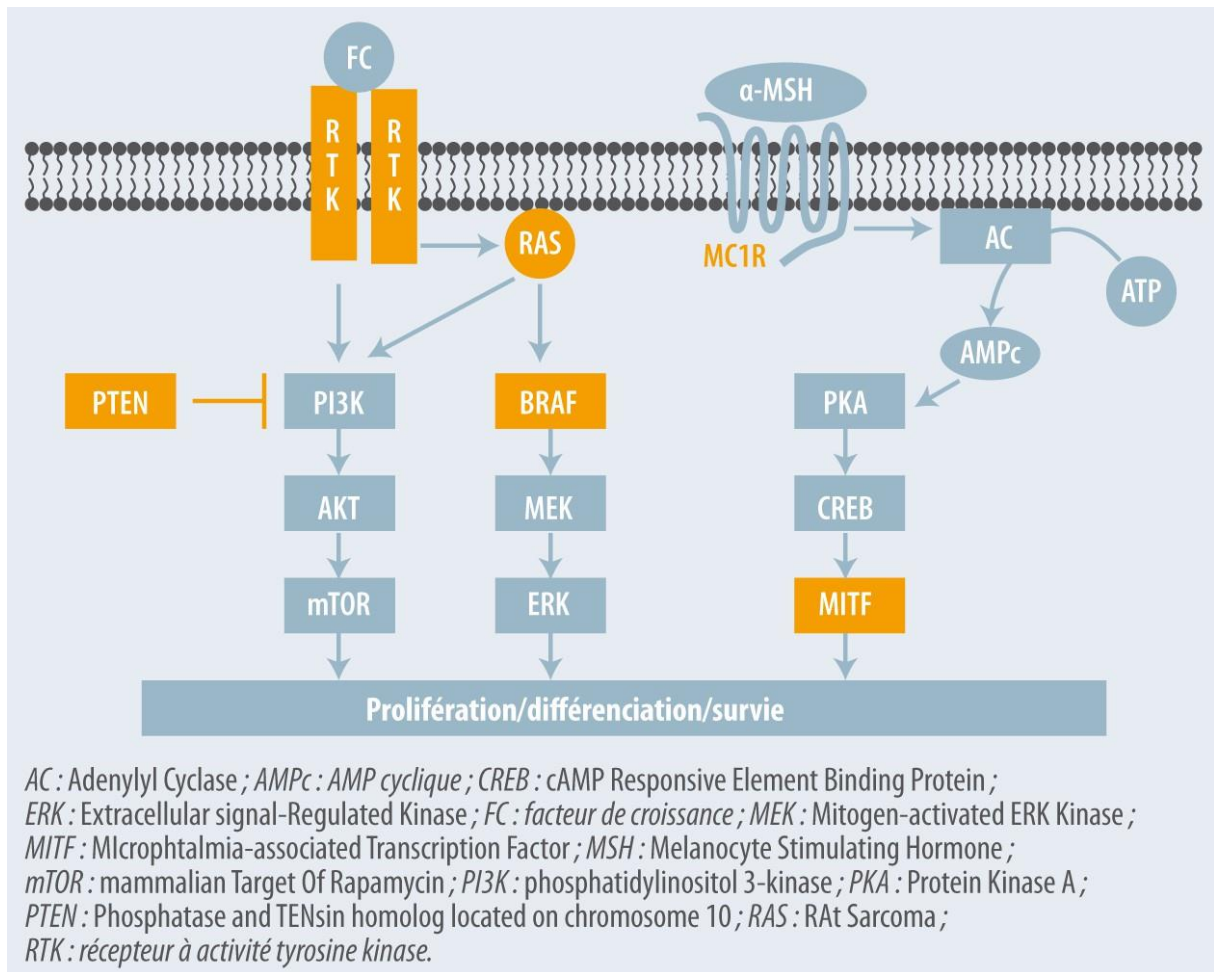
Mélanome	Lentigineux			Superficiel extensif (SSM)	Nodulaire (NM)
	Lentigo malin de Dubreuilh (LM)	Acral lentigineux (ALM)	Mélanome des muqueuses (MLM)		
Fréquence (%)	5 à 10	2 à 10	1	60 à 70	10 à 20 (voire beaucoup moins si l'on applique des critères histologiques stricts : absence de thèques jonctionnelles)
Contingent épidermique témoin de la phase horizontale	Lentigineux	Lentigineux	Lentigineux	Pagétoïde, visible latéralement par rapport au contingent invasif	Absent (ce qui le rend parfois difficile à distinguer d'une métastase)
Contingent invasif témoin de la phase verticale	Rarement présent car très tardif	Inconstamment présent car assez tardif	Fréquent car diagnostic souvent tardif	Le plus souvent présent car assez précoce	Toujours présent car très précoce
Terrain et siège	Sujet âgé, visage, décolleté	Paumes, plantes, doigts, orteils	Bouche, gland, vulve		
Aspect	Macule puis nappe pigmentée puis très tardivement tumeur	Macule, tumeur tardive	Macule pigmentée puis tumeur ulcérobourgeonnante souvent partiellement achromique	Macule pigmentée puis tumeur	Tumeur d'emblée et souvent de croissance rapide

**Tableau 1: Classification anatomoclinique des mélanomes [37]**

## 2 Biologie moléculaire des mélanomes

Au cours des dernières années, de nombreuses altérations génétiques ont été décrites dans le mélanome, conduisant à l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques potentielles. Au moins trois voies de signalisation sont impliquées dans la tumorigenèse : les voies MAPK (mitogen-activated protein kinase), PI3K (phosphatidylinositol-3-kinase) et cAMP (cyclic AMP).





**Figure 5: les trois voies de signalisation majeures impliquées dans le développement des mélanomes.** La voie PI3K (gauche), la voie MAPK (centre) et la voie de l'AMPc (droite). Les protéines indiquées en orange sont codées par des gènes fréquemment mutés ou amplifiés dans les mélanomes cutanés. [38]

## 2.1 La voie MAPK

La voie des MAP kinases correspond à une cascade essentielle de signaux de transduction contrôlant la survie, la croissance, la différenciation cellulaire, mais aussi la transformation tumorale [39].

L'activation de la voie des MAP kinases est médiée par des récepteurs à activité tyrosine kinase (RTK). Il s'agit de protéines transmembranaires formées d'un domaine amino-terminal qui lie le ligand extracellulaire et d'un domaine carboxy-terminal qui présente quant à lui une activité tyrosine kinase [40].

En conditions physiologiques, la liaison du ligand à son récepteur induit l'activation de celui-ci, se traduisant ainsi par l'autophosphorylation de résidus tyrosines dans le domaine intracellulaire. Ces tyrosines phosphorylées vont ensuite servir de sites de liaison pour d'autres protéines entraînant ainsi une réaction en cascade [40].

En situation pathologique comme dans le mélanome, la voie des MAP kinases est fréquemment activée de façon constitutive en raison de l'acquisition d'une mutation dans l'une des protéines de la voie MAPK [40].

### **2.1.1 Mutations BRAF**

Les protéines RAF sont des sérine/thréonine kinases qui jouent un rôle central dans la voie MAPK. La famille des kinases RAF est composée de 3 membres : ARAF, BRAF et CRAF (également appelé Raf-1), qui présentent une architecture commune et qui sont soumis à une régulation complexe.

Les protéines RAF sont recrutées à la membrane plasmique par liaison directe aux protéines RAS actives. Les protéines RAF phosphorylent et activent une autre protéine

kinase appelée MEK, qui à son tour active une troisième protéine kinase appelée ERK. Cette dernière, quant à elle, phosphoryle de nombreuses cibles, notamment des facteurs de transcription, régulant ainsi l'expression de plusieurs gènes.

Les mutations BRAF représentent un événement fréquent dans l'oncogenèse du mélanome. Elles sont retrouvées dans environ 50% des cas [41]. La mutation la plus courante (75 % des cas) est V600E, lorsque la valine est remplacée par l'acide glutamique en position 600 [42]. Cette mutation entraînant une activation de la voie MAPK de façon constitutive concerne le plus souvent des sujets jeunes et porteurs de mélanomes de type SSM développés en zones non chroniquement photo-exposées comme le tronc.

### **2.1.2 Mutations NRAS**

Les protéines RAS sont des petites GTPase qui forment le lien essentiel entre le récepteur à activité tyrosine kinase et l'activation de la voie MAP kinase. La protéine RAS agit comme un interrupteur moléculaire : elle est "on" lorsqu'elle est liée au GTP (guanine triphosphate) et "off" quand elle est liée au GDP (guanine diphosphate). Après activation d'un RTK, le complexe protéique Shc/Grb2/SOS s'y fixe et stimule le remplacement du GDP par le GTP sur RAS, l'activant de cette façon.

Les mutations NRAS apparaissent dans environ 20 % des mélanomes et sont également réparties entre les mélanomes cutanés, acraux et muqueux [43,44].

80% de ces mutations sont des mutations ponctuelles en position 61 qui entraînent une substitution glutamine-leucine. Les mutations aux positions 12 et 13 sont également répandues mais moins que la mutation à la position 61. Cela conduit à une activité GTPase défectueuse, à une accumulation de RAS-GTP et à une insensibilité à la régulation physiologique par les facteurs d'échange nucléotidiques et les protéines activatrices de la GTPase [41].

Les mélanomes qui présentent des mutations NRAS sont généralement plus agressifs et présentent un plus mauvais pronostic. Cela pourrait être lié au fait que les mélanomes avec des mutations NRAS sont davantage susceptibles d'avoir une initiation précoce de la phase de croissance verticale [41].

Les patients atteints de cette variété de mélanomes sont généralement plus âgés (> 55 ans) et ont des antécédents d'exposition chronique aux UV. Histologiquement, les lésions ont tendance à être plus épaisses et ont une activité mitotique élevée. De plus, il existe des taux plus importants de métastases ganglionnaires qui peuvent être liés à une motilité cellulaire accrue et à des taux plus élevés de transition épithélio-mésenchymateuse dans les cellules tumorales mutées NRAS.

### 2.1.3 Mutations NF1

NF1 est un gène suppresseur de tumeur et il s'est avéré potentiellement non fonctionnel dans de multiples tumeurs malignes humaines, notamment les cancers du poumon, les neuroblastomes et les glioblastomes [45–47].

NF1 code pour la protéine neurofibromine, qui régule négativement RAS par hydrolyse du GTP lié à RAS en GDP. L'inactivation fonctionnelle de NF1 contribue à l'activation de RAS et de ses voies de signalisation en aval, y compris les voies MAPK, PI3K/AKT et mTOR [48,49].

Les mélanomes survenant sur une peau fortement endommagée par le soleil ou les mélanomes desmoplastiques présentent un taux significativement plus élevé de mutations de NF1 [50,51]. De plus les mutations NF1 sont plus fréquentes dans les mélanomes acraux et muqueux [52,53].

Des études récentes ont souligné que les mutations NF1 pourraient être associées à une résistance aux inhibiteurs de BRAF et de MEK [54,55]. De plus, les mélanomes mutés NF1 sont classiquement des tumeurs à forte charge mutationnelle qui répondent plutôt bien à l'immunothérapie [56,57]. Ces découvertes suggèrent que le statut mutationnel de NF1 pourrait être important pour la prise de décision thérapeutique.

#### **2.1.4 Mutations MAP2K1/MAP2K2**

MAP2K1 et MAP2K2 codent pour les protéines kinases MEK1 et MEK2. Ces protéines déterminent l'activation de ERK1 et ERK2 et la transduction ultérieure du signal dans la cascade MAPK/ERK. Les mutations MAP2K1/MAP2K2 ont été associées à une résistance aux inhibiteurs de RAF et de la MEK [50,58].

#### **2.1.5 Mutations Kit**

Le gène Kit code pour le récepteur c-Kit qui correspond au récepteur du SCF (Stem Cell Factor). Ce récepteur joue un rôle majeur dans le développement de multiples lignées cellulaires, dont les mélanocytes.

Effectivement, la liaison du SCF au c-KIT induit l'activation du récepteur et l'autophosphorylation de résidus tyrosines spécifiques dans la partie intracellulaire du récepteur. Ces acides aminés phosphorylés sont des sites d'ancrage pour diverses protéines, qui secondairement dirigent plusieurs voies de signalisation intracellulaires, notamment les voies MAPK et PI3K.

Les modifications du gène KIT (mutations, variations du nombre de copies) sont mutuellement exclusives aux mutations BRAF, NRAS et NF1. Les exons les plus impliqués sont l'exon 11 et l'exon 13. Les mutations L576P et K642E ont une réponse positive aux inhibiteurs de KIT, mais il s'agit d'une réponse temporaire [59–62].

Ces mutations activatrices de c-Kit sont très rares (<3% des mélanomes [63]) en dehors des populations asiatiques, et sont plutôt associées aux mélanomes muqueux.

## 2.2 La voie PI3K

PI3K est à la fois un effecteur de RAS et un effecteur direct des RTK. Une fois activée, la PI3K convertit le PIP2 (phosphatidylinositol 4,5 phosphate) en PIP3 (phosphatidylinositol 3,4,5 phosphate), qui fixe les protéines ayant un domaine PH (Pleckstrin Homology), régulant ainsi leur localisation et leur activité [64].

Les protéines AKT (AKT1, AKT2 et AKT3), contiennent un domaine PH et sont les effecteurs les plus connus de la voie PI3K. Les protéines AKT ont de nombreuses cibles, et notamment plusieurs protéines associées à l'apoptose, comme la caspase 9 et BAD [65]. Lorsqu'elle est active, la voie PI3K/AKT protège les cellules de l'apoptose. Par conséquent, il n'est pas surprenant que de nombreux types de cancers, y compris le mélanome, présentent une activation constitutive de cette voie de signalisation.

PTEN est un gène suppresseur de tumeur ayant une action inhibitrice de cette voie PI3K/AKT. Des délétions partielles ou totales de PTEN ont été décrites dans 30 à 50 % des mélanomes, et des mutations ponctuelles dans 10 % d'entre eux [66,67].

De plus, l'activation constitutive de la protéine AKT3, serait présente dans plus de 60% des mélanomes [68], soulignant l'importance de l'activation de la voie PI3K dans le développement de ces tumeurs.

La perte de PTEN est plus souvent retrouvée dans le mélanome muté BRAF que dans le mélanome muté NRAS [69], une découverte compatible avec l'activation de la voie PI3K/AKT par NRAS mais pas par les mutations BRAF.

L'inactivation de PTEN est également liée à une plus grande résistance aux inhibiteurs de BRAF et à l'immunothérapie [70,71].

### **2.3 La voie de l'AMPc et MITF**

La voie de l'AMPc est stimulée par des hormones mélanotropes produites par les kératinocytes comme l' $\alpha$ -MSH (alpha-Melanocyte Stimulating Hormone), qui vient se lier au récepteur MC1R (Melanocortin 1 Receptor) stimulant ainsi la production d'AMPc.

L'AMPc active la protéine kinase A (PKA), qui phosphoryle et active à son tour le facteur de transcription CREB (cAMP Responsive Element Binding Protein), lequel accroît l'expression de la protéine MITF [72]. La protéine MITF est un facteur de



transcription situé au cœur de nombreuses voies de signalisation contrôlant la différenciation, la morphologie, la prolifération et la survie des mélanocytes [73].

L'expression ectopique de MITF par interaction avec la protéine mutante BRAFV600E pourrait transformer les mélanocytes humains, démontrant que MITF est susceptible d'agir comme un oncogène dans le mélanome [74]. Ce gène MITF serait amplifié dans 20% des mélanomes environ [74].

## **2.4 La voie P16/CDK4**

La protéine p16 (CDKN2A) joue un rôle dans la régulation du cycle cellulaire grâce à son interaction avec la kinase CDK4. En effet, alors que la protéine kinase CDK4 s'associe à la cycline D1 pour stimuler la progression du cycle cellulaire, la protéine p16, en se liant à CDK4, vient inhiber le cycle cellulaire. Les mutations germinales du gène p16 prédisposent au développement du mélanome. Des mutations ou délétions somatiques de p16 sont également rapportées [69].

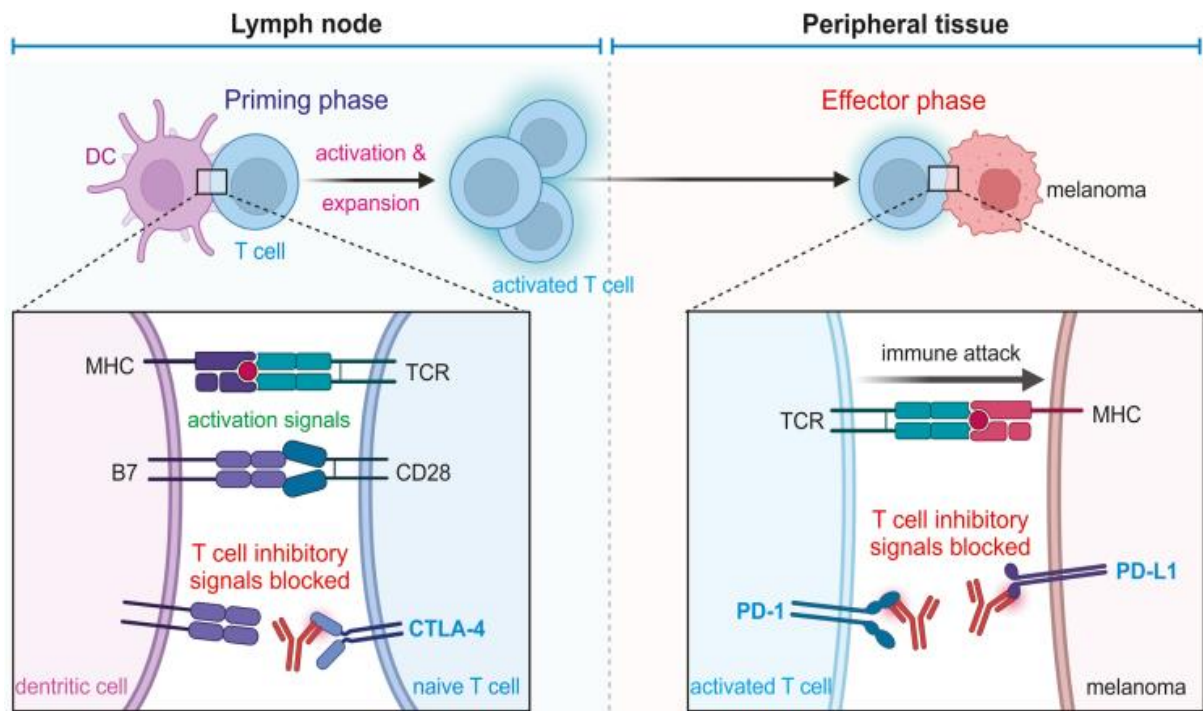
Pour terminer, l'amplification des gènes codant pour la cycline D1 ou CDK4 a été observée dans un sous-ensemble de mélanomes [75].

### **3 Prise en charge thérapeutique du mélanome métastatique**

La prise en charge du mélanome métastatique a profondément évolué depuis l'apparition des thérapies ciblant la voie des MAP-kinases et des immunothérapies inhibitrices de checkpoints ciblant CTLA4 et PD1. Cependant, le « traitement de référence » du mélanome métastatique en première ligne reste l'inclusion dans un essai contrôlé multicentrique à chaque fois que cela est possible.

#### **3.1 Immunothérapies**

Les stratégies actuelles dans le mélanome font appel aux inhibiteurs de checkpoints. Il s'agit d'anticorps monoclonaux qui viennent lever des systèmes de rétrocontrôle négatifs au niveau de la synapse immune dans le but d'activer l'immunité cellulaire antitumorale. C'est actuellement le seul traitement permettant l'obtention d'une rémission clinique prolongée dans le mélanome au stade métastatique [41].



*Figure 6: Modes d'action des immunothérapies inhibitrices de checkpoints dans le mélanome [41].*

Le risque commun aux différentes immunothérapies est de déclencher des effets secondaires auto-immuns. Ces effets indésirables auto-immuns sont extrêmement variés, et peuvent parfois contre-indiquer la poursuite du traitement, comme en cas de pneumopathie interstitielle ou de colite sévère par exemple [76–80].

L'efficacité de ces molécules, à la différence des thérapies ciblées, n'est pas conditionnée par la présence d'une mutation. Ainsi, l'ensemble des patients au stade métastatique est potentiellement éligible à recevoir une immunothérapie [76–80].

### **3.1.1 L'ipilimumab (anti-CTLA4)**

L'ipilimumab correspond à un anticorps dirigé contre le récepteur CTLA-4.

Pour que la réponse immunitaire cellulaire soit efficace, il est indispensable d'avoir deux signaux d'activation entre la cellule lymphocytaire T (récepteur TCR et CD28) et la cellule présentatrice d'antigène (CMH et complexe B7, respectivement). Pour réguler la réponse immunitaire, il existe un mécanisme d'inhibition dans lequel le récepteur CTLA-4 se lie au complexe B7 à la place du récepteur CD28.

Le principe de ce type d'immunothérapie est de bloquer la liaison de CTLA-4 au récepteur B7, supprimant ainsi ce phénomène de tolérance immunitaire des cellules tumorales. De ce fait, l'effet antitumoral des lymphocytes T est maintenu.

Bien que l'ipilimumab fut le premier inhibiteur de checkpoint à avoir été évalué en monothérapie dans les mélanomes métastatiques, son utilisation est désormais systématiquement associée à un anti-PD1 (cf. 3.1.3) [81,82].

### **3.1.2 Les anti-PD1 (nivolumab et pembrolizumab)**

PD1 est une protéine de surface à expression lymphocytaire T. Son ligand principal PD-L1, est quant à lui exprimé à la surface des cellules tumorales ainsi que sur certaines cellules immunitaires.

La liaison de PD-L1 avec PD-1 entraîne l'inactivation des lymphocytes T au sein des tissus périphériques, y compris sur les métastases de mélanome. Les inhibiteurs de PD-1 sont des molécules qui bloquent la liaison entre le récepteur PD1 et son ligand. Ce blocage permet de réactiver les lymphocytes T « endormis » avec pour objectif la restauration d'une réponse immune antitumorale.

Les posologies et les rythmes d'administration par voie intraveineuse sont propres à chaque molécule. Contrairement aux anti-CTLA4, les réponses sont plus rapides et à un taux plus élevé.

Robert et collaborateurs ont évalué dans les mélanomes métastatiques en 1ère ligne un taux de réponse objective du pembrolizumab toutes les 3 semaines à 32,9% versus 11,9% pour l'ipilimumab. Les estimations de survie à un an étaient 68,4 % pour les patients recevant du pembrolizumab toutes les 3 semaines (HR: 0,69 ; IC à 95 %, 0,52 à 0,90 ; p = 0,0036), et 58,2 % pour ceux recevant l'ipilimumab.[83].

### **3.1.3 Les associations anti-PD1 + anti-CTLA4**

Il s'agit à l'heure actuelle d'une des meilleures options de traitement dans le mélanome métastatique.

L'étude publiée par Postow et collaborateurs en 2015 retrouvait un taux de réponse objective du bras ipilimumab plus nivolumab à 61% versus 11% pour le groupe ipilimumab seul [84].

Dans la population atteinte de tumeurs BRAF sauvage, la médiane de survie sans progression n'a pas été atteinte avec l'association et était de 4,4 mois (IC à 95 %, 2,8 à 5,7) avec l'ipilimumab en monothérapie. Parmi les patients atteints de tumeurs porteuses de la mutation BRAF, la médiane de survie sans progression était de 8,5 mois (IC à 95 %, 2,8 à non estimable) dans le groupe d'association et de 2,7 mois (IC à 95 %, 1,0 à 5,4) dans le groupe ipilimumab en monothérapie. [84].

Il est toutefois important de noter que les effets indésirables de la combinaison ipilimumab plus nivolumab étaient bien supérieurs (54% de grade III-IV versus 24%) en comparaison au bras ipilimumab seul [84]. L'utilisation de cette combinaison reste en conséquence réservée aux patients ne présentant pas de comorbidités sévères.

Enfin, concernant les résultats à 6,5 ans de l'étude CheckMate 067, les taux de survie globale étaient de 57 % dans le groupe nivolumab + ipilimumab, 43 % dans le groupe nivolumab seul et 25 % dans le groupe ipilimumab seul chez les patients atteints de tumeurs mutantes BRAF et de 46 %, 42 % et 22 % respectivement, chez ceux atteints de tumeurs BRAF de type sauvage [82].

### 3.1.4 Les anti-LAG-3

Le LBL007 est un nouvel inhibiteur de checkpoint visant le gène d'activation des lymphocytes 3 (LAG-3).

L'association des anti-LAG3 aux anti-PD1 semble agir de façon synergique et a déjà bénéficié d'une évaluation dans le mélanome. Ainsi, l'association du LBL007 au toripalimab (anti PD-I, autorisé en Chine dans le mélanome) a été évaluée chez 37 patients atteints d'un mélanome non résecable ou métastatique [85].

La tolérance est bonne. Aucune toxicité limitant la posologie n'est apparue et la dose maximale tolérée n'a pas été atteinte dans cette étude. Les événements indésirables les plus fréquents étaient l'anémie, l'élévation des CPK et des enzymes hépatiques, ainsi que l'hypothyroïdie. Le taux de réponse objective était de 12,5%, celui de contrôle de la maladie de 53 %.

Chez les patients naïfs de traitement anti-PD1, le taux de contrôle de la maladie était de 82 % pour les mélanomes acraux et 50% dans les mélanomes muqueux. Il était de 18 % chez les patients résistants à l'anti-PD1.

En résumé, l'association LBL007 et toripalimab est bien tolérée et semble prometteuse dans les mélanomes non résecables ou métastatiques, en particulier dans ceux de type acral n'ayant pas reçu de traitement préalable par anti-PD1.

Un autre inhibiteur de LAG3, le relatlimab, avait fait ses preuves dans le mélanome avancé en association au nivolumab. En effet, il permettait de doubler la survie sans progression par rapport au nivolumab seul, avec un profil de sécurité acceptable [86].

La survie médiane sans progression était de 10,1 mois (IC à 95 %, 6,4 à 15,7) avec le relatlimab-nivolumab contre 4,6 mois (IC à 95 %, 3,4 à 5,6) avec le nivolumab (HR: 0,75 [IC à 95 %, 0,62 à 0,92] ; p = 0,006 selon le test du log-rank)

Les nouvelles données de l'essai RELATIVITY-047 montrent un taux de réponse globale de 43 % avec cette association versus 33% pour le nivolumab seul [87]. En faveur de l'association, la médiane de survie globale n'a cependant pas encore été atteinte.

### **3.2 Thérapies ciblées**

Ces molécules sont spécifiques des anomalies moléculaires affectant la voie des MAP-kinases. Les thérapies ciblées sont administrées par voie orale à la différence de l'immunothérapie. Elles ont d'abord été utilisées séparément puis en combinaison dans l'objectif de limiter les phénomènes d'échappement et d'en améliorer le profil de tolérance [41].



### **3.2.1 BRAF inhibiteurs (encorafenib, dabrafenib, vemurafenib)**

Ces traitements ne s'adressent classiquement qu'aux patients porteurs d'une mutation BRAF, soit environ 50% des patients. De plus, les résultats sont meilleurs en cas de mutation V600E qui est la plus fréquente [88–93].

Les effets indésirables comprennent entre autres : arthralgies, asthénie, nausées, vomissements, éruptions cutanées et sont globalement identiques en dehors de la photosensibilité qui est plus fréquente sous vemurafenib et de la fièvre plus fréquente sous dabrafénib.

Une autre problématique est celle de la possible émergence de carcinomes épidermoïdes sous traitement, faisant suite à l'activation paradoxale de la voie des MAP-kinases dans les kératinocytes. Cela peut concerner jusqu'à 10 à 20% des patients, raison pour laquelle les BRAF inhibiteurs sont systématiquement associés à un inhibiteur de MEK permettant de supprimer ce potentiel risque. De plus, les études les plus récentes combinent systématiquement les deux traitements (cf. 3.2.3).

Les mécanismes de résistance aux thérapies ciblées et plus spécifiquement aux inhibiteurs de BRAF sont complexes et incluent l'émergence de nouvelles anomalies moléculaires et notamment l'acquisition sous traitement de mutations NRAS.

### **3.2.2 MEK inhibiteurs (binimetinib, trametinib, cobimetinib)**

A la différence des BRAF inhibiteurs, ils sont parfois utilisés seuls en cas de mélanome non muté BRAF mais présentant une mutation NRAS avec une efficacité relative cependant [88–93].

#### **Les effets secondaires comprennent :**

- La survenue d'éruptions acnéiformes, imposant le plus souvent la prescription d'une prophylaxie par doxycycline,
- Des œdèmes périphériques,
- La survenue d'occlusion veineuse centrale de la rétine (OVCR). Il s'agit ici d'un effet indésirable particulièrement sévère et imposant une surveillance étroite en cours de traitement dans la mesure, où en l'absence de prise en charge précoce, celle-ci peut entraîner une cécité définitive. Une consultation auprès d'un ophtalmologue est souvent proposée avant d'introduire un traitement par MEK inhibiteur.
- Une toxicité cardiaque (par baisse de la FEVG), imposant une surveillance échocardiographique à minima trimestrielle pour les patients bénéficiant d'un traitement par anti MEK. Ce traitement est contre-indiqué chez les patients présentant une insuffisance cardiaque non contrôlée au préalable.

### 3.2.3 Associations BRAF inhibiteurs + MEK inhibiteurs

On utilise désormais avant tout les associations BRAF-inhibiteurs + MEK-inhibiteurs, car elles permettent de limiter les phénomènes d'échappement liés à l'apparition de nouvelles mutations sur la voie des MAP-kinases, et de réduire également l'apparition de certains effets secondaires comme l'induction de carcinomes.

Le taux de réponse pour l'association vémurafenib et cobimétinib équivaut à 68% pour une survie sans progression médiane de 9,9 mois [94]. Celui de l'association dabrafénib et tramétinib est de 64% pour une survie sans progression médiane de 11,4 mois [95].

Par ailleurs, dans une étude évaluant le bénéfice à quatre et cinq ans de l'association dabrafénib et tramétinib, l'équipe du Professeur Robert a montré que sur 563 patients, les taux de survie sans progression étaient de 21 % (IC à 95 %, 17 à 24) à 4 ans et de 19 % (IC à 95 %, 15 à 22) à 5 ans. Les taux de survie globale étaient de 37 % (IC à 95 %, 33 à 42) à 4 ans et de 34 % (IC à 95 %, 30 à 38) à 5 ans [96].

Pour conclure, les bithérapies ciblées permettent un contrôle de la maladie chez une majorité de patients en présence d'une mutation BRAF V600E. Cependant, une grande partie d'entre eux présentera une récurrence précoce de la maladie, inhérente à l'apparition de nouvelles mutations sur la voie des MAPK notamment. Il est intéressant

de noter que, dans les études les plus récentes, un faible pourcentage de patients semble présenter un bénéfice prolongé de la thérapie ciblée.

### **3.2.4 Inhibiteurs de tyrosine kinase (imatinib)**

Les mélanomes muqueux sont des tumeurs rares. Ils représentent moins de 2% de l'ensemble des mélanomes et sont généralement de mauvais pronostic [97].

Ces mélanomes muqueux fréquemment métastatiques ont la particularité de présenter une mutation sur le gène KIT dans 20 à 40% des cas [98,99].

Le gène KIT comme énoncé précédemment est un proto-oncogène. Il joue un rôle dans la survie, la migration et le développement mélanocytaire en codant le récepteur c-Kit qui correspond au récepteur du stem cell factor (SCF).

Ce récepteur est composé de cinq domaines dont un domaine juxtamembranaire dont le rôle reste à déterminer mais où les mutations de Kit sont les plus fréquentes notamment au niveau de l'exon 11 L576P.

L'imatinib à la posologie de 400 mg/jour représente une alternative thérapeutique en cas de progression sous immunothérapie pour les mélanomes métastatiques mutés KIT. Cependant, l'analyse des mutations KIT est une condition préalable avant

l'utilisation des inhibiteurs de tyrosines kinases car certaines d'entre elles (exon 11 L576P) semblent assurer une meilleure réponse [60,61].

### **3.3 Chimiothérapies**

Les chimiothérapies représentaient autrefois le traitement de référence du mélanome au stade métastatique. Elles sont aujourd'hui uniquement réservées aux patients ne pouvant bénéficier des thérapies ciblées ou des immunothérapies. Le mélanome est par définition un cancer chimiorésistant. Avec une monochimiothérapie, le taux de réponse est de l'ordre de 10 à 20 % et il n'y a pas de bénéfice démontré en survie [100–106].

La molécule de référence était la dacarbazine. Le cisplatine, les nitroso-urées, les alcaloïdes de la pervenche, la vindésine et la vinblastine ont cependant une efficacité proche de celle de la dacarbazine.

A ce jour, et devant les progrès récents entourant la prise en charge thérapeutique du mélanome, il est possible de conclure que les polychimiothérapies n'ont plus d'intérêt au stade métastatique.

## 4 Les transcrits de fusion en cancérologie

### 4.1 Définition et épidémiologie

Les gènes de fusion correspondent à des altérations moléculaires consécutives à des phénomènes de cassures et réarrangements chromosomiques.

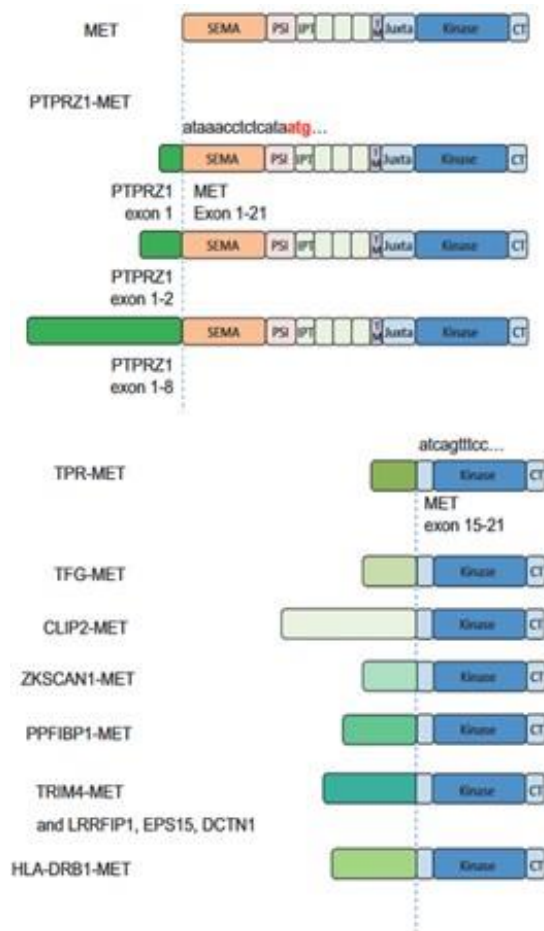
Le premier gène de fusion découvert dans le cancer humain est le gène BCR-ABL, décrit en 1960. Le gène de fusion BCR-ABL est le résultat d'une translocation entre les bras q des chromosomes 9 et 22. Cette fusion est présente chez plus de 96 % des patients atteints de leucémie myéloïde chronique (LMC) [107].

A ce jour, les bases de données décrivent au moins 21000 fusions [108]. La résultante de ces fusions est la création de protéines chimériques qui représentent des drivers oncogéniques potentiels.

En 2022, Lee et collaborateurs publiaient la plus large étude, pan tumeur, de recherche de transcrits de fusion sur biopsies liquides. Sur 32492 échantillons analysés, une fusion d'oncogènes était détectée dans 1.8% des cas. Parmi les cancers arborant la plus haute fréquence de détection, on retrouvait les cholangiocarcinomes (4.2%), les carcinomes urothéliaux de vessie (3.6%) et les cancers bronchiques non à petites cellules (3.1%). Les gènes les plus fréquemment détectés étaient ALK, BRAF, FGFR, MET, NTRK, RAF1, RET et ROS1. Il est intéressant de noter qu'il existe une forte

concordance entre les analyses effectuées sur tissus et celles faites sur biopsies liquides (pourcentage de concordance positif à 70%) [109].

L'une des grandes particularités des fusions d'oncogènes est leur hétérogénéité. Chaque gène de fusion pourra présenter différents partenaires, des points de rupture variables, voir des co-mutations associées (Figure 3). Chacune de ces spécificités est susceptible de modifier les conséquences fonctionnelles et thérapeutiques des gènes de fusion [110].



**Figure 7: Hétérogénéité des fusions de MET**

### 4.1.1 Techniques de détection des fusions d'oncogènes

Les analyses FISH (fluorescence in situ hybridization), développées au début des années 1980, permettent la mise en évidence de fusions de gènes à l'aide de sondes ADN utilisées in situ sur le tissu tumoral. Cette technique consiste à analyser des coupes en microscopie et en imagerie moléculaire en recourant à des sondes disposant d'un marqueur fluorescent. C'est le type de sonde qui conditionne l'identification du partenaire de fusion.

La détection des transcrits de fusion peut également se faire à un niveau moléculaire, à partir de l'ADN ou de l'ARN tumoral. L'identification des points de cassures sur l'ADN tumoral repose alors sur la réalisation d'un séquençage. C'est également en utilisant cette méthode que l'identification des transcrits de fusion sur ADN libre circulant est possible. Cependant, cela suppose de disposer de capacités de séquençage conséquentes, dans la mesure où il devient nécessaire de séquencer de grandes régions introniques.

Pour pallier cela, des panels de séquençage ciblé sont disponibles pour la détection des transcrits de fusion.

Dans certains cas, il est également possible d'utiliser l'immunohistochimie pour mettre en évidence la protéine chimérique ou simplement l'expression de la protéine cible lorsque celle-ci n'est exprimée qu'en présence d'une fusion. C'est par exemple le cas



de l'immunohistochimie d'ALK dans le cancer du poumon. En effet, l'expression d'ALK est corrélée positivement à la présence d'une fusion impliquant le gène ALK [111].

Cependant, dans les tumeurs solides, à l'exception de quelques rares translocations comme celle d'ALK dans le cancer du poumon, les fusions restent des événements rares. Ainsi, des méthodes de recherche simultanée des différentes cibles sont nécessaires, en particulier dans un contexte de soin et de faible disponibilité du matériel tumoral [112].

L'un des principaux avantages des tests basés sur le séquençage est de permettre le multiplexage du typage. Le choix de la matrice ADN ou ARN dépend majoritairement des capacités de séquençage disponibles.

Si l'ARN était historiquement analysé à partir d'une extraction sur matériel congelé, limitant ainsi son positionnement, il est aujourd'hui possible de travailler sur du matériel fixé au formol et inclus en paraffine. Malgré un taux d'échecs non négligeable (10-20 %) imputable soit à la qualité soit à la quantité d'ARN extrait à partir des prélèvements, diverses méthodes de typage ont été développées [113].

#### **4.1.2 Impact thérapeutique des fusions d'oncogènes**

Ces fusions d'oncogènes ont suscité un intérêt croissant ces dernières années. Le développement d'inhibiteurs de la tyrosine kinase spécifiques de ces altérations a

conduit à leur détection systématique dans de nombreux cancers (comme les cancers du poumon non à petites cellules [111] ou les cholangiocarcinomes [114] par exemple).

Concernant les tumeurs solides, les inhibiteurs ALK de 2<sup>nd</sup>e (brigatinib [115]/alectinib[116]) et de 3<sup>ème</sup> génération (lorlatinib [117,118]) sont devenu le traitements de référence en 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> ligne des cancers du poumon non à petites cellules métastatiques avec un réarrangement de ALK ou ROS 1.

Le larotrectinib est quant à lui disponible pour la prise en charge des fibrosarcomes infantiles et des sarcomes des tissus mous, avec une fusion du gène NTRK (neurotrophic tyrosine receptor kinase), au stade localement avancé ou métastatique, et réfractaire ou en rechute [119].

Le pemigatinib a obtenu en 2021 un avis favorable dans la prise en charge du cholangiocarcinome intrahépatique localement avancé ou métastatique avec fusion FGFR2 [120].

Le selpercatinib est disponible dans la prise en charge des cancers bronchiques non à petites cellules (CBNPC) [121] et les cancers médullaires de la thyroïde [122] avec fusion de RET.

Le capmatinib a démontré dans des cas rapportés une efficacité dans les tumeurs arborant une fusion de MET (Cholangiocarcinomes, Gliomes ...)[123]. Des études de phase II sont en cours avec différents inhibiteurs de MET pour évaluer leur efficacité dans les tumeurs arborant des altérations de MET comprenant notamment des fusions.

Finalement, la recherche de transcrits de fusion apparaît primordiale dans de nombreuses localisations tumorales. Il reste nécessaire de développer des algorithmes de typage et des recommandations par type tumoral en lien avec les résultats des différents essais en cours.

## **5 Objectif de l'étude**

En cas de mélanome métastatique, la caractérisation moléculaire par séquençage de nouvelle génération (NGS) de la tumeur est essentielle pour définir la prise en charge des patients. En l'absence d'altération moléculaire actionnable (environ 30% des cas [124,125]) et en cas de progression sous inhibiteurs de points de contrôle immunitaires, les options thérapeutiques sont extrêmement limitées.

Une analyse moléculaire plus approfondie par NGS ciblé et recherche de transcrits de fusion est proposée à titre systématique chez les patients ne présentant pas d'altération de BRAF, NRAS et CKIT (communément appelé triple négatif).

L'objectif de l'étude était de réaliser une analyse rétrospective des patients présentant un mélanome triple négatif et pour lesquels une analyse moléculaire approfondie a pu être effectuée. Nous voulions ainsi déterminer la fréquence des altérations rares potentiellement actionnables et étudier le devenir des patients présentant ce type d'altérations.

# Relevance of detection of RAF fusion transcripts in pan-negative melanoma in routine practice

Guillaume Delzenne<sup>1</sup>, Marie Boileau<sup>1</sup>, Philippe Jamme<sup>1</sup>, Olivier Farchi<sup>2</sup>, Laurent Mortier<sup>1</sup>

- 1) Service de Dermatologie, Hôpital C. Huriez, CHU de Lille, Lille, Hauts-de-France, France.
- 2) Service de biochimie et de Biologie moléculaire Hormonologie Metabolism Nutrition Oncology, Centre de biologie et pathologie, CHU de Lille, Department of Biochemistry and Molecular Biology Hormonology, Metabolism Nutrition Oncology, CHU Lille, F-59000, Lille, France.

**Key Words: BRAF fusion, RAF inhibitors, melanoma**

# 1 Introduction

Fusion oncogenes have gained increasing research interest in recent years. These molecular alterations are rare, in the largest correlative study of the genomic sequencing of tissue and liquid biopsy published in 2022 by Lee et al. the rate of fusion detection in solid tumors was 1.8% [1]. The development of tyrosine kinase inhibitors (TKIs) specific for these alterations has led to the systematic detection of fusion oncogenes in cancers such as non-small cell lung cancer and [2], cholangiocarcinoma [3]. However, although many techniques are available to detect fusion oncogenes, their frequency and heterogeneity limit their detection in most solid cancers.

In case of metastatic melanoma, molecular characterization by next-generation sequencing (NGS) of the tumor is essential to determine the management of patients. Approximately 40% of patients have BRAF protein mutations at valine V600 (also known as BRAF class I mutation). The use of inhibitors specifically developed to target BRAFV600 alterations is a standard of care in first- or second-line treatment when treatment with immune checkpoint inhibitors (ICIs) fails. Class II and III BRAF mutations (not involving valine 600) are described in <5% of cases, and the use of BRAF inhibitors is poorly codified owing to their rarity [4].

Other most frequently reported alterations include NRAS and CKIT mutations in 25% and 3% of cases, respectively, for which the efficacy of targeted therapies also remains modest.

In the absence of molecular alteration (pan-negative melanoma) and in case of progression under ICI treatment, therapeutic options remain limited [5]. Therefore, we aimed to determine the frequency of fusion oncogenes in patients with pan-negative melanoma using an RNA sequencing technique [6].

## **2 Materials and Methods**

### **2.1 Study Design and Patients**

In this observational, monocentric, retrospective study, we identified 59 patients with pan-negative melanoma.

Clinical and molecular data were collected retrospectively. The investigators used Response Evaluation Criteria In Solid Tumors 1.1 to assess responses to immunotherapy and TKIs. The objective response rate was defined as the rate of complete or partial response.

All of the data reported in this study were extracted from a database approved by the French National Data Protection Authority. This noninterventional study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and Good Clinical Practice guidelines. It was approved by a national ethics committee and by the French Advisory Committee on Information Processing Related to Research in the Field of Health. All included patients received information from their referring physician.

## **2.2 Molecular analysis**

Genomic DNA and RNA were extracted from samples with QIAmp DNA FFPE Tissue Qiagen kit according to the manufacturer's instructions.

Subsequently, DNA sequencing was performed using AmpliSeq multiplex PCR (the OncoPrint Comprehensive Assay v3 panel) on an Ion S5 system (Life technologies); the data were analyzed with Ion reporter V5.10 (Life technologies). This method facilitates the detection of somatic mutations, if present, in  $\geq 10\%$  of tumor cells. Variants were classified according to the American College of Medical Genetics and Genomics guidelines.

RNA analysis was conducted using anchored multiplex PCR using the ArcherDX FusionPlex Sarcoma v2 panel.

## **3 Results**

A total of 59 patients with advanced pan-negative melanoma (wild-type BRAF, NRAS, and cKIT) were included in the study. There were 30 males and 29 females with an average age of 61.8 years.



In total, 71.1% and 15.2% of the included patients had cutaneous melanoma and mucosal melanoma, respectively. Moreover, 76.2% and 23.7% of the patients had a stage IV and stage III disease, respectively, at the time of molecular analysis.

Owing to a lack of available tumor material, a fusion transcript search was performed for 51 patients. An RAF fusion transcript was identified in nine patients, that is, 17.6 % of the patients analyzed. Seven patients had BRAF fusion transcripts and two had RAF1 fusion transcripts. We identified nine different fusion partners (Figure 1). Simultaneously, a large molecular study was performed. Six patients carrying a fusion gene were able to benefit from an extended molecular analysis (OCA analysis). *Among patients without an RAF fusion*, 45 patients benefited from an OCA analysis. The most frequent molecular alterations were NF1 mutations in 22% of cases.

All patients with an RAF fusion received first-line therapy with ICIs. The objective response rate was 88.8% (8/9). The median duration of response was 8 months. Five patients showed progression after an initial response. For one patient, the immunotherapy was interrupted due to the occurrence of a grade I sarcoid-like granulomatosis. Two patients were still under treatment.

For the five patients who progressed under immunotherapy, a targeted therapy could be started after a decision by a molecular tumor board. Three of these patients received an MEK inhibitor alone, and two patients received a combination RAF/MEK inhibitor.

The response rate was 20% (Figure 1). No response was observed under biotherapy for patients with BRAF fusion. The mean duration of treatment was 4.6 months.

## **4 Discussion**

In this monocentric study that assessed a cohort of 59 patients with advanced or metastatic pan negative melanoma, we identified nine tumors harboring a fusion oncogene.

Considering the high frequency of fusion oncogenes in a selected population, this search seems relevant in patients with pan-negative melanoma.

Notably, only RAF fusion oncogenes (7 BRAF and 2 RAF) were identified. Further molecular analysis using targeted NGS did not identify any co-alterations. It would appear that RAF fusions are exclusive; however, owing to the small number of patients, the possibility of gene co-alterations cannot be excluded. Furthermore, the inclusion criterion of patients without BRAF, NRAS, and C-kit mutations resulted in the exclusion of most patients with metastatic melanoma.

RAF fusion transcripts were identified exclusively in patients with cutaneous melanoma. However, only nine patients with mucosal melanoma were included in the study.

The fusions of RAF proteins have been the subject of numerous publications. In a pan tumor study published in 2015 by ROSS et al, on 20573 samples analyzed the frequency of BRAF fusions was 0.3% [7]. The frequency of BRAF fusions was however variable according to tumor location (3% of melanomas; 2% of gliomas; 1.0% of thyroid cancers; 0.3% of pancreatic carcinomas; 0.2% of non-small cell lung cancers and 0.2% of colorectal cancers). There is no specific treatment available in the presence of RAF fusion. In our study the efficacy of BRAFV600 inhibitors and/or MEK inhibitors remains modest (with a response rate of 20% and a duration of treatment of 4.6 months). These results does not allow them to be considered as potential therapeutic alternatives.

Preclinical studies have demonstrated that RAF fusion oncogenes are associated with the activation of the MAP kinase and PI3 kinase pathways, thus characterizing them as potential oncogenic drivers. The use of BRAFV600 inhibitors fails to block the activation of signaling pathways in the majority of the models studied, which is consistent with the clinical data. The use of a pan-RAF inhibitor such as DAY101 [8] or LY3009120 [9] appears to be more effective in inhibiting the proliferation of melanoma cells carrying an RAF fusion oncogene. Studies evaluating the usefulness of pan-RAF inhibitors in the presence of a BRAF fusion oncogene are currently underway (NCT04589845; NCT04775485).

Remarkably, the response rate to ICIs in patients with an RAF fusion oncogene was high (88%). However, the majority of them showed progression (median duration of

response of 8 months) indicating the occurrence of secondary resistance mechanisms. ICIs remain the standard of care for these patients in the first-line setting.

## **5 Conclusion**

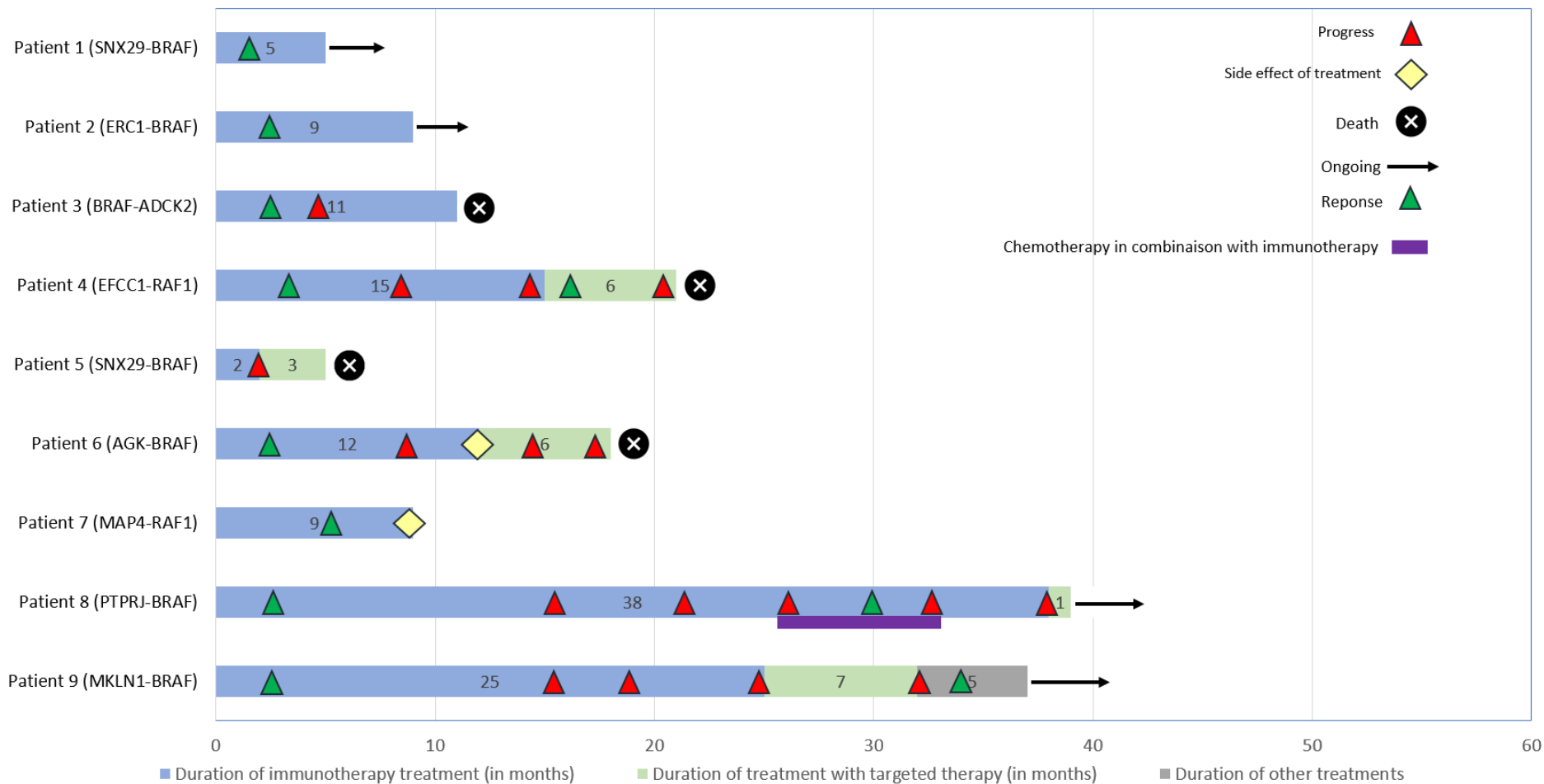
Our results showed that in a selected population of patients with pan-negative melanoma, BRAF fusion transcripts were detectable in clinical practice. Identification of BRAF fusions may help orient patients towards specific therapeutic trials.

## 6 Table 1: Characteristics of the study population

<b>Study population n=59</b>	
<b>Gender</b>	
Male	30 (50,8%)
Female	29 (49,1%)
<b>Average age at diagnosis (years)</b>	
	61,8
<b>Type of melanoma</b>	
Cutaneous	42 (71,1%)
Mucous	9 (15,2%)
No primitive found	8 (13,5%)
<b>Stage</b>	
III	14 (23,7%)
IV	45 (76,2%)
<b>Molecular abnormalities highlighted</b>	
NF1 mutation	13 (22%)
NF2 mutation	1 (1,6%)
GNAQ mutation	2 (3,3%)
ATM mutation	2 (3,3%)
TP53 mutation	4 (6,7%)
PTEN mutation	2 (3,3%)
PIK3 mutation	3 (5%)
SF3B1 mutation	2 (3,3%)
RAD51C mutation	1 (1,6%)
PTCH1 mutation	1 (1,6%)
CDKN2A mutation	1 (1,6%)
CBL mutation	1 (1,6%)
MAP2K1 mutation	2 (3,3%)
RAC1 mutation	1 (1,6%)
SLX4 mutation	1 (1,6%)
BAP1 mutation	1 (1,6%)
ATRX mutation	1 (1,6%)
NOTCH3 mutation	1 (1,6%)
<b>Fusion transcripts</b>	
	9 (15,2%)
<b>RAF fusion</b>	
	2 (3,3%)
MAP4-RAF1	1 (1,6%)
EFCC1-RAF1	1 (1,6%)
<b>BRAF fusion</b>	
	7 (11,8%)
MKLN1-BRAF	1 (1,6%)
PTPRJ-BRAF	1 (1,6%)
AGK-BRAF	1 (1,6%)
SNX29-BRAF	1 (1,6%)
BRAF-ADCK2	1 (1,6%)
ERC1-BRAF	1 (1,6%)
SNX29-BRAF	1 (1,6%)

## 7 Figure 1: Treatments received and best response for patients with fusion oncogenes

Figure 1: Treatments received and best response for patients with fusions



# Conclusion

Nos résultats ont montré que, dans une population sélectionnée de patients atteints d'un mélanome pan-négatif, les transcrits de fusion BRAF et RAF1 étaient détectables en pratique clinique. Par ailleurs, il n'y avait pas d'autres co-altérations moléculaires chez ces patients. Cela souligne le rôle central de la voie MAPK dans la tumorigenèse du mélanome.

L'autre intérêt majeur de ce travail est qu'il s'agissait d'une étude portant exclusivement sur le mélanome et non une étude pan-tumeur comme c'est généralement le cas dans la littérature.

Selon les données de la littérature, les fusions de RAF dans les mélanomes sont retrouvées à hauteur de 3% des cas. Dans le cadre de notre travail, la fréquence était de 17.6% des patients analysés.

Il s'agit d'une donnée essentielle, compte tenu des enjeux techniques et économiques que pose la recherche de transcrits de fusion. En outre, il est intéressant de noter qu'aucun autre gène n'était impliqué dans des mécanismes de réarrangements. Cela suggère la possibilité de développer des outils plus spécifiques dans la détection de fusions de RAF au sein des mélanomes.

Malheureusement, les thérapies conventionnelles ciblant l'anomalie BRAFV600E ne semblent pas efficaces en présence d'un transcrit de fusion et semblent dans l'incapacité de bloquer l'activité d'une protéine chimérique. Le traitement de référence reste pour l'instant la double immunothérapie par nivolumab et ipilimumab.

Il conviendra dans le futur d'inclure autant que possible ces patients dans un essai clinique, évaluant notamment l'efficacité des pan-RAF inhibiteurs en particulier en cas d'échec de l'immunothérapie.



# ANNEXES

## 1 Annexes de l'introduction

### 1.1 Liste des tables

Tableau 1 : Classification anatomoclinique des mélanomes

### 1.2 Liste des figures

Figure 1 : Survie relative à 5 ans en cas de mélanome en fonction du stade.  
SEER 17 2012–2018, All Races, Both Sexes by SEER Combined Summary Stage

Figure 2 : Critères ABCDE

Figure 3 : Illustration dermoscopique d'un mélanome

Figure 4 : Indice de Breslow

Figure 5 : les trois voies de signalisation majeures impliquées dans le développement des mélanomes. La voie PI3K (gauche), la voie MAPK (centre) et la voie de l'AMPc (droite). Les protéines indiquées en orange sont codées par des gènes fréquemment mutés ou amplifiés dans les mélanomes cutanés

Figure 6 : Modes d'action des immunothérapies inhibitrices de checkpoints dans le mélanome

Figure 7 : Hétérogénéité des fusions de MET

## 1.2.1 Références bibliographiques

- [1] Garbe C, Amaral T, Peris K, Hauschild A, Arenberger P, Basset-Seguín N, et al. European consensus-based interdisciplinary guideline for melanoma. Part 1: Diagnostics: Update 2022. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990 2022;170:236–55. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2022.03.008>.
- [2] Crocetti E, Carli P. Changes from mid-1980s to late 1990s among clinical and demographic correlates of melanoma thickness. *Eur J Dermatol EJD* 2003;13:72–5.
- [3] Garbe C, McLeod GR, Buettner PG. Time trends of cutaneous melanoma in Queensland, Australia and Central Europe. *Cancer* 2000;89:1269–78. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(20000915\)89:6<1269::aid-cnrcr11>3.0.co;2-c](https://doi.org/10.1002/1097-0142(20000915)89:6<1269::aid-cnrcr11>3.0.co;2-c).
- [4] Nikolaou V, Stratigos AJ. Emerging trends in the epidemiology of melanoma. *Br J Dermatol* 2014;170:11–9. <https://doi.org/10.1111/bjd.12492>.
- [5] MacKie RM, Hauschild A, Eggermont AMM. Epidemiology of invasive cutaneous melanoma. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol* 2009;20 Suppl 6:vi1-7. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdp252>.
- [6] Rigel DS. Epidemiology of melanoma. *Semin Cutan Med Surg* 2010;29:204–9. <https://doi.org/10.1016/j.sder.2010.10.005>.
- [7] Melanoma of the Skin - Cancer Stat Facts. SEER n.d. <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/melan.html> (accessed March 18, 2023).
- [8] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2018;68:394–424. <https://doi.org/10.3322/caac.21492>.
- [9] Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS, Pasquini P, Picconi O, Boyle P, et al. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: II. Sun exposure. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990 2005;41:45–60. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2004.10.016>.
- [10] Elwood JM, Jopson J. Melanoma and sun exposure: an overview of published studies. *Int J Cancer* 1997;73:198–203. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0215\(19971009\)73:2<198::aid-ijc6>3.0.co;2-r](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0215(19971009)73:2<198::aid-ijc6>3.0.co;2-r).
- [11] International Agency for Research on Cancer Working Group on artificial ultraviolet (UV) light and skin cancer. The association of use of sunbeds with cutaneous malignant melanoma and other skin cancers: A systematic review. *Int J Cancer* 2007;120:1116–22. <https://doi.org/10.1002/ijc.22453>.
- [12] Stern RS, PUVA Follow up Study. The risk of melanoma in association with long-term exposure to PUVA. *J Am Acad Dermatol* 2001;44:755–61. <https://doi.org/10.1067/mjd.2001.114576>.

- [13] Pho L, Grossman D, Leachman SA. Melanoma genetics: a review of genetic factors and clinical phenotypes in familial melanoma. *Curr Opin Oncol* 2006;18:173–9. <https://doi.org/10.1097/01.cco.0000208791.22442.09>.
- [14] Tsao H, Niendorf K. Genetic testing in hereditary melanoma. *J Am Acad Dermatol* 2004;51:803–8. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2004.04.045>.
- [15] Marzuka-Alcalá A, Gabree MJ, Tsao H. Melanoma susceptibility genes and risk assessment. *Methods Mol Biol Clifton NJ* 2014;1102:381–93. [https://doi.org/10.1007/978-1-62703-727-3\\_20](https://doi.org/10.1007/978-1-62703-727-3_20).
- [16] Stam-Posthuma JJ, van Duinen C, Scheffer E, Vink J, Bergman W. Multiple primary melanomas. *J Am Acad Dermatol* 2001;44:22–7. <https://doi.org/10.1067/mjd.2001.110878>.
- [17] Veierød MB, Weiderpass E, Thörn M, Hansson J, Lund E, Armstrong B, et al. A prospective study of pigmentation, sun exposure, and risk of cutaneous malignant melanoma in women. *J Natl Cancer Inst* 2003;95:1530–8. <https://doi.org/10.1093/jnci/djg075>.
- [18] Markovic SN, Erickson LA, Rao RD, Weenig RH, Pockaj BA, Bardia A, et al. Malignant melanoma in the 21st century, part 1: epidemiology, risk factors, screening, prevention, and diagnosis. *Mayo Clin Proc* 2007;82:364–80. <https://doi.org/10.4065/82.3.364>.
- [19] Bevona C, Goggins W, Quinn T, Fullerton J, Tsao H. Cutaneous melanomas associated with nevi. *Arch Dermatol* 2003;139:1620–4; discussion 1624. <https://doi.org/10.1001/archderm.139.12.1620>.
- [20] Grob JJ, Gouvernet J, Aymar D, Mostaque A, Romano MH, Collet AM, et al. Count of benign melanocytic nevi as a major indicator of risk for nonfamilial nodular and superficial spreading melanoma. *Cancer* 1990;66:387–95. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19900715\)66:2<387::aid-cncr2820660232>3.0.co;2-j](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19900715)66:2<387::aid-cncr2820660232>3.0.co;2-j).
- [21] Halpern AC, Guerry D, Elder DE, Clark WH, Synnestvedt M, Norman S, et al. Dysplastic nevi as risk markers of sporadic (nonfamilial) melanoma. A case-control study. *Arch Dermatol* 1991;127:995–9.
- [22] Holly EA, Kelly JW, Shpall SN, Chiu SH. Number of melanocytic nevi as a major risk factor for malignant melanoma. *J Am Acad Dermatol* 1987;17:459–68. [https://doi.org/10.1016/s0190-9622\(87\)70230-8](https://doi.org/10.1016/s0190-9622(87)70230-8).
- [23] Gandini S, Sera F, Cattaruzza MS, Pasquini P, Abeni D, Boyle P, et al. Meta-analysis of risk factors for cutaneous melanoma: I. Common and atypical naevi. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990 2005;41:28–44. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2004.10.015>.
- [24] Watt AJ, Kotsis SV, Chung KC. Risk of melanoma arising in large congenital melanocytic nevi: a systematic review. *Plast Reconstr Surg* 2004;113:1968–74. <https://doi.org/10.1097/01.prs.0000122209.10277.2a>.

- [25] Titus-Ernstoff L, Perry AE, Spencer SK, Gibson JJ, Cole BF, Ernstoff MS. Pigmentary characteristics and moles in relation to melanoma risk. *Int J Cancer* 2005;116:144–9. <https://doi.org/10.1002/ijc.21001>.
- [26] Rigel DS, Russak J, Friedman R. The evolution of melanoma diagnosis: 25 years beyond the ABCDs. *CA Cancer J Clin* 2010;60:301–16. <https://doi.org/10.3322/caac.20074>.
- [27] Montella A, Gavin A, Middleton R, Autier P, Boniol M. Cutaneous melanoma mortality starting to change: a study of trends in Northern Ireland. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990 2009;45:2360–6. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2009.03.004>.
- [28] Bevona C, Sober AJ. Melanoma incidence trends. *Dermatol Clin* 2002;20:589–95, vii. [https://doi.org/10.1016/s0733-8635\(02\)00037-2](https://doi.org/10.1016/s0733-8635(02)00037-2).
- [29] Robinson JK, Turrisi R. Skills training to learn discrimination of ABCDE criteria by those at risk of developing melanoma. *Arch Dermatol* 2006;142:447–52. <https://doi.org/10.1001/archderm.142.4.447>.
- [30] Friedman RJ, Rigel DS, Kopf AW. Early detection of malignant melanoma: the role of physician examination and self-examination of the skin. *CA Cancer J Clin* 1985;35:130–51. <https://doi.org/10.3322/canjclin.35.3.130>.
- [31] Thomas L, Tranchand P, Berard F, Secchi T, Colin C, Moulin G. Semiological value of ABCDE criteria in the diagnosis of cutaneous pigmented tumors. *Dermatol Basel Switz* 1998;197:11–7. <https://doi.org/10.1159/000017969>.
- [32] Grob JJ, Bonerandi JJ. The “ugly duckling” sign: identification of the common characteristics of nevi in an individual as a basis for melanoma screening. *Arch Dermatol* 1998;134:103–4. <https://doi.org/10.1001/archderm.134.1.103-a>.
- [33] Braun RP, Rabinovitz H, Oliviero M, Kopf AW, Saurat JH, Thomas L. [Dermatoscopy of pigmented lesions]. *Ann Dermatol Venereol* 2002;129:187–202.
- [34] Neila J, Soyer HP. Key points in dermoscopy for diagnosis of melanomas, including difficult to diagnose melanomas, on the trunk and extremities. *J Dermatol* 2011;38:3–9. <https://doi.org/10.1111/j.1346-8138.2010.01131.x>.
- [35] Arthur Cartel Foahom Gouabou, Frédéric Heim, Jean-Luc Damoiseaux. Apprentissage profond pour l’aide au diagnostic du mélanome à partir d’exemple. [Rapport de recherche] Université de Haute-Alsace. 2019. hal-02515203
- [36] Hofmann-Wellenhof R, Wurm EMT, Ahlgrimm-Siess V, Richtig E, Koller S, Smolle J, et al. Reflectance confocal microscopy--state-of-art and research overview. *Semin Cutan Med Surg* 2009;28:172–9. <https://doi.org/10.1016/j.sder.2009.06.004>.
- [37] Borradori, L., Lachapelle, J., Lipsker, D., Saurat, J., Thomas, L. *Dermatologie et infections sexuellement transmissibles*, 6th Edition. Elsevier Masson; 20170103.

- [38] Dumas N, Mourah S. Les voies de signalisation activées dans le mélanome et les principes actuels du génotypage. *La lettre du cancérologue*. 2011;9:536-542.
- [39] Cheng Y, Zhang G, Li G. Targeting MAPK pathway in melanoma therapy. *Cancer Metastasis Rev* 2013;32:567–84. <https://doi.org/10.1007/s10555-013-9433-9>.
- [40] Shain AH, Joseph NM, Yu R, Benhamida J, Liu S, Prow T, et al. Genomic and Transcriptomic Analysis Reveals Incremental Disruption of Key Signaling Pathways during Melanoma Evolution. *Cancer Cell* 2018;34:45-55.e4. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2018.06.005>.
- [41] Wagstaff W, Mwamba RN, Grullon K, Armstrong M, Zhao P, Hendren-Santiago B, et al. Melanoma: Molecular genetics, metastasis, targeted therapies, immunotherapies, and therapeutic resistance. *Genes Dis* 2022;9:1608–23. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2022.04.004>.
- [42] Davies H, Bignell GR, Cox C, Stephens P, Edkins S, Clegg S, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature* 2002;417:949–54. <https://doi.org/10.1038/nature00766>.
- [43] Cancer Genome Atlas Network. Genomic Classification of Cutaneous Melanoma. *Cell* 2015;161:1681–96. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.05.044>.
- [44] Hayward NK, Wilmott JS, Waddell N, Johansson PA, Field MA, Nones K, et al. Whole-genome landscapes of major melanoma subtypes. *Nature* 2017;545:175–80. <https://doi.org/10.1038/nature22071>.
- [45] Wallace MR, Marchuk DA, Andersen LB, Letcher R, Odeh HM, Saulino AM, et al. Type 1 neurofibromatosis gene: identification of a large transcript disrupted in three NF1 patients. *Science* 1990;249:181–6. <https://doi.org/10.1126/science.2134734>.
- [46] Ding L, Getz G, Wheeler DA, Mardis ER, McLellan MD, Cibulskis K, et al. Somatic mutations affect key pathways in lung adenocarcinoma. *Nature* 2008;455:1069–75. <https://doi.org/10.1038/nature07423>.
- [47] Parsons DW, Jones S, Zhang X, Lin JC-H, Leary RJ, Angenendt P, et al. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science* 2008;321:1807–12. <https://doi.org/10.1126/science.1164382>.
- [48] Martin GA, Viskochil D, Bollag G, McCabe PC, Crosier WJ, Haubruck H, et al. The GAP-related domain of the neurofibromatosis type 1 gene product interacts with ras p21. *Cell* 1990;63:843–9. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(90\)90150-d](https://doi.org/10.1016/0092-8674(90)90150-d).
- [49] Dasgupta B, Yi Y, Chen DY, Weber JD, Gutmann DH. Proteomic analysis reveals hyperactivation of the mammalian target of rapamycin pathway in neurofibromatosis 1-associated human and mouse brain tumors. *Cancer Res* 2005;65:2755–60. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-04-4058>.
- [50] Krauthammer M, Kong Y, Bacchiocchi A, Evans P, Pornputtpong N, Wu C, et al. Exome sequencing identifies recurrent mutations in NF1 and RASopathy

- genes in sun-exposed melanomas. *Nat Genet* 2015;47:996–1002. <https://doi.org/10.1038/ng.3361>.
- [51] Wiesner T, Kiuru M, Scott SN, Arcila M, Halpern AC, Hollmann T, et al. NF1 Mutations Are Common in Desmoplastic Melanoma. *Am J Surg Pathol* 2015;39:1357–62. <https://doi.org/10.1097/PAS.0000000000000451>.
- [52] Cosgarea I, Ugurel S, Sucker A, Livingstone E, Zimmer L, Ziemer M, et al. Targeted next generation sequencing of mucosal melanomas identifies frequent NF1 and RAS mutations. *Oncotarget* 2017;8:40683–92. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.16542>.
- [53] Moon KR, Choi YD, Kim JM, Jin S, Shin M-H, Shim H-J, 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;138:933–45. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2017.11.017>.
- [54] Maertens O, Johnson B, Hollstein P, Frederick DT, Cooper ZA, Messiaen L, et al. Elucidating distinct roles for NF1 in melanomagenesis. *Cancer Discov* 2013;3:338–49. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-12-0313>.
- [55] Whittaker SR, Theurillat J-P, Van Allen E, Wagle N, Hsiao J, Cowley GS, et al. A genome-scale RNA interference screen implicates NF1 loss in resistance to RAF inhibition. *Cancer Discov* 2013;3:350–62. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-12-0470>.
- [56] Cirenajwis H, Lauss M, Ekedahl H, Törnngren T, Kvist A, Saal LH, et al. NF1-mutated melanoma tumors harbor distinct clinical and biological characteristics. *Mol Oncol* 2017;11:438–51. <https://doi.org/10.1002/1878-0261.12050>.
- [57] Eroglu Z, Zaretsky JM, Hu-Lieskovan S, Kim DW, Algazi A, Johnson DB, et al. High response rate to PD-1 blockade in desmoplastic melanomas. *Nature* 2018;553:347–50. <https://doi.org/10.1038/nature25187>.
- [58] Van Allen EM, Wagle N, Sucker A, Treacy DJ, Johannessen CM, Goetz EM, et al. The genetic landscape of clinical resistance to RAF inhibition in metastatic melanoma. *Cancer Discov* 2014;4:94–109. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-13-0617>.
- [59] Beadling C, Jacobson-Dunlop E, Hodi FS, Le C, Warrick A, Patterson J, et al. KIT gene mutations and copy number in melanoma subtypes. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res* 2008;14:6821–8. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-08-0575>.
- [60] Hodi FS, Friedlander P, Corless CL, Heinrich MC, Mac Rae S, Kruse A, et al. Major response to imatinib mesylate in KIT-mutated melanoma. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 2008;26:2046–51. <https://doi.org/10.1200/JCO.2007.14.0707>.
- [61] Carvajal RD, Antonescu CR, Wolchok JD, Chapman PB, Roman R-A, Teitcher J, et al. KIT as a therapeutic target in metastatic melanoma. *JAMA* 2011;305:2327–34. <https://doi.org/10.1001/jama.2011.746>.

- [62] Guo J, Si L, Kong Y, Flaherty KT, Xu X, Zhu Y, et al. Phase II, open-label, single-arm trial of imatinib mesylate in patients with metastatic melanoma harboring c-Kit mutation or amplification. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 2011;29:2904–9. <https://doi.org/10.1200/JCO.2010.33.9275>.
- [63] Curtin JA, Busam K, Pinkel D, Bastian BC. Somatic activation of KIT in distinct subtypes of melanoma. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 2006;24:4340–6. <https://doi.org/10.1200/JCO.2006.06.2984>.
- [64] Brazil DP, Park J, Hemmings BA. PKB binding proteins. Getting in on the Akt. *Cell* 2002;111:293–303. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(02\)01083-8](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(02)01083-8).
- [65] Manning BD, Cantley LC. AKT/PKB signaling: navigating downstream. *Cell* 2007;129:1261–74. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.06.009>.
- [66] Guldborg P, Straten P, Birck A, Ahrenkiel V, Kirkin AF, Zeuthen J. Disruption of the MMAC1/PTEN gene by deletion or mutation is a frequent event in malignant melanoma. *Cancer Res* 1997;57:3660–3.
- [67] Birck A, Ahrenkiel V, Zeuthen J, Hou-Jensen K, Guldborg P. Mutation and allelic loss of the PTEN/MMAC1 gene in primary and metastatic melanoma biopsies. *J Invest Dermatol* 2000;114:277–80. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1747.2000.00877.x>.
- [68] Stahl JM, Sharma A, Cheung M, Zimmerman M, Cheng JQ, Bosenberg MW, et al. Deregulated Akt3 activity promotes development of malignant melanoma. *Cancer Res* 2004;64:7002–10. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-04-1399>.
- [69] Gast A, Scherer D, Chen B, Bloethner S, Melchert S, Sucker A, et al. Somatic alterations in the melanoma genome: a high-resolution array-based comparative genomic hybridization study. *Genes Chromosomes Cancer* 2010;49:733–45. <https://doi.org/10.1002/gcc.20785>.
- [70] Zuo Q, Liu J, Huang L, Qin Y, Hawley T, Seo C, et al. AXL/AKT axis mediated-resistance to BRAF inhibitor depends on PTEN status in melanoma. *Oncogene* 2018;37:3275–89. <https://doi.org/10.1038/s41388-018-0205-4>.
- [71] Peng W, Chen JQ, Liu C, Malu S, Creasy C, Tetzlaff MT, et al. Loss of PTEN Promotes Resistance to T Cell-Mediated Immunotherapy. *Cancer Discov* 2016;6:202–16. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-15-0283>.
- [72] Levy C, Khaled M, Fisher DE. MITF: master regulator of melanocyte development and melanoma oncogene. *Trends Mol Med* 2006;12:406–14. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2006.07.008>.
- [73] Lin JY, Fisher DE. Melanocyte biology and skin pigmentation. *Nature* 2007;445:843–50. <https://doi.org/10.1038/nature05660>.
- [74] Garraway LA, Widlund HR, Rubin MA, Getz G, Berger AJ, Ramaswamy S, et al. Integrative genomic analyses identify MITF as a lineage survival oncogene amplified in malignant melanoma. *Nature* 2005;436:117–22. <https://doi.org/10.1038/nature03664>.

- [75] Curtin JA, Fridlyand J, Kageshita T, Patel HN, Busam KJ, Kutzner H, et al. Distinct sets of genetic alterations in melanoma. *N Engl J Med* 2005;353:2135–47. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa050092>.
- [76] Achkar T, Tarhini AA. The use of immunotherapy in the treatment of melanoma. *J Hematol Oncol* 2017;10:88. <https://doi.org/10.1186/s13045-017-0458-3>.
- [77] Cuevas LM, Daud AI. Immunotherapy for melanoma. *Semin Cutan Med Surg* 2018;37:127–31. <https://doi.org/10.12788/j.sder.2018.028>.
- [78] Ralli M, Botticelli A, Visconti IC, Angeletti D, Fiore M, Marchetti P, et al. Immunotherapy in the Treatment of Metastatic Melanoma: Current Knowledge and Future Directions. *J Immunol Res* 2020;2020:9235638. <https://doi.org/10.1155/2020/9235638>.
- [79] Sanlorenzo M, Vujic I, Posch C, Dajee A, Yen A, Kim S, et al. Melanoma immunotherapy. *Cancer Biol Ther* 2014;15:665–74. <https://doi.org/10.4161/cbt.28555>.
- [80] Snyder A, Zamarin D, Wolchok JD. Immunotherapy of Melanoma. *Prog Tumor Res* 2015;42:22–9. <https://doi.org/10.1159/000436998>.
- [81] Hodi FS, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, Grob J-J, Rutkowski P, Cowey CL, et al. Nivolumab plus ipilimumab or nivolumab alone versus ipilimumab alone in advanced melanoma (CheckMate 067): 4-year outcomes of a multicentre, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2018;19:1480–92. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(18\)30700-9](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(18)30700-9).
- [82] Wolchok JD, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, Grob J-J, Rutkowski P, Lao CD, et al. Long-Term Outcomes With Nivolumab Plus Ipilimumab or Nivolumab Alone Versus Ipilimumab in Patients With Advanced Melanoma. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 2022;40:127–37. <https://doi.org/10.1200/JCO.21.02229>.
- [83] Robert C, Schachter J, Long GV, Arance A, Grob JJ, Mortier L, et al. Pembrolizumab versus Ipilimumab in Advanced Melanoma. *N Engl J Med* 2015;372:2521–32. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1503093>.
- [84] Postow MA, Chesney J, Pavlick AC, Robert C, Grossmann K, McDermott D, et al. Nivolumab and ipilimumab versus ipilimumab in untreated melanoma. *N Engl J Med* 2015;372:2006–17. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1414428>.
- [85] Bai X, Li M, Pu X, Cheng Y, Chen J, Jiang Y, et al. Anti-LAG-3 antibody LBL-007 in combination with toripalimab in patients with unresectable or metastatic melanoma: A phase I, open-label, multicenter, dose escalation/expansion study. *J Clin Oncol* 2022;40:9538–9538. [https://doi.org/10.1200/JCO.2022.40.16\\_suppl.9538](https://doi.org/10.1200/JCO.2022.40.16_suppl.9538).
- [86] Tawbi HA, Schadendorf D, Lipson EJ, Ascierto PA, Matamala L, Castillo Gutiérrez E, et al. Relatlimab and Nivolumab versus Nivolumab in Untreated Advanced Melanoma. *N Engl J Med* 2022;386:24–34. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2109970>.



- [87] Long GV, Hodi FS, Lipson EJ, Schadendorf D, Ascierto PA, Matamala L, et al. Relatlimab and nivolumab versus nivolumab in previously untreated metastatic or unresectable melanoma: Overall survival and response rates from RELATIVITY-047 (CA224-047). *J Clin Oncol* 2022;40:360385–360385. [https://doi.org/10.1200/JCO.2022.40.36\\_suppl.360385](https://doi.org/10.1200/JCO.2022.40.36_suppl.360385).
- [88] Ferrucci PF, Lens M, Cocorocchio E. Combined BRAF-Targeted Therapy with Immunotherapy in BRAF-Mutated Advanced Melanoma Patients. *Curr Oncol Rep* 2021;23:138. <https://doi.org/10.1007/s11912-021-01134-7>.
- [89] Guo W, Wang H, Li C. Signal pathways of melanoma and targeted therapy. *Signal Transduct Target Ther* 2021;6:424. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00827-6>.
- [90] Lazaroff J, Bolotin D. Targeted Therapy and Immunotherapy in Melanoma. *Dermatol Clin* 2023;41:65–77. <https://doi.org/10.1016/j.det.2022.07.007>.
- [91] Luke JJ, Flaherty KT, Ribas A, Long GV. Targeted agents and immunotherapies: optimizing outcomes in melanoma. *Nat Rev Clin Oncol* 2017;14:463–82. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2017.43>.
- [92] Namikawa K, Yamazaki N. Targeted Therapy and Immunotherapy for Melanoma in Japan. *Curr Treat Options Oncol* 2019;20:7. <https://doi.org/10.1007/s11864-019-0607-8>.
- [93] Sun J, Carr MJ, Khushalani NI. Principles of Targeted Therapy for Melanoma. *Surg Clin North Am* 2020;100:175–88. <https://doi.org/10.1016/j.suc.2019.09.013>.
- [94] Larkin J, Ascierto PA, Dréno B, Atkinson V, Liskay G, Maio M, et al. Combined vemurafenib and cobimetinib in BRAF-mutated melanoma. *N Engl J Med* 2014;371:1867–76. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1408868>.
- [95] Robert C, Karaszewska B, Schachter J, Rutkowski P, Mackiewicz A, Stroiakovski D, et al. Improved overall survival in melanoma with combined dabrafenib and trametinib. *N Engl J Med* 2015;372:30–9. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1412690>.
- [96] Robert C, Grob JJ, Stroyakovskiy D, Karaszewska B, Hauschild A, Levchenko E, et al. Five-Year Outcomes with Dabrafenib plus Trametinib in Metastatic Melanoma. *N Engl J Med* 2019;381:626–36. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1904059>.
- [97] Yde SS, Sjoegren P, Heje M, Stolle LB. Mucosal Melanoma: a Literature Review. *Curr Oncol Rep* 2018;20:28. <https://doi.org/10.1007/s11912-018-0675-0>.
- [98] Pham DDM, Guhan S, Tsao H. KIT and Melanoma: Biological Insights and Clinical Implications. *Yonsei Med J* 2020;61:562–71. <https://doi.org/10.3349/ymj.2020.61.7.562>.
- [99] Marcaillou M, Bourgaux M, Prud'homme R, Matei I, Assikar S, Bedane C. Efficacité de l'imatinib (Glivec®) sur deux mélanomes muqueux métastatiques

- mutés KIT. *Ann Dermatol Vénéréologie* 2018;145:S318–9. <https://doi.org/10.1016/j.annder.2018.09.517>.
- [100] Becker JC, Kämpgen E, Bröcker E. Classical chemotherapy for metastatic melanoma. *Clin Exp Dermatol* 2000;25:503–8. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2230.2000.00690.x>.
- [101] Coates AS. Systemic chemotherapy for malignant melanoma. *World J Surg* 1992;16:277–81. <https://doi.org/10.1007/BF02071532>.
- [102] Gogas HJ, Kirkwood JM, Sondak VK. Chemotherapy for metastatic melanoma: time for a change? *Cancer* 2007;109:455–64. <https://doi.org/10.1002/cncr.22427>.
- [103] Lee SM, Betticher DC, Thatcher N. Melanoma: chemotherapy. *Br Med Bull* 1995;51:609–30. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.bmb.a072982>.
- [104] Pavlick AC. Chemotherapy approaches to melanoma. *Dermatol Clin* 2002;20:709–12. [https://doi.org/10.1016/s0733-8635\(02\)00033-5](https://doi.org/10.1016/s0733-8635(02)00033-5).
- [105] Yang AS, Chapman PB. The history and future of chemotherapy for melanoma. *Hematol Oncol Clin North Am* 2009;23:583–97, x. <https://doi.org/10.1016/j.hoc.2009.03.006>.
- [106] Jilaveanu LB, Aziz SA, Kluger HM. Chemotherapy and biologic therapies for melanoma: do they work? *Clin Dermatol* 2009;27:614–25. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2008.09.020>.
- [107] Nowell PC, Hungerford DA. Chromosome studies on normal and leukemic human leukocytes. *J Natl Cancer Inst* 1960;25:85–109.
- [108] Schram AM, Chang MT, Jonsson P, Drilon A. Fusions in solid tumours: diagnostic strategies, targeted therapy, and acquired resistance. *Nat Rev Clin Oncol* 2017;14:735–48. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2017.127>.
- [109] Lee JK, Hazar-Rethinam M, Decker B, Gjoerup O, Madison RW, Lieber DS, et al. The Pan-Tumor Landscape of Targetable Kinase Fusions in Circulating Tumor DNA. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res* 2022;28:728–37. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-21-2136>.
- [110] Tuna M, Amos CI, Mills GB. Molecular mechanisms and pathobiology of oncogenic fusion transcripts in epithelial tumors. *Oncotarget* 2019;10:2095–111. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.26777>.
- [111] Bruno R, Fontanini G. Next Generation Sequencing for Gene Fusion Analysis in Lung Cancer: A Literature Review. *Diagn Basel Switz* 2020;10:521. <https://doi.org/10.3390/diagnostics10080521>.
- [112] Mertens F, Johansson B, Fioretos T, Mitelman F. The emerging complexity of gene fusions in cancer. *Nat Rev Cancer* 2015;15:371–81. <https://doi.org/10.1038/nrc3947>.
- [113] Kresse SH, Namløs HM, Lorenz S, Berner J-M, Myklebost O, Bjerkehagen B, et al. Evaluation of commercial DNA and RNA extraction methods for high-

- throughput sequencing of FFPE samples. *PLoS One* 2018;13:e0197456. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197456>.
- [114] Kam AE, Masood A, Shroff RT. Current and emerging therapies for advanced biliary tract cancers. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2021;6:956–69. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(21\)00171-0](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(21)00171-0).
- [115] Camidge DR, Kim HR, Ahn M-J, Yang JCH, Han J-Y, Hochmair MJ, et al. Brigatinib Versus Crizotinib in ALK Inhibitor-Naive Advanced ALK-Positive NSCLC: Final Results of Phase 3 ALTA-1L Trial. *J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer* 2021;16:2091–108. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2021.07.035>.
- [116] Peters S, Camidge DR, Shaw AT, Gadgeel S, Ahn JS, Kim D-W, et al. Alectinib versus Crizotinib in Untreated ALK-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2017;377:829–38. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1704795>.
- [117] Baba K, Goto Y. Lorlatinib as a treatment for ALK-positive lung cancer. *Future Oncol Lond Engl* 2022;18:2745–66. <https://doi.org/10.2217/fon-2022-0184>.
- [118] Shaw AT, Bauer TM, de Marinis F, Felip E, Goto Y, Liu G, et al. First-Line Lorlatinib or Crizotinib in Advanced ALK-Positive Lung Cancer. *N Engl J Med* 2020;383:2018–29. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2027187>.
- [119] Hong DS, DuBois SG, Kummar S, Farago AF, Albert CM, Rohrberg KS, et al. Larotrectinib in patients with TRK fusion-positive solid tumours: a pooled analysis of three phase 1/2 clinical trials. *Lancet Oncol* 2020;21:531–40. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(19\)30856-3](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(19)30856-3).
- [120] Abou-Alfa GK, Sahai V, Hollebecque A, Vaccaro G, Melisi D, Al-Rajabi R, et al. Pemigatinib for previously treated, locally advanced or metastatic cholangiocarcinoma: a multicentre, open-label, phase 2 study. *Lancet Oncol* 2020;21:671–84. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(20\)30109-1](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(20)30109-1).
- [121] Drilon A, Oxnard GR, Tan DSW, Loong HHH, Johnson M, Gainor J, et al. Efficacy of Selpercatinib in RET Fusion-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* 2020;383:813–24. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2005653>.
- [122] Wirth LJ, Sherman E, Robinson B, Solomon B, Kang H, Lorch J, et al. Efficacy of Selpercatinib in RET-Altered Thyroid Cancers. *N Engl J Med* 2020;383:825–35. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2005651>.
- [123] Turpin A, Descarpentries C, Grégoire V, Farchi O, Cortot AB, Jamme P. Response to Capmatinib in a MET Fusion-positive Cholangiocarcinoma. *The Oncologist* 2023;28:80–3. <https://doi.org/10.1093/oncolo/oyac194>.
- [124] Johnson DB, Peng C, Puzanov I. Management of ‘pan-negative’ melanoma: current and emerging strategies. *Melanoma Manag* 2014;1:87–90. <https://doi.org/10.2217/mmt.14.21>.
- [125] Jamme P, Delzenne G, Mortier L, Farchi O, Boileau M. Relevance of detection of RAF fusion in pan-negative melanoma in routine practice. *J Clin Oncol* 2022;40:e21500–e21500. [https://doi.org/10.1200/JCO.2022.40.16\\_suppl.e21500](https://doi.org/10.1200/JCO.2022.40.16_suppl.e21500).

## **2 Annexes de l'article**

### **2.1 Liste des tables**

Table 1 : Characteristics of the study population

### **2.2 Liste des figures**

Figure 1 : Treatments received and best response for patients with fusion oncogenes

## 2.3 Références bibliographiques

- [1] Lee JK, Hazar-Rethinam M, Decker B, Gjoerup O, Madison RW, Lieber DS, et al. The Pan-Tumor Landscape of Targetable Kinase Fusions in Circulating Tumor DNA. *Clin Cancer Res* 2022;28:728–37. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-21-2136>.
- [2] Bruno R, Fontanini G. Next Generation Sequencing for Gene Fusion Analysis in Lung Cancer: A Literature Review. *Diagnostics (Basel)* 2020;10:521. <https://doi.org/10.3390/diagnostics10080521>.
- [3] Kam AE, Masood A, Shroff RT. Current and emerging therapies for advanced biliary tract cancers. *Lancet Gastroenterol Hepatol* 2021;6:956–69. [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(21\)00171-0](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(21)00171-0).
- [4] Cancer Genome Atlas Network. Genomic Classification of Cutaneous Melanoma. *Cell* 2015;161:1681–96. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.05.044>.
- [5] Michielin O, van Akkooi ACJ, Ascierto PA, Dummer R, Keilholz U, ESMO Guidelines Committee. Electronic address: [clinicalguidelines@esmo.org](mailto:clinicalguidelines@esmo.org). Cutaneous melanoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up†. *Ann Oncol* 2019;30:1884–901. <https://doi.org/10.1093/annonc/mdz411>.
- [6] Qu X, Yeung C, Coleman I, Nelson PS, Fang M. Comparison of four next generation sequencing platforms for fusion detection: Oncomine by ThermoFisher, AmpliSeq by illumina, FusionPlex by ArcherDX, and QIAseq by QIAGEN. *Cancer Genet* 2020;243:11–8. <https://doi.org/10.1016/j.cancergen.2020.02.007>.
- [7] Ross JS, Wang K, Chmielecki J, Gay L, Johnson A, Chudnovsky J, et al. The distribution of BRAF gene fusions in solid tumors and response to targeted therapy. *Int J Cancer* 2016;138:881–90. <https://doi.org/10.1002/ijc.29825>.
- [8] Venetsanakos E, Preigh M, Hou J, Cox MC, Bender J, Blackman SC. Abstract 1481: DAY101, a potent pan-RAF inhibitor with activity in preclinical models harboring MAPK pathway alterations beyond BRAF V600E mutation. *Cancer Research* 2021;81:1481. <https://doi.org/10.1158/1538-7445.AM2021-1481>.
- [9] Sullivan RJ, Hollebecque A, Flaherty KT, Shapiro GI, Rodon Ahnert J, Millward MJ, et al. A Phase I Study of LY3009120, a Pan-RAF Inhibitor, in Patients with Advanced or Metastatic Cancer. *Mol Cancer Ther* 2020;19:460–7. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-19-0681>.

**AUTEUR : Nom :** DELZENNE      **Prénom :** Guillaume

**Date de Soutenance :** 24 mai 2023

**Titre de la Thèse :** Pertinence de la recherche d'anomalies moléculaires rares dans le mélanome pan-négatif en pratique courante.

**Thèse - Médecine - Lille 2023**

**Cadre de classement :** Dermatologie et Vénérologie

**DES + FST ou option :** Dermatologie et Vénérologie, FST Cancérologie

**Mots-clés :** Mélanome, transcrit de fusion, inhibiteur de RAF

**Résumé :**

**Contexte :** Les mélanomes pan-négatifs (c'est-à-dire sans altération de la voie MAPK et C-kit sauvage) représentent 30 % des mélanomes. En cas d'échec de l'immunothérapie, les options thérapeutiques sont limitées. Les fusions d'oncogènes représentent une cible d'intérêt dans de nombreux cancers solides. Dans le mélanome, la fréquence des fusions d'oncogènes n'est pas bien documentée et n'est pas systématiquement étudiée. Se pose également la question d'une sanction thérapeutique potentielle en présence d'une fusion dans le mélanome.

**Matériel et Méthodes :** Nous avons mené une étude rétrospective monocentrique. L'objectif était de déterminer la fréquence des fusions d'oncogènes détectées par séquençage d'ARN (Archer Fusion pLex) réalisé en pratique courante, chez des patients atteints d'un mélanome pan négatif avancé ou métastatique. Les données sur les caractéristiques cliniques, pathologiques et moléculaires et les résultats des patients ont été recueillies. En parallèle, une recherche d'altération moléculaire étendue a été réalisée à l'aide d'un NGS (panel OncoMine Comprehensive Assay v3).

**Résultats :** Au total, 59 patients ont été inclus dans l'étude. Il y avait 30 hommes et 29 femmes avec un âge moyen de 61,8 ans. 71,1 % des patients inclus présentaient un mélanome cutané et 15,2 % un mélanome muqueux. En raison d'un manque de matériel tumoral disponible, une recherche de transcrits de fusion a été effectuée pour 51 patients. Un transcrit de fusion RAF a été identifié chez 9 patients, soit 17,6 % des patients analysés. 7 patients avaient des transcrits de fusion BRAF et 2 des transcrits de fusion RAF1. Simultanément, une vaste étude moléculaire a été réalisée. 6 patients porteurs d'un gène de fusion ont pu bénéficier d'une analyse moléculaire étendue (analyse OCA). Il n'y avait pas chez ces patients de co-altérations moléculaires. Parmi les patients sans fusion RAF, 45 patients ont bénéficié d'une analyse OCA. Les altérations moléculaires les plus fréquentes étaient les mutations NF1 dans 22 % des cas. Tous les patients avec une fusion RAF ont reçu un traitement de première ligne avec des ICI. Le taux de réponse objective était de 88,8 % (8/9). La durée médiane de réponse était de 8 mois. Pour les 5 patients ayant progressé sous ICI, une thérapie ciblée a été introduite. 3 de ces patients ont reçu un inhibiteur de MEK seul et 2 patients ont reçu une combinaison d'inhibiteurs de RAF/MEK. Le taux de réponse était de 20%. Aucune réponse n'a été observée sous thérapie ciblée pour les patients avec une fusion BRAF.

**Conclusion :** Nos résultats ont montré que, dans une population sélectionnée de patients atteints de mélanome pan-négatif, des transcrits de fusion BRAF et RAF1 étaient détectables en pratique clinique. L'identification de ces fusions pourrait aider à orienter les patients vers des essais thérapeutiques spécifiques.

**Composition du Jury :**

**Président :** Monsieur le Professeur Laurent Mortier

**Assesseurs :** Madame le Professeur Delphine Staumont, Monsieur le Professeur Alexis Cortot, Madame le Docteur Clotilde Descarpentries

**Directeur :** Monsieur le Docteur Philippe Jamme

