

Maligní melanom

- **Kodet O., Lacina L., Dvořánková B., Kolář M., Krejčí E., Grim M., Strnad H., Smetana K. Jr.**

Dermatovenerologická klinika 1. LF UK a VFN

Přednosta: prof. MUDr. J. Štork, CSc.

Anatomický ústav 1. LF UK

Přednosta: prof. MUDr. K. Smetana, Jr., DrSc.

BIOCEV - Biotechnologické a biomedicínské centrum
Akademie věd a Univerzity Karlovy ve Vestci

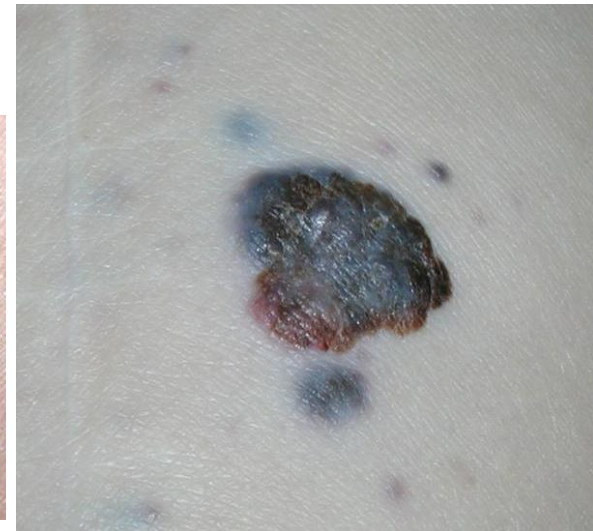
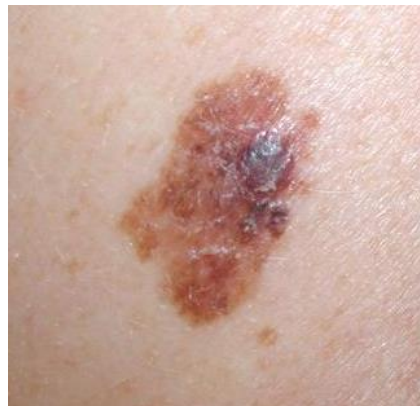


BIOCEV



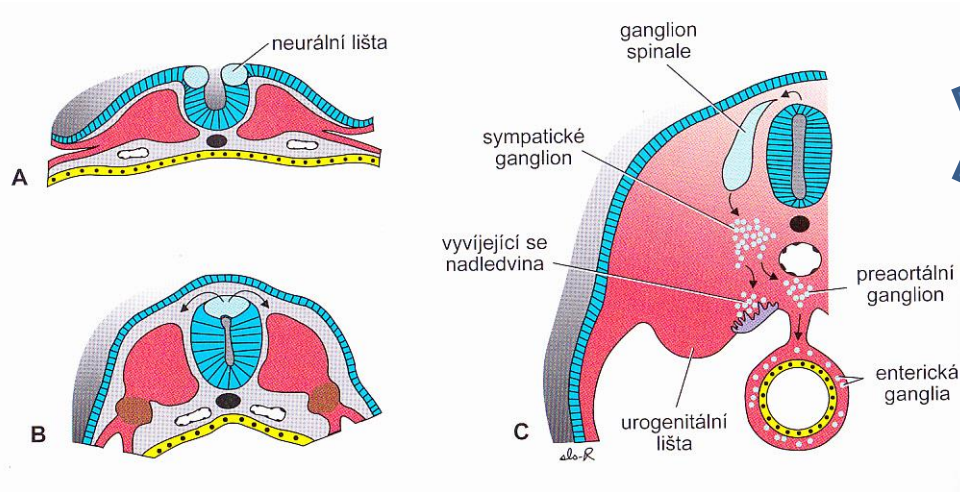
Maligní melanom

- Incidence v ČR 24,74/100 tis. obyvatel (SZÚ, UZIS, 2017//2015).
- Alarmující je zvyšující se výskyt u mladších jedinců.
- Velice špatná prognóza pacientů především při metastatickém postižení.

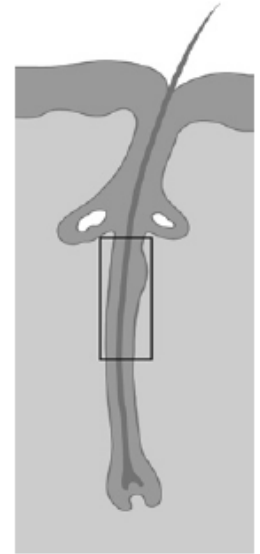


Vývoj zdravých melanocytů

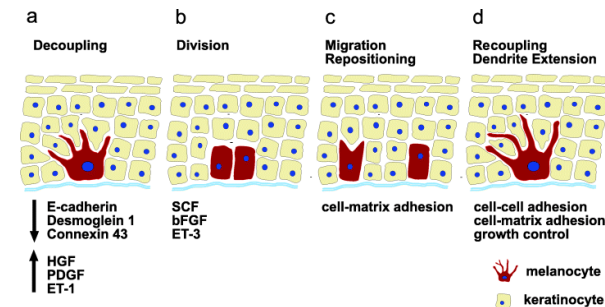
Buňky pocházející z neurální lišty - neuroektoderm
Během migrace z neurální lišty prodělávají epitelově-mezenchymový přechod.



Sadler et al.: *Langmanova lékařská embryologie* (2010)



Krejčí et al.: *Folia biologica* (2010)



Nikolas K. et al.: *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings* (2005)

Etiologie

- SVĚTLÝ FOTOTYP – I a II
- UV EXPOZICE NÁRAZOVÁ/CHRONICKÁ
(slunce, solária, iatrogenní – fototerapie)
- Pozitivní OA nebo RA
- FAMILIÁRNÍ 10% (AD, CDKN₂A a p16; CDK₄, HLA asociace)
- XERODERMA PIGMENTOSUM
- Četné pigmentové névy (>100), velké kongenitální névy, dysplastické névy

Vznik de novo nebo z névu – 80% vs 20%

Fototyp

Fototyp	Vzhled	Reakce na slunce
Fototyp I	Nápadně světlá pleť, rezavé vlasy, velké množství pih, modré oči.	Při pobytu na slunci se prakticky vždy spálí, opálí se jen do červena, kůže nezhnědne.
Fototyp II	Světlá pleť, pihy řídké, světlé vlasy, modré, zelené či šedé oči.	Opalují se do červena, často se spálí.
Fototyp III	Světle hnědá pleť, hnědé až tmavé vlasy, hnědé oči	Dobře se opalují, málokdy se spálí, spálení mírné.
Fototyp IV	Tmavá pleť, velmi tmavé vlasy i oči.	Prakticky nikdy se nespálí.
Fototyp V	Velmi tmavá kůže, tmavé až černé vlasy (kůže indiánů či arabské populace).	Nikdy se nespálí.
Fototyp VI	Nejtmavší typ.	Nikdy se nespálí.

Kožní fototyp	Charakteristika	Reakce kůže na slunce*	Hranice zčervenání kůže bez ochrany
I	 velmi světlá kůže, rezavé vlasy, pihy	vždy se spálí, někdy se opálí do červena, nikdy nepigmentuje	10 minut
II	 světlá kůže, světlé vlasy	vždy se opálí do červena, někdy slabě pigmentuje	10 – 20 minut
III	 středně světlá kůže, hnědé až tmavé vlasy	někdy se opálí do červena, zřídka se spálí, vždy pigmentuje	20 – 30 minut
IV	 tmavá kůže, tmavé vlasy	nikdy se nespálí, velmi dobře pigmentuje	45 minut

Expozice UV záření:
intermitentní vs
dlouhodobá vs
chronická

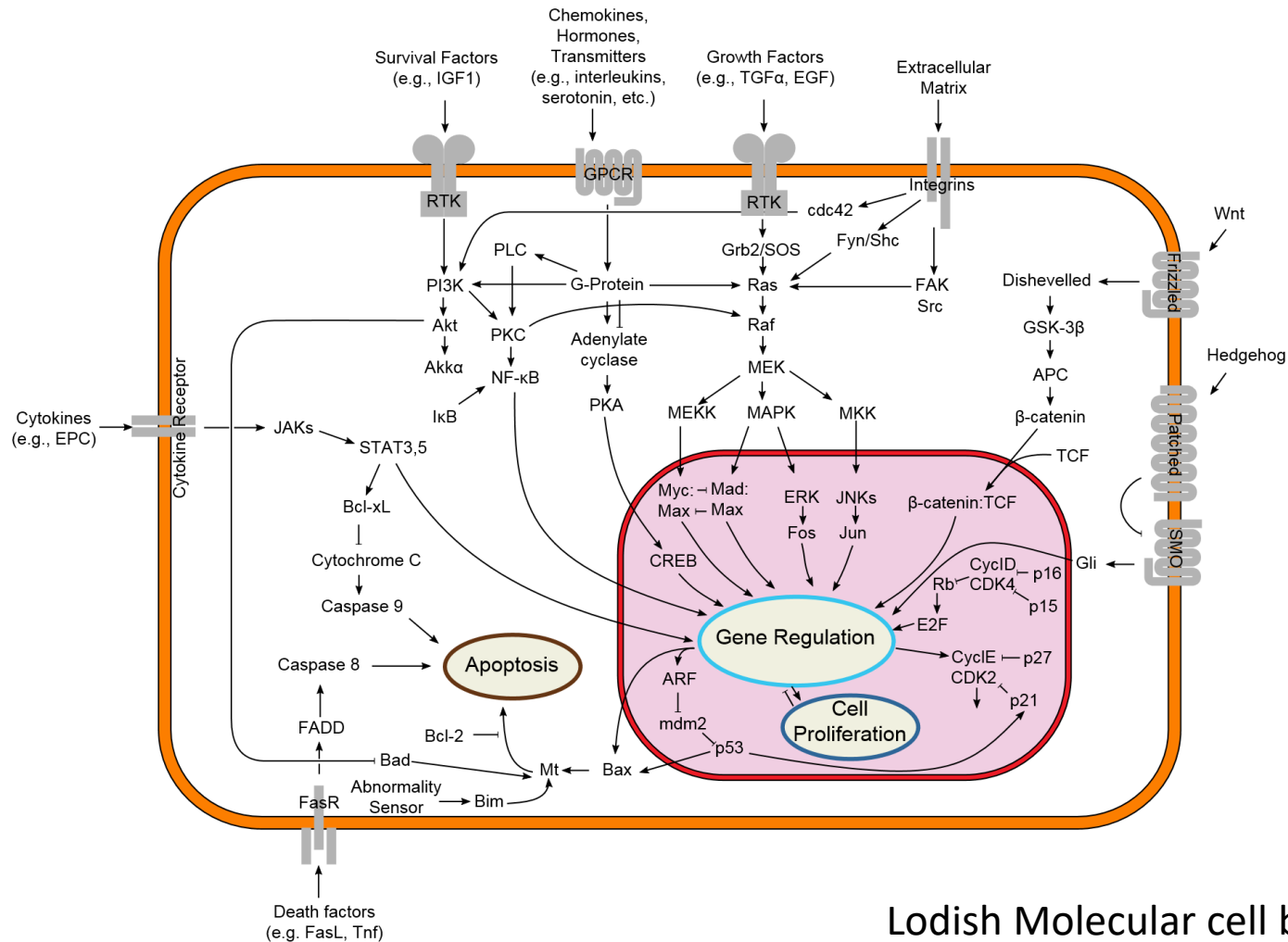
CDKN₂A a p16

Familiární melanom

- Inhibitor 2A cyklin dependetní kinázy, chrom.9
 - Gen pro protein p16 a p14arf; tumor supresorový gen
 - Druhý nejčastější mutovaný gen v nádorové biologii, po p53.
 - 26% mutovaných melanomů
 - Familiární melanom, glioblastom, ca pankreatu
 - 20-30% riziko melanomu v další generaci

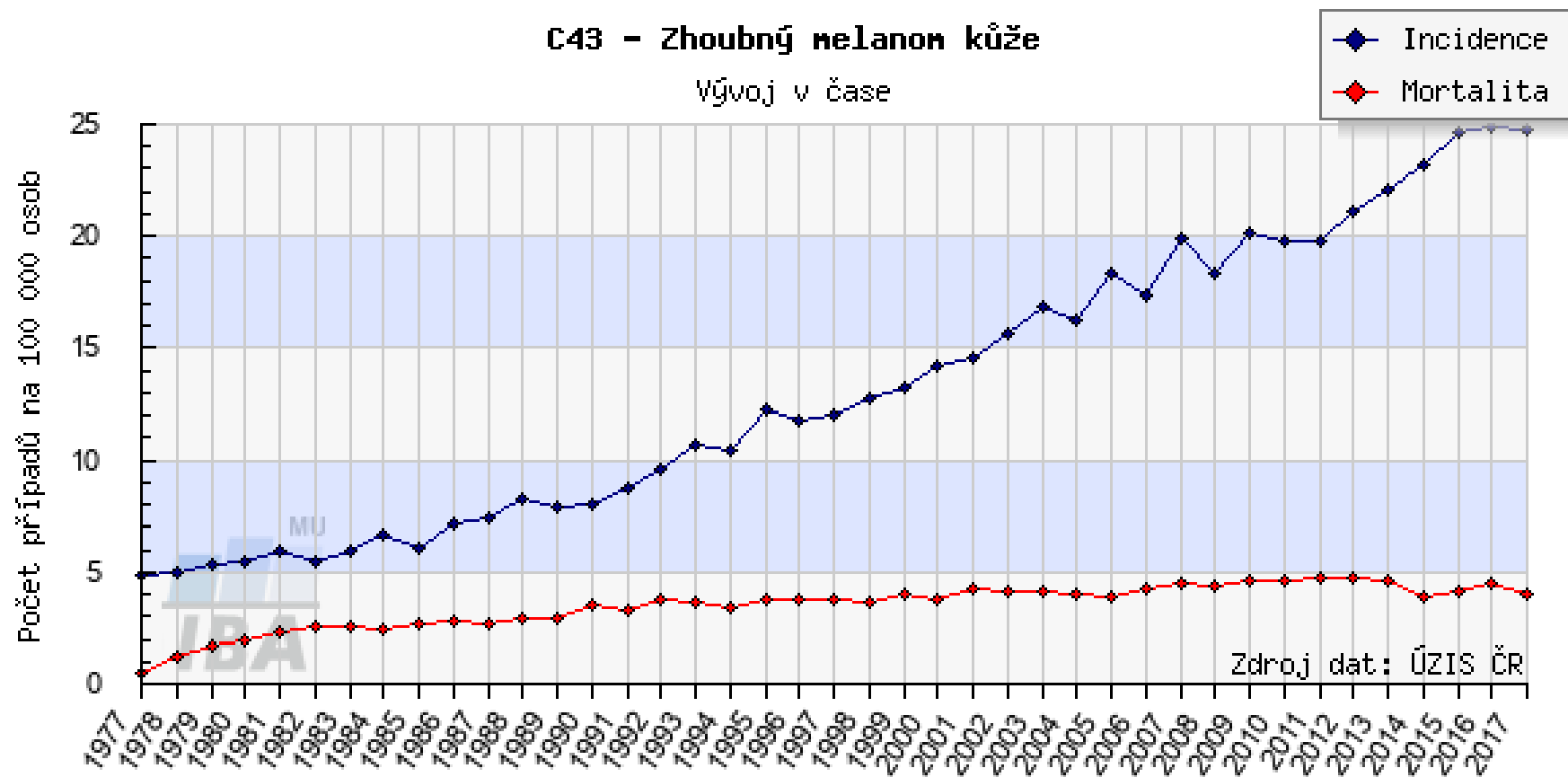
CDK₄

- Serin/threonin protein kináza
- Inhibována p16
- Uplatňuje se v řadě nádorových onemocnění včetně melanomu.



C43 - Zhoubný melanom kůže

Vývoj v čase

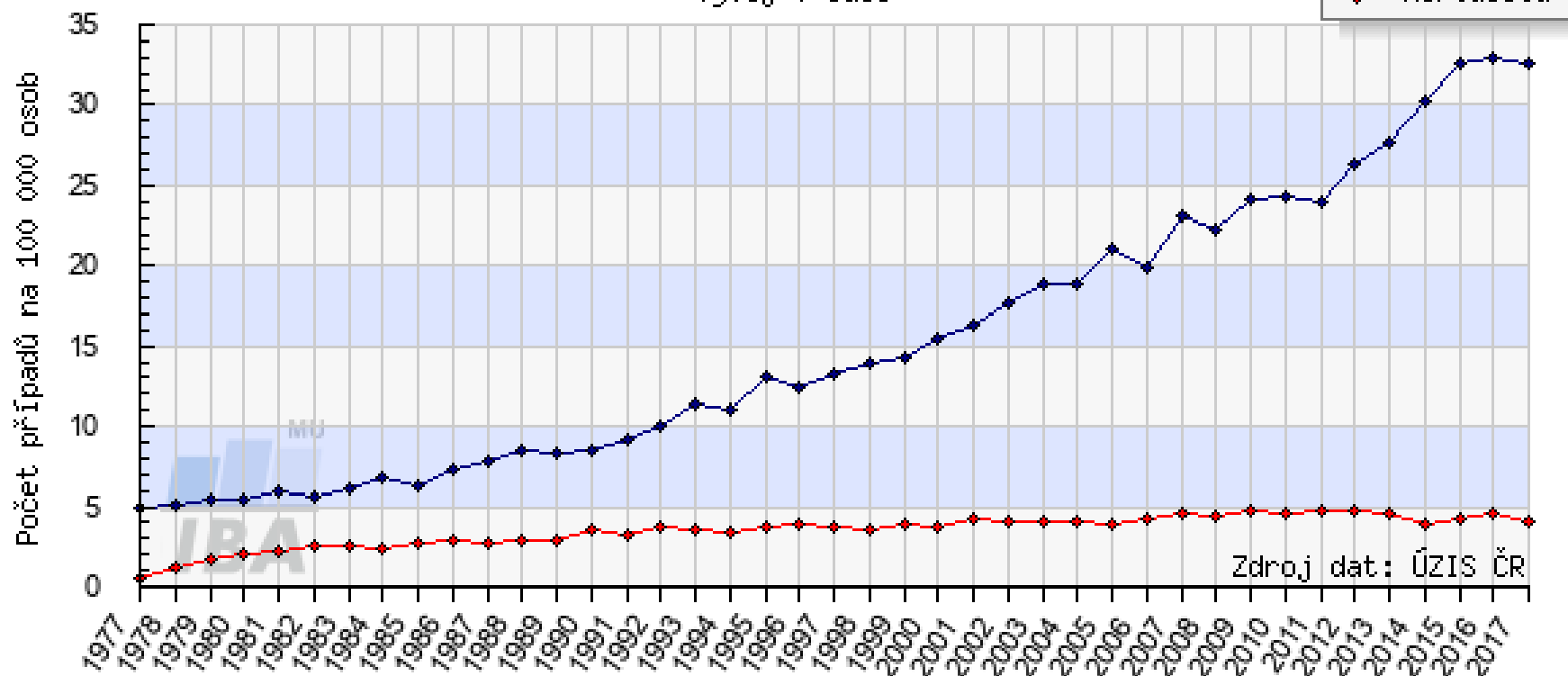


Analyzovaná data: N(inc)=56372, N(mor)=14785

<http://www.svod.cz>

C43,D03 - Melanon kůže

Vývoj v čase

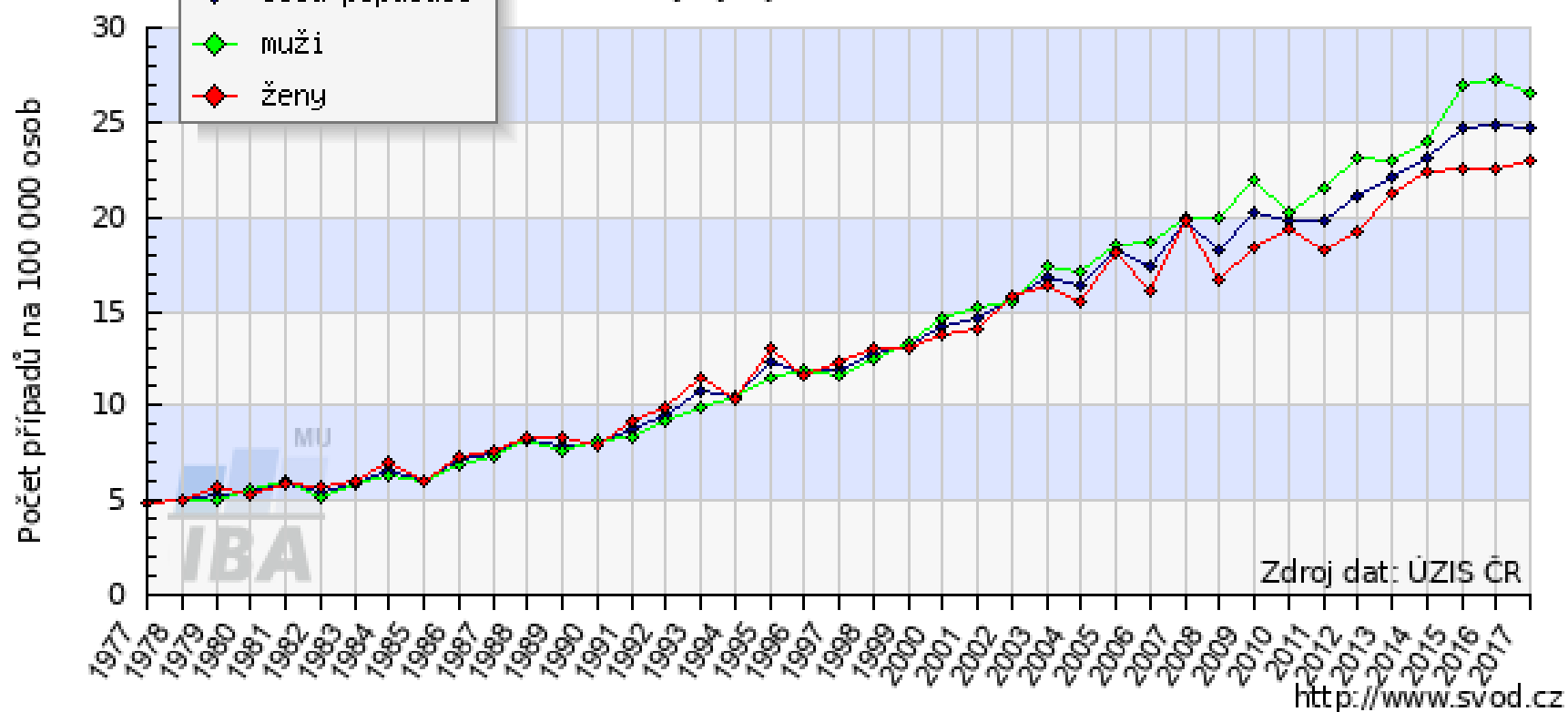


Analyzovaná data: N(inc)=65327, N(mor)=14867

<http://www.svod.cz>

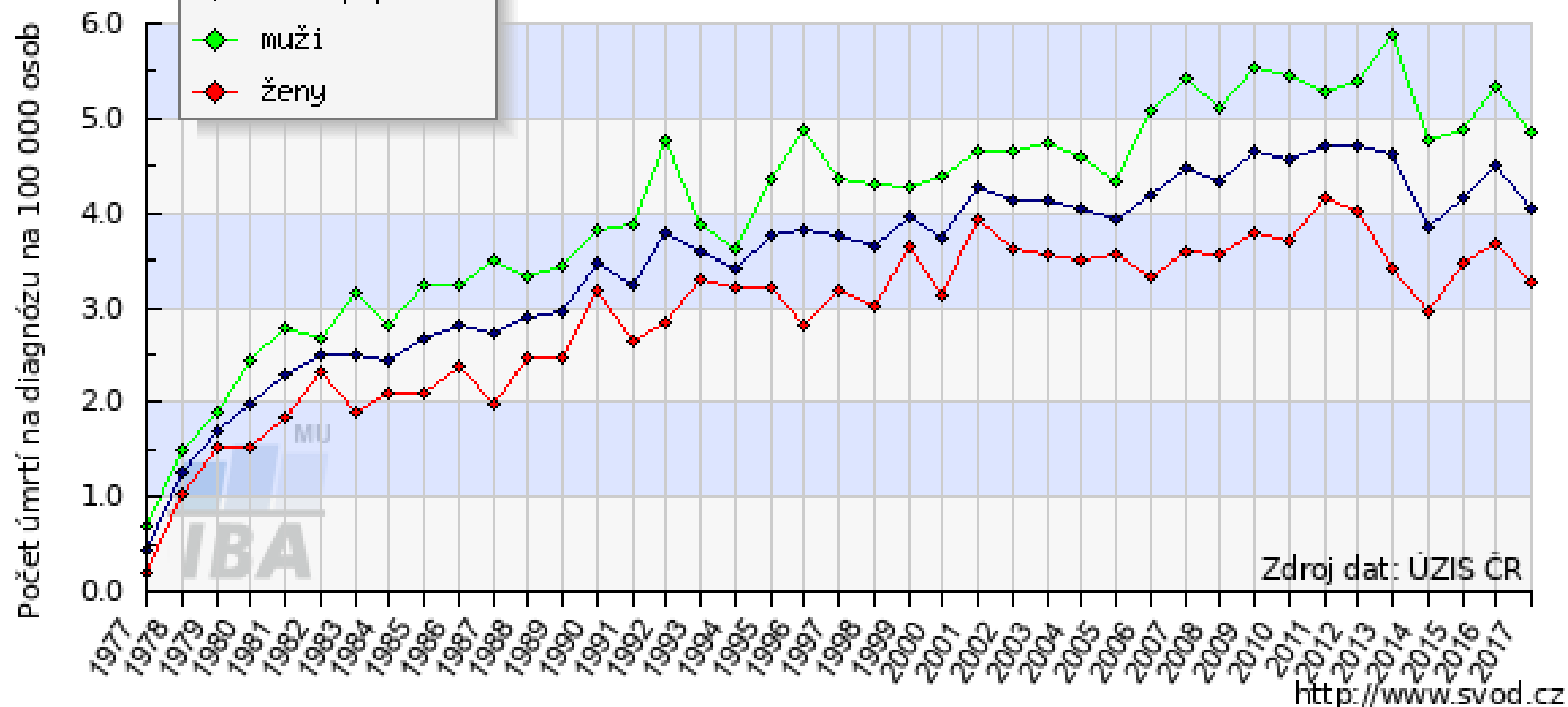
C43 - Zhoubný melanom kůže

časový vývoj hrubé incidence



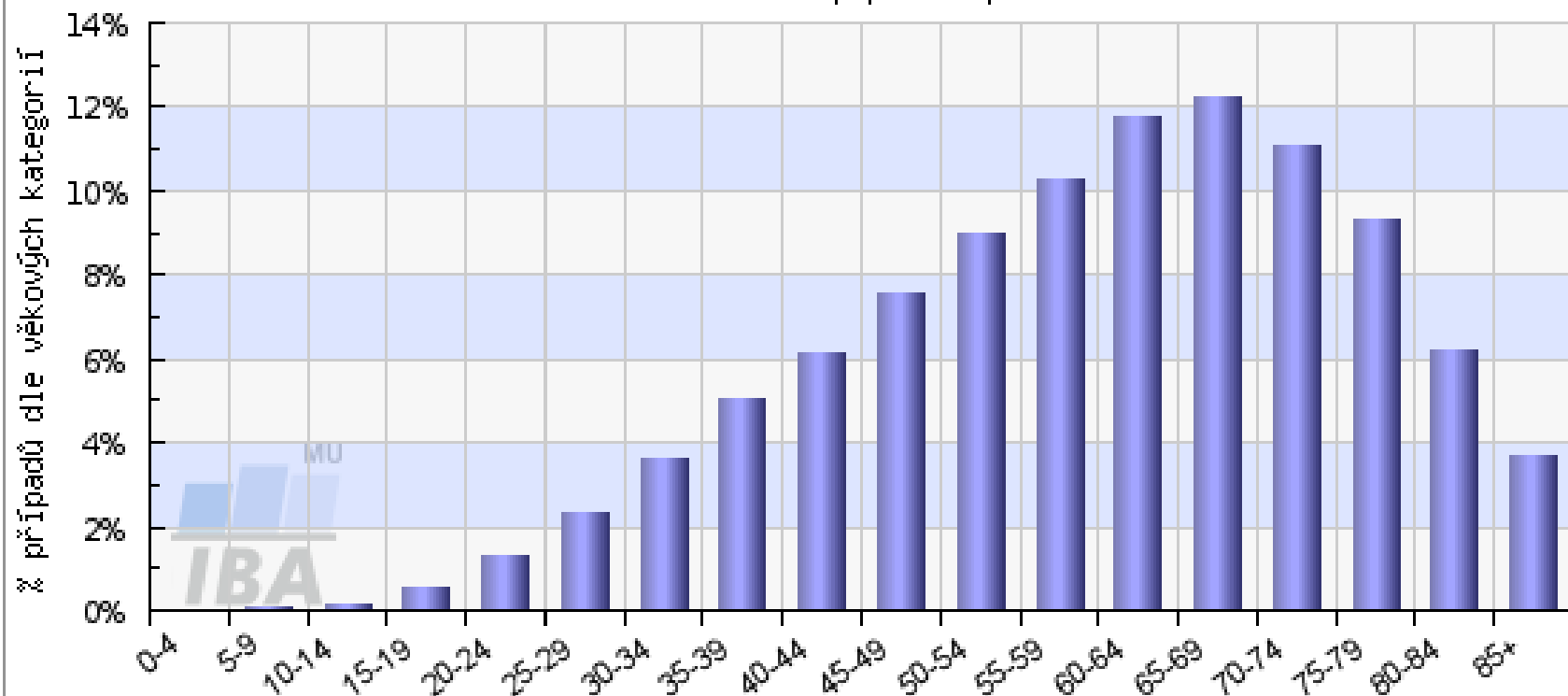
C43 - Zhoubný melanom kůže

časový vývoj hrubé mortality



C43,D03 - Melanom kůže - Incidence

věková struktura populace pacientů

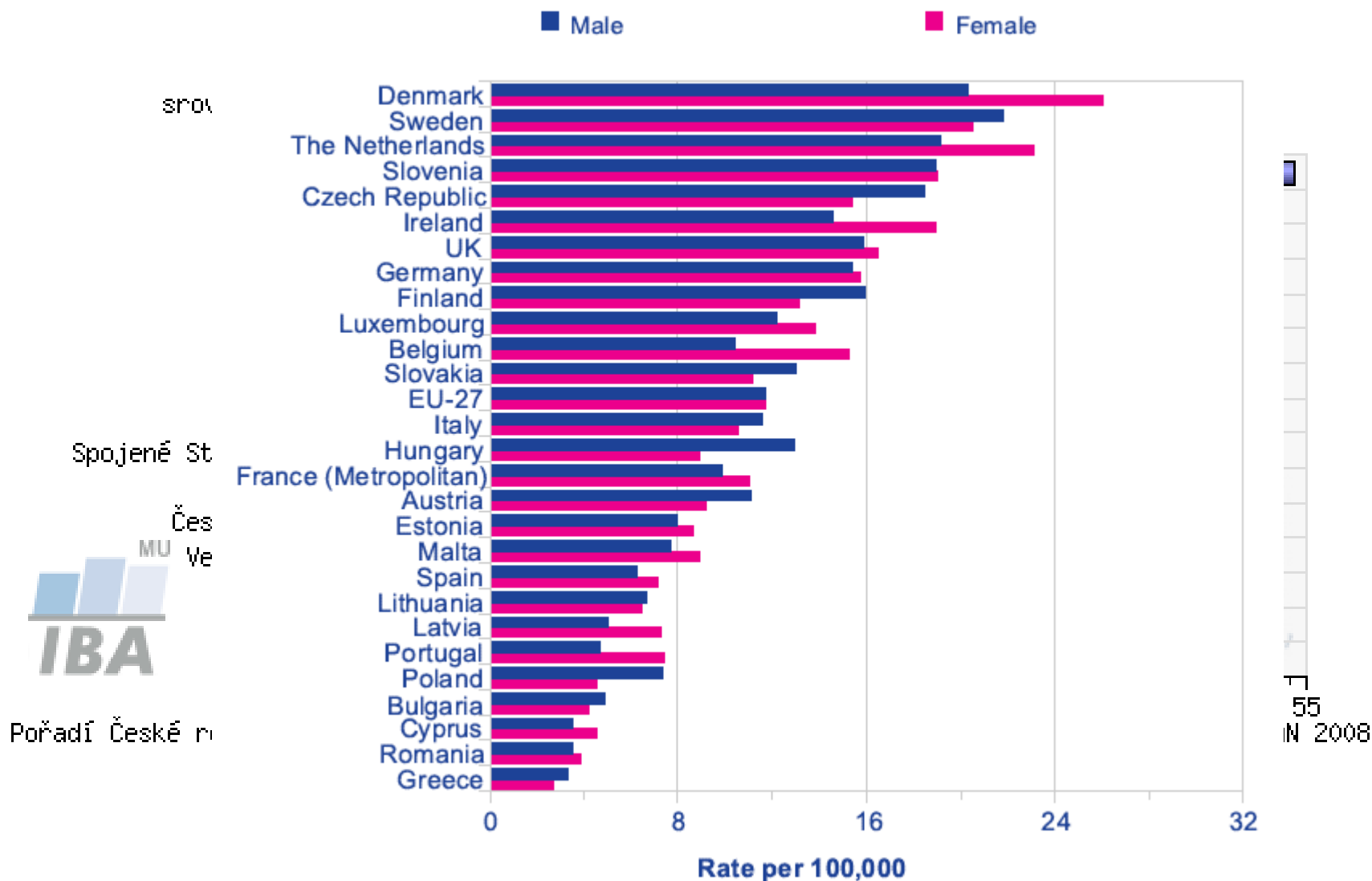


Analyzovaná data: N=58313

<http://www.svod.cz>

Zdroj dat: ÚZIS ČR

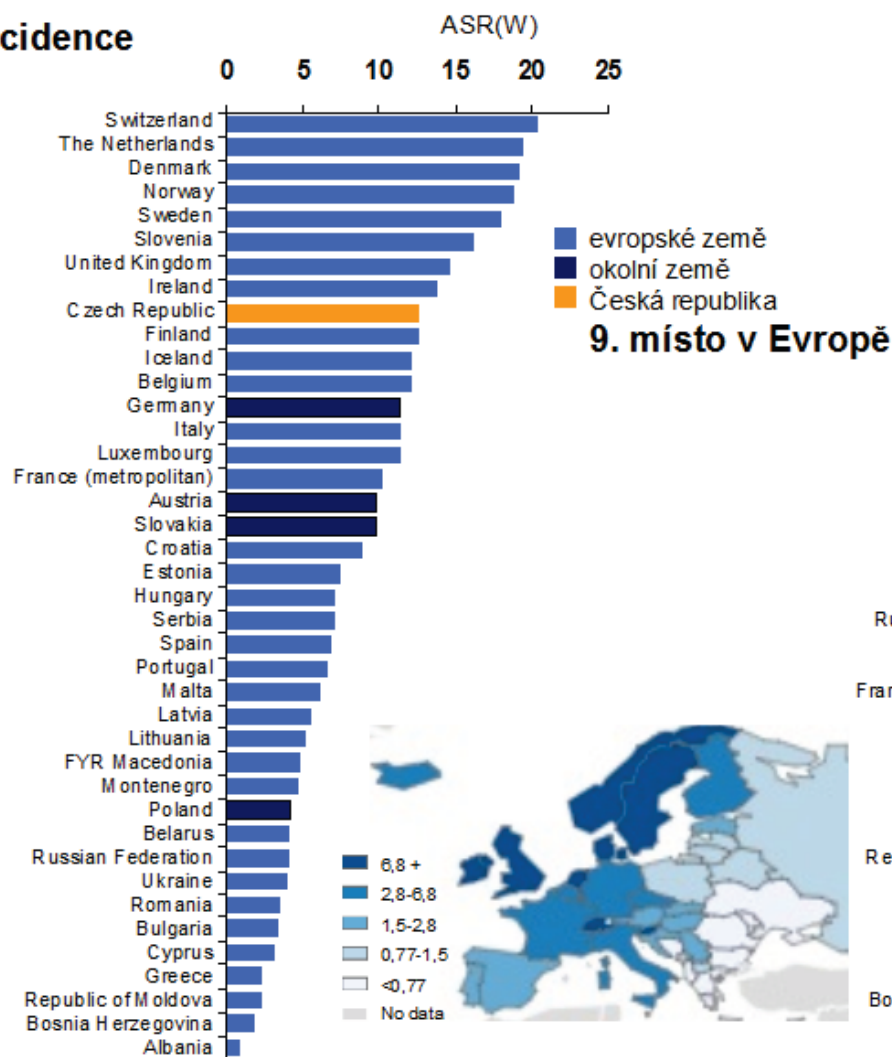
(SZÚ, UZIS, 2017, Incidence 24,74 / 100 tis. obyvatel; Mortalita 4,08)



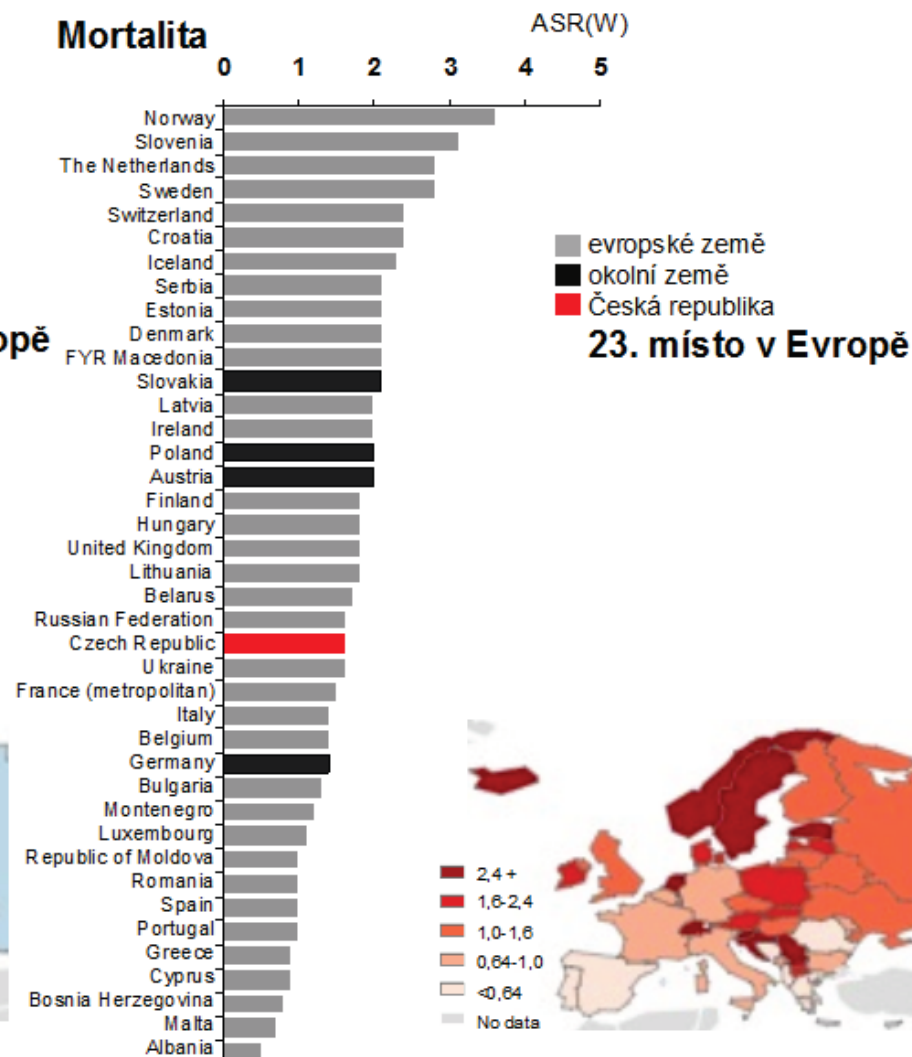
(SZÚ, UZIS, GLOBOCAN, 2008)

C43: Incidence a mortalita v Evropě, predikce 2012

Incidence



Mortalita



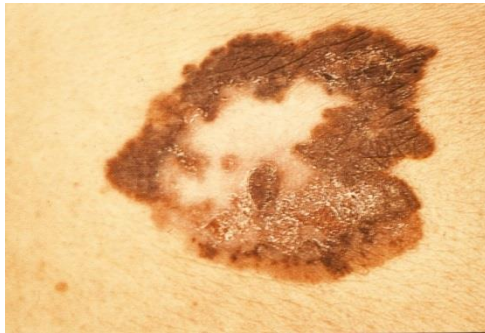
ASR(W): počet na 100 000 osob, standardizováno na světový věkový standard

Zdroj: Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray, F. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2013. Available from: <http://globocan.iarc.fr>, accessed on 15/4/2015.

(SZÚ, UZIS, GLOBOCAN, 2013)

Klinické varianty maligního melanomu

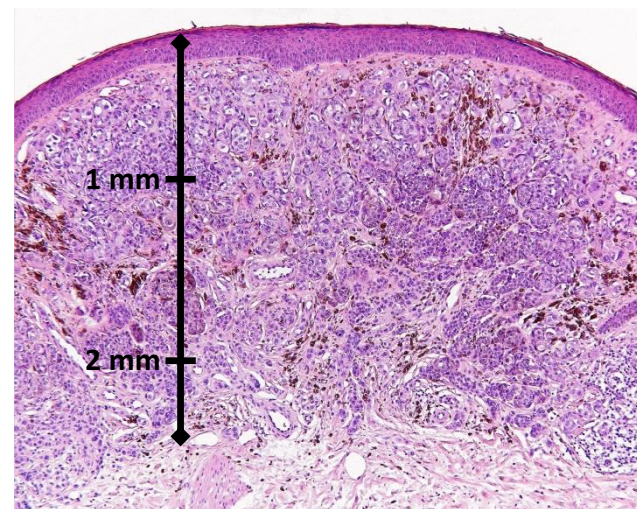
- Lentigo maligna melanom/Melanoma in situ
- Superficiálně se šířící maligní melanom
- Nodulární maligní melanom
- Akrolentiginózní maligní melanom



Primární léčba – vždy chirurgická radikální excize

Chirurgická léčba a korelace s hodnotou Breslowa

- Barvení: H&E; elastika
- Breslow: v mm (1970)

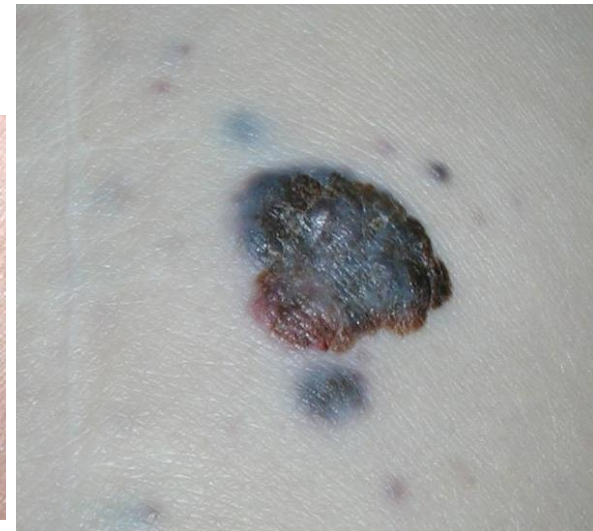
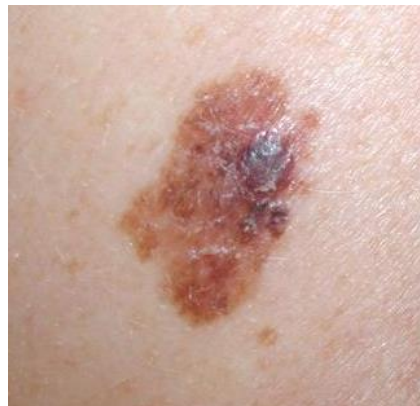


Klasifikace podle Breslowa doplněna o dobu přežívání a doporučený chirurgický lem zdravé tkáně/kůže. Převzato dle (Balch et al., 2001; Shenenberger, 2012)

Klinické stádium	Hloubka invaze/Breslow	5-leté přežívání	Doporučený chir. lem
I	$\leq 1,0$ mm	95-100%	5 mm
II	1,01-2,0 mm	80-96%	15 mm
III	2,01-4,0 mm	60-75%	20 mm
IV	$4,01$ mm $\leq$	50%	20 mm

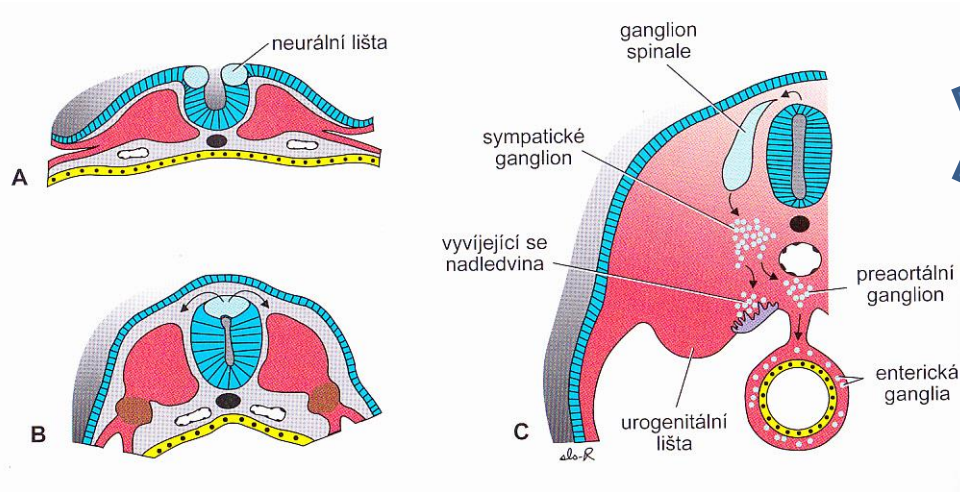
Maligní melanom

- Incidence v ČR 24,74/100 tis. obyvatel (SZÚ, UZIS, 2017//2015).
- Alarmující je zvyšující se výskyt u mladších jedinců.
- Velice špatná prognóza pacientů především při metastatickém postižení.

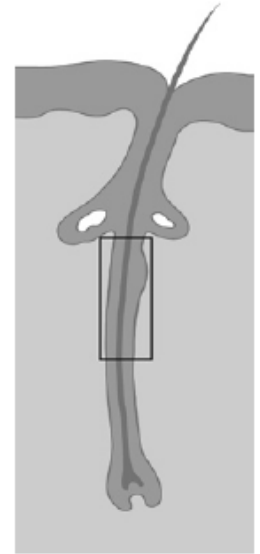


Vývoj zdravých melanocytů

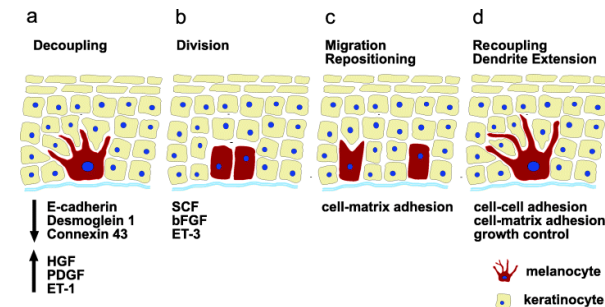
Buňky pocházející z neurální lišty - neuroektoderm
Během migrace z neurální lišty prodělávají epitelově-mezenchymový přechod.



Sadler et al.: *Langmanova lékařská embryologie* (2010)



Krejčí et al.: *Folia biologica* (2010)



Nikolas K. et al.: *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings* (2005)

Etiologie

- SVĚTLÝ FOTOTYP – I a II
- UV EXPOZICE NÁRAZOVÁ/CHRONICKÁ
(slunce, solária, iatrogenní – fototerapie)
- Pozitivní OA nebo RA
- FAMILIÁRNÍ 10% (AD, CDKN₂A a p16; CDK₄, HLA asociace)
- XERODERMA PIGMENTOSUM
- Četné pigmentové névy (>100), velké kongenitální névy, dysplastické névy

Vznik de novo nebo z névu – 80% vs 20%

Fototyp

Fototyp	Vzhled	Reakce na slunce
Fototyp I	Nápadně světlá pleť, rezavé vlasy, velké množství pih, modré oči.	Při pobytu na slunci se prakticky vždy spálí, opálí se jen do červena, kůže nezhnědne.
Fototyp II	Světlá pleť, pihy řídké, světlé vlasy, modré, zelené či šedé oči.	Opalují se do červena, často se spálí.
Fototyp III	Světle hnědá pleť, hnědé až tmavé vlasy, hnědé oči	Dobře se opalují, málokdy se spálí, spálení mírné.
Fototyp IV	Tmavá pleť, velmi tmavé vlasy i oči.	Prakticky nikdy se nespálí.
Fototyp V	Velmi tmavá kůže, tmavé až černé vlasy (kůže indiánů či arabské populace).	Nikdy se nespálí.
Fototyp VI	Nejtmavší typ.	Nikdy se nespálí.

Kožní fototyp	Charakteristika	Reakce kůže na slunce*	Hranice zčervenání kůže bez ochrany
I	 velmi světlá kůže, rezavé vlasy, pihy	vždy se spálí, někdy se opálí do červena, nikdy nepigmentuje	10 minut
II	 světlá kůže, světlé vlasy	vždy se opálí do červena, někdy slabě pigmentuje	10 – 20 minut
III	 středně světlá kůže, hnědé až tmavé vlasy	někdy se opálí do červena, zřídka se spálí, vždy pigmentuje	20 – 30 minut
IV	 tmavá kůže, tmavé vlasy	nikdy se nespálí, velmi dobře pigmentuje	45 minut

Expozice UV záření:
intermitentní vs
dlouhodobá vs
chronická

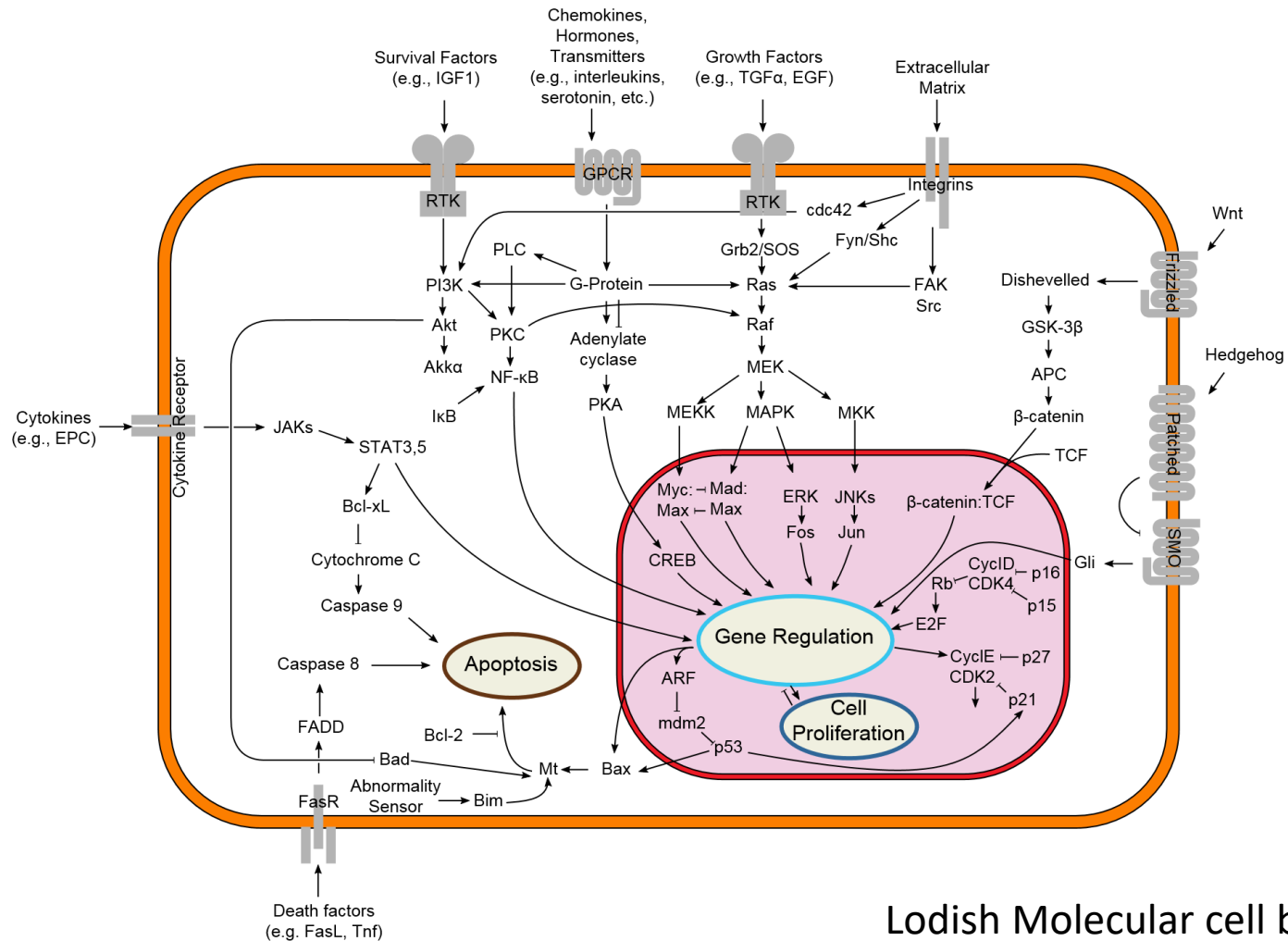
CDKN₂A a p16

Familiární melanom

- Inhibitor 2A cyklin dependetní kinázy, chrom.9
 - Gen pro protein p16 a p14arf; tumor supresorový gen
 - Druhý nejčastější mutovaný gen v nádorové biologii, po p53.
 - 26% mutovaných melanomů
 - Familiární melanom, glioblastom, ca pankreatu
 - 20-30% riziko melanomu v další generaci

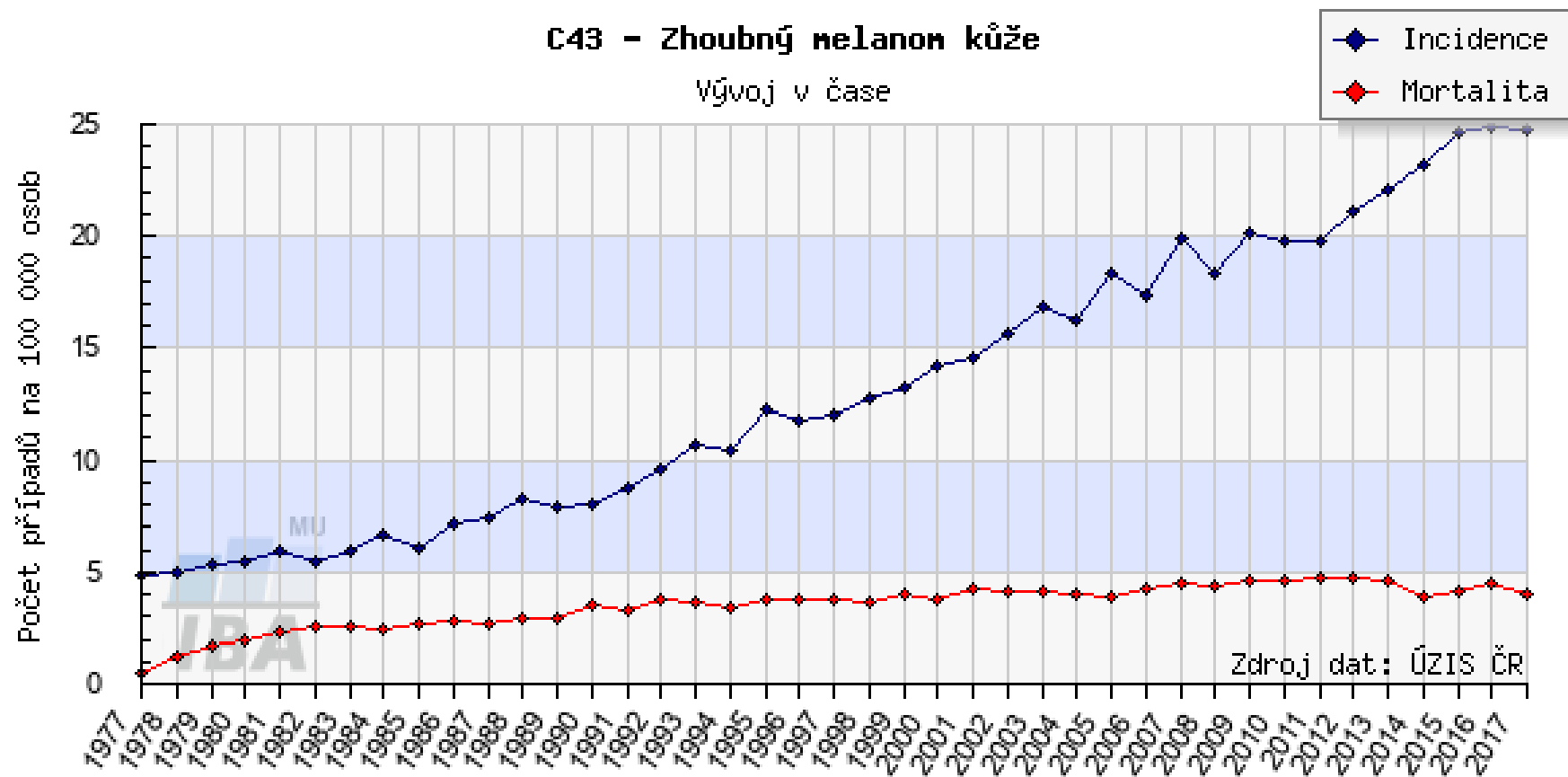
CDK₄

- Serin/threonin protein kináza
- Inhibována p16
- Uplatňuje se v řadě nádorových onemocnění včetně melanomu.



C43 - Zhoubný melanom kůže

Vývoj v čase

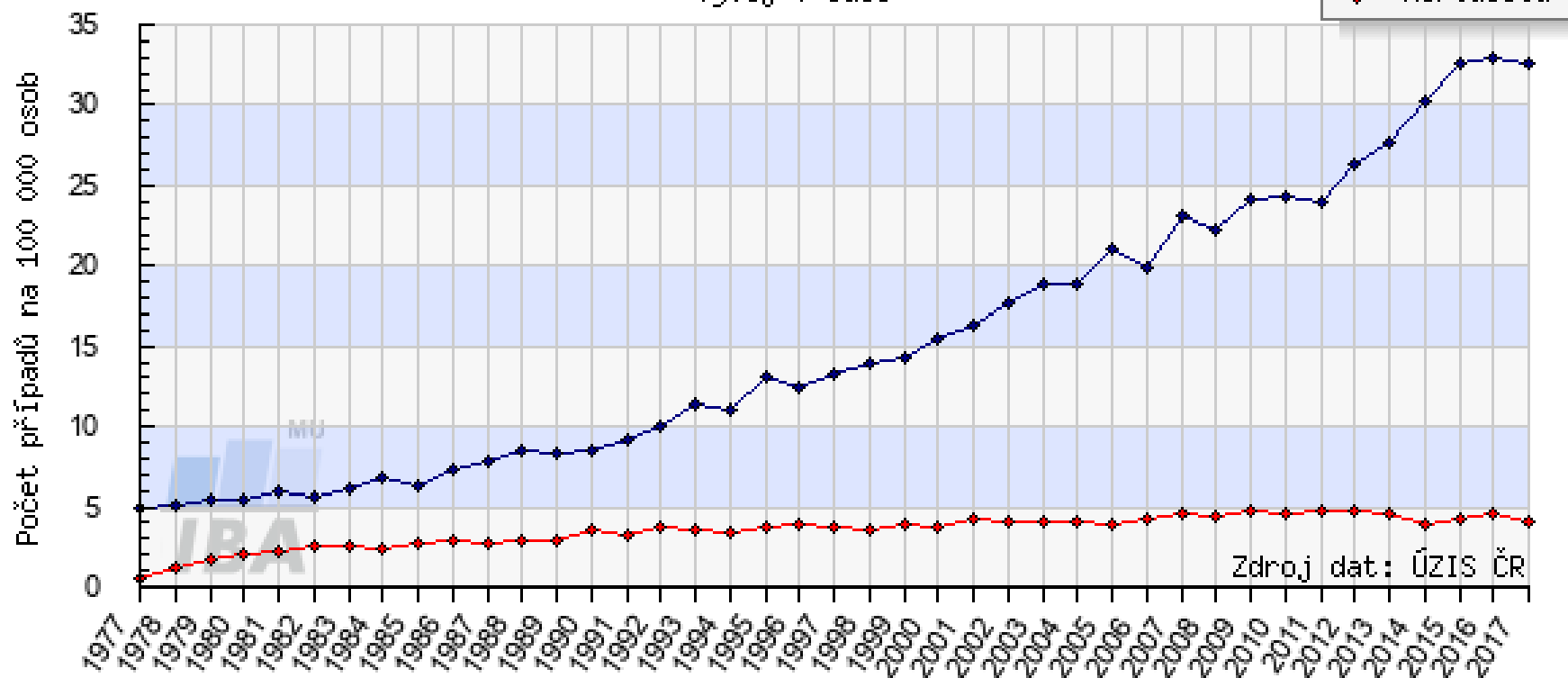


Analyzovaná data: N(inc)=56372, N(mor)=14785

<http://www.svod.cz>

C43,D03 - Melanon kůže

Vývoj v čase

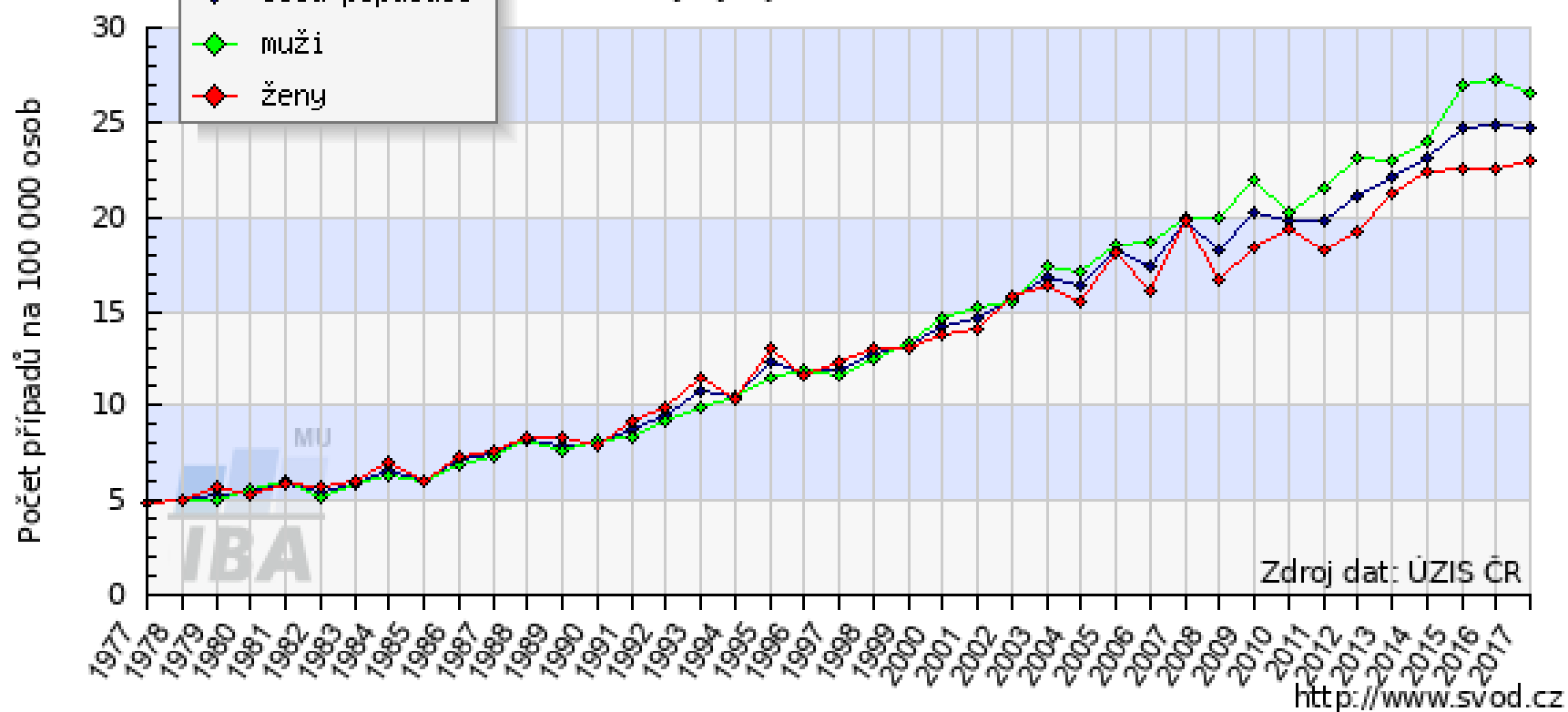


Analyzovaná data: N(inc)=65327, N(mor)=14867

<http://www.svod.cz>

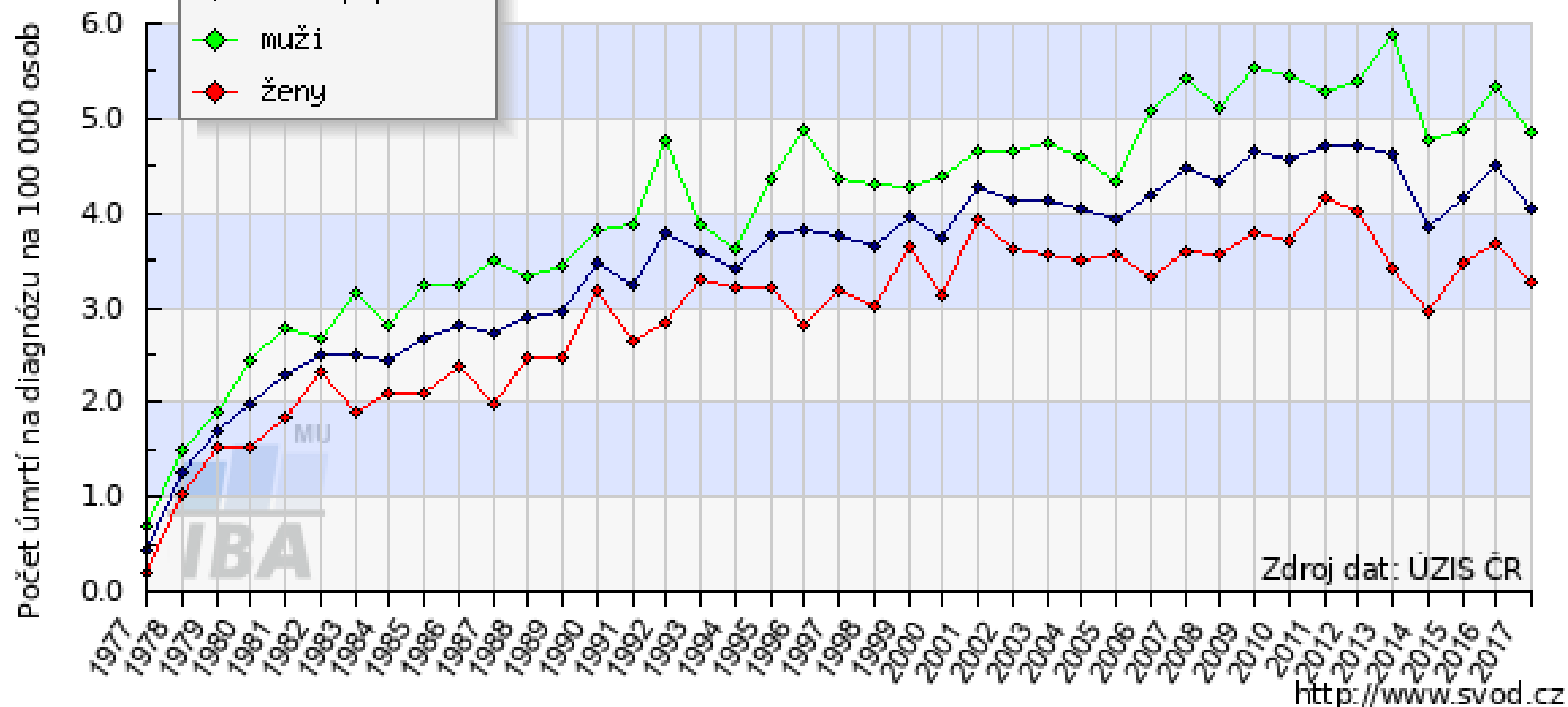
C43 - Zhoubný melanom kůže

časový vývoj hrubé incidence



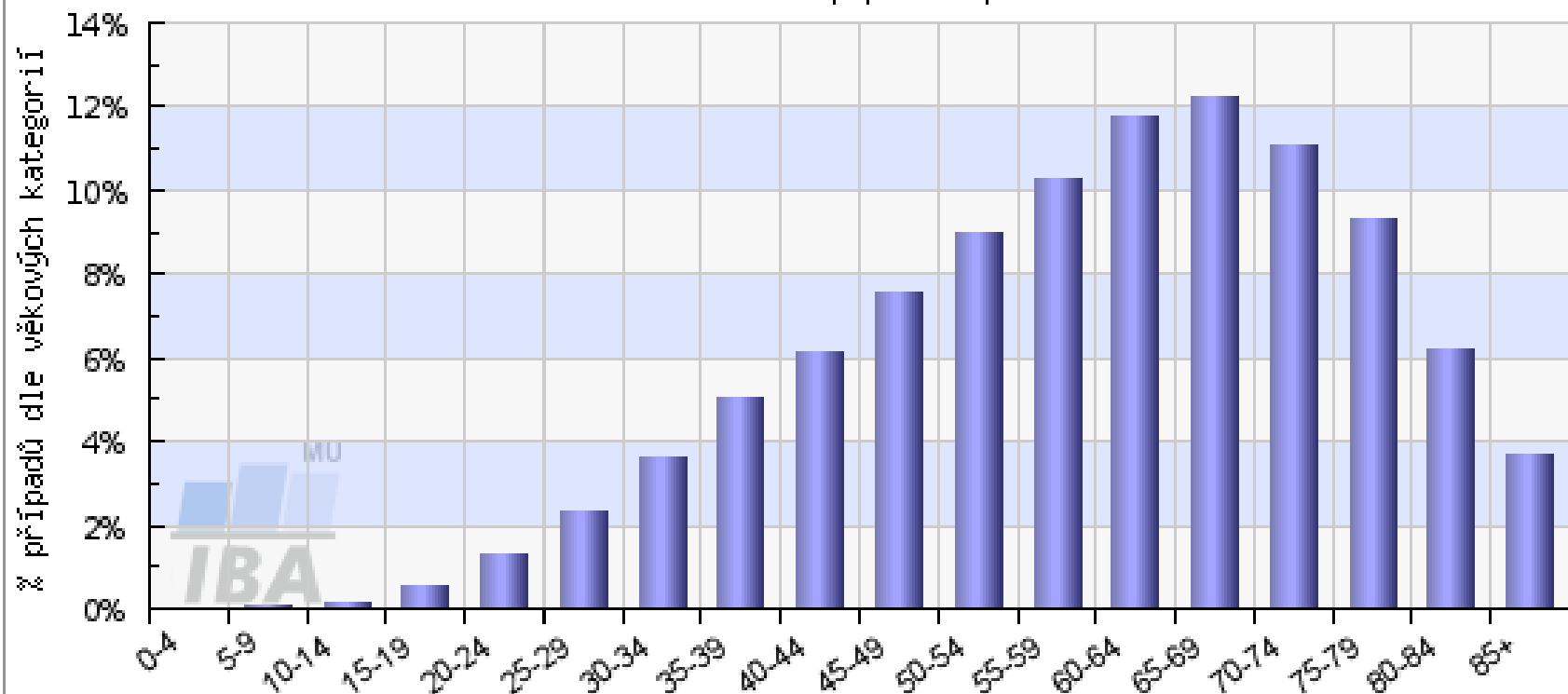
C43 - Zhoubný melanom kůže

časový vývoj hrubé mortality



C43,D03 - Melanom kůže - Incidence

věková struktura populace pacientů

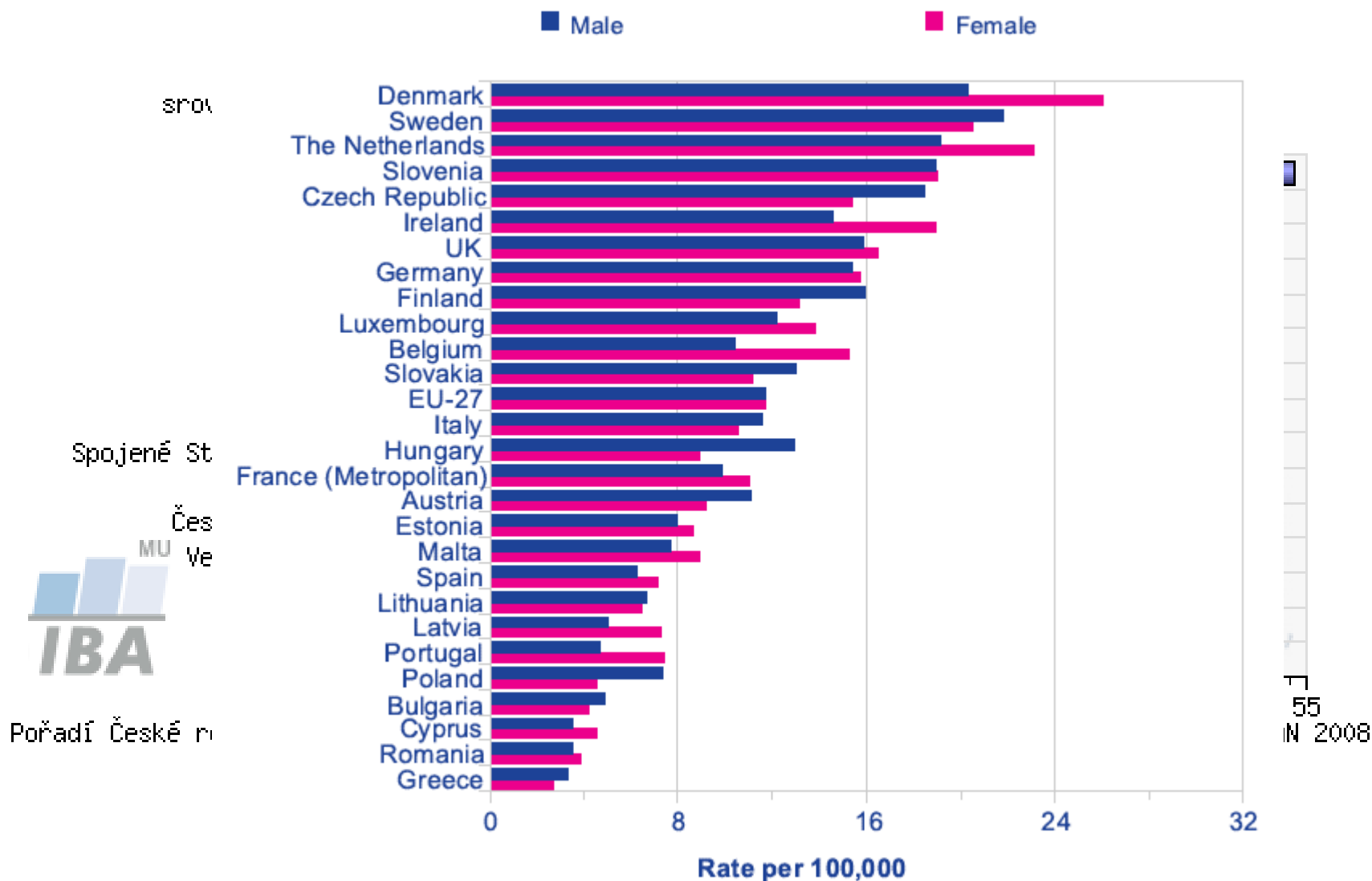


Analyzovaná data: N=58313

<http://www.svod.cz>

Zdroj dat: ÚZIS ČR

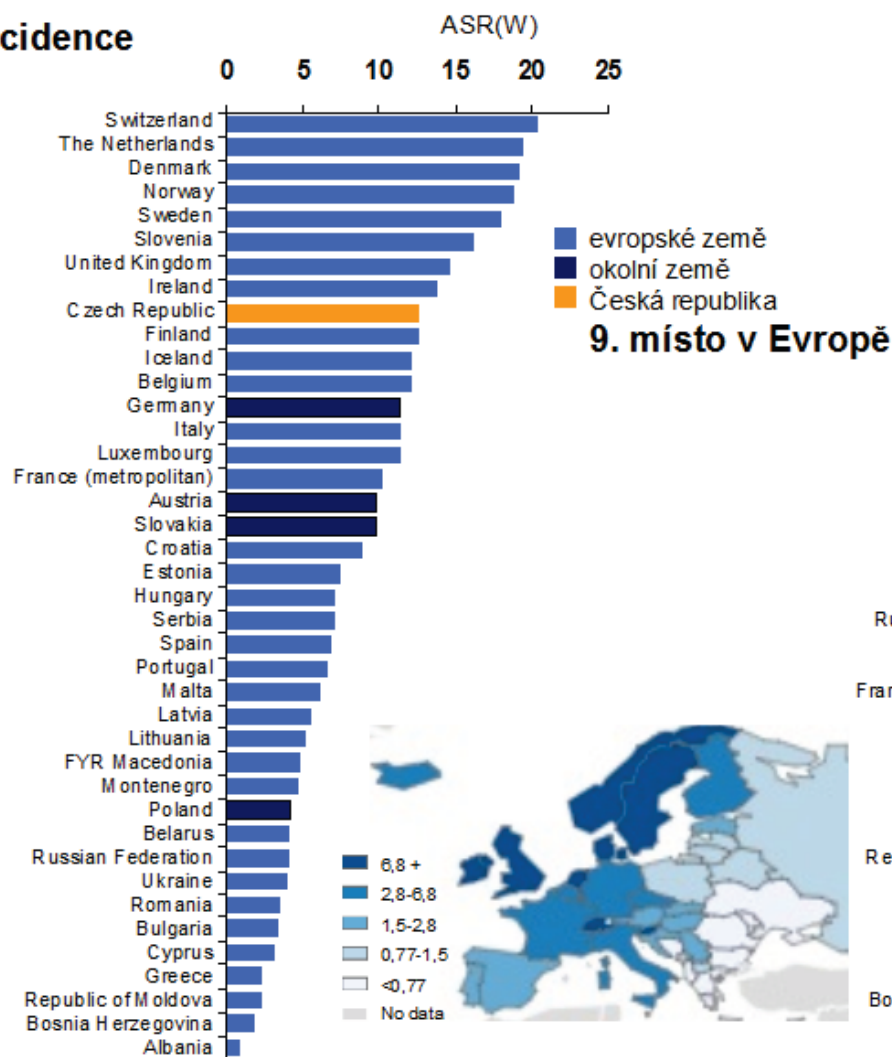
(SZÚ, UZIS, 2017, Incidence 24,74 / 100 tis. obyvatel; Mortalita 4,08)



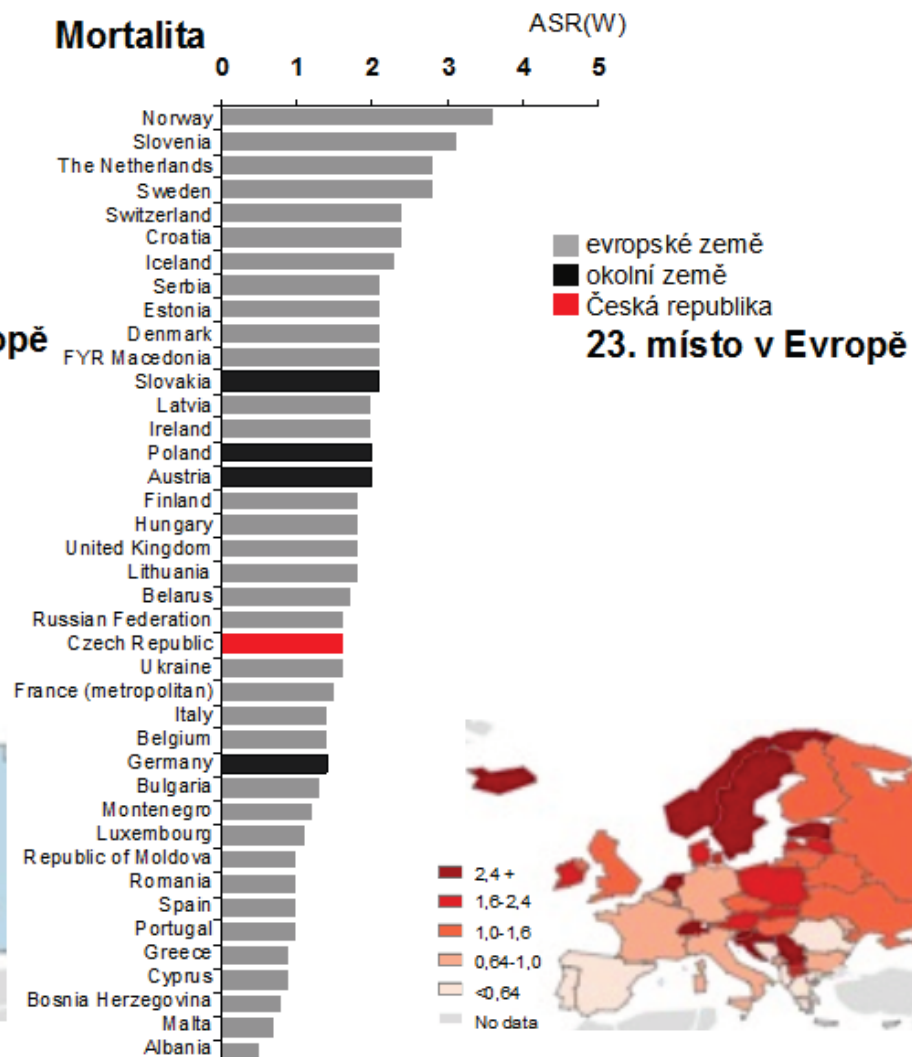
(SZÚ, UZIS, GLOBOCAN, 2008)

C43: Incidence a mortalita v Evropě, predikce 2012

Incidence



Mortalita



Zdroj: Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin DM, Forman D, Bray, F. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2013. Available from: <http://globocan.iarc.fr>, accessed on 15/4/2015.

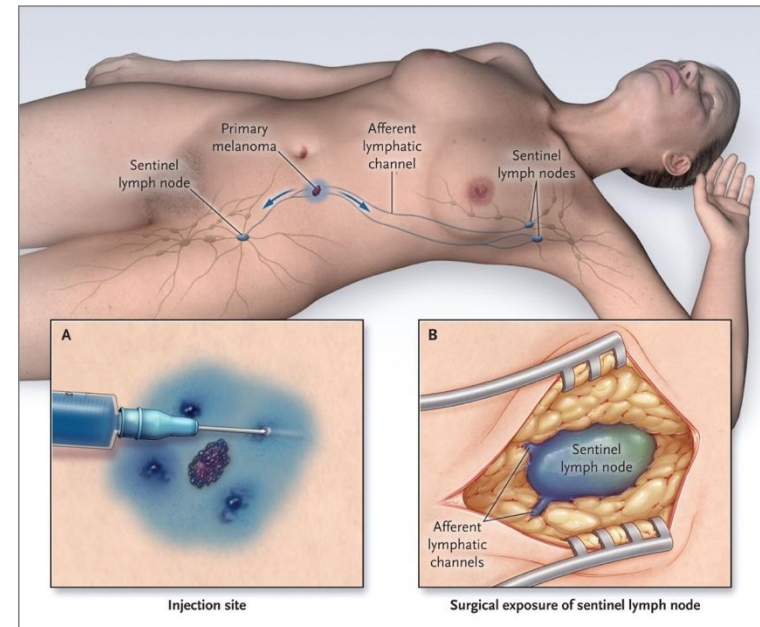
(SZÚ, UZIS, GLOBOCAN, 2013)

Primární léčba – chirurgická, vyšetření SLN

- Diagnostická excize/biopsie
- Všetření spádové uzliny – ^{99}Tc ; tol. modř

Krag et al. Minimal Access Surgery for Staging
Malignant Melanoma. Arch Surg 1995; 130: 654-658

- Provádí se stádiem IB a II (TNM klasifikace)



Ovlivní vyšetření SLN prognózu pacienta?

- Řada studií
- **MSLT-I studie:** pacienti se střední tloušťkou melanomu (Breslow 1,2-3,5 mm), kteří podstoupili širokou excizi a mapování SLN a v případě její positivity i radikální exenteraci, neměli **signifikantní** prodloužení intervalu přežití oproti pacientům, kteří podstoupili **pouze širokou excizi primárního ložiska** a teprve při klinickém manifestování postižení uzlin **radikální exenteraci**

Morton et al. Sentinel node biopsy for early-stage melanoma: accuracy and morbidity in MSLT-I, an international multicenter trial.
[Ann Surg.](#) 2005 Sep;242(3):302-11; discussion 311-3.

- **Vyšetření SLN přináší důležité informace ohledně „statingu“ onemocnění a následné dispenzární péče.**

The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

ESTABLISHED IN 1812

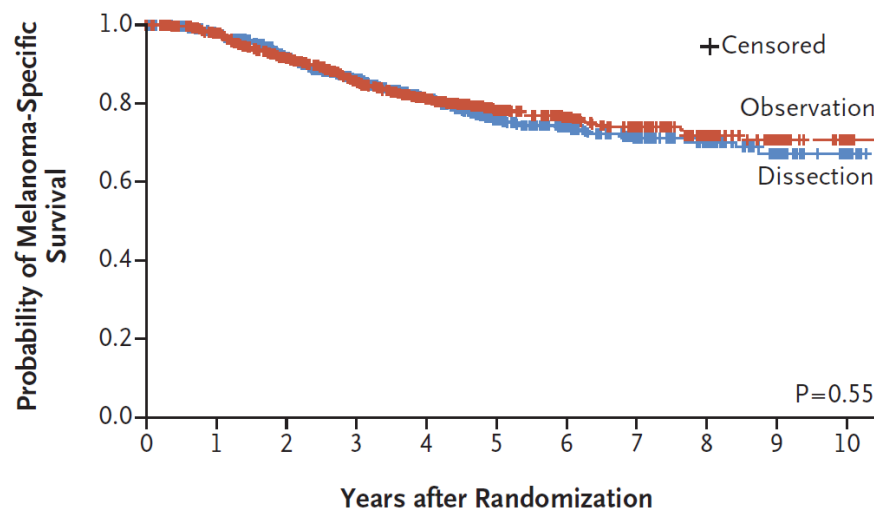
JUNE 8, 2017

VOL. 376 NO. 23

Completion Dissection or Observation for Sentinel-Node Metastasis in Melanoma

M.B. Faries, J.F. Thompson, A.J. Cochran, R.H. Andtbacka, N. Mozzillo, J.S. Zager, T. Jahkola, T.L. Bowles, A. Testori, P.D. Beitsch, H.J. Hoekstra, M. Moncrieff, C. Ingvar, M.W.J.M. Wouters, M.S. Sabel, E.A. Levine, D. Agnese, M. Henderson, R. Dummer, C.R. Rossi, R.I. Neves, S.D. Trocha, F. Wright, D.R. Byrd, M. Matter, E. Hsueh, A. MacKenzie-Ross, D.B. Johnson, P. Terheyden, A.C. Berger, T.L. Huston, J.D. Wayne, B.M. Smithers, H.B. Neuman, S. Schneebaum, J.E. Gershenwald, C.E. Ariyan, D.C. Desai, L. Jacobs, K.M. McMasters, A. Gesierich, P. Hersey, S.D. Bines, J.M. Kane, R.J. Barth, G. McKinnon, J.M. Farma, E. Schultz, S. Vidal-Sicart, R.A. Hoefler, J.M. Lewis, R. Scheri, M.C. Kelley, O.E. Nieweg, R.D. Noyes, D.S.B. Hoon, H.-J. Wang, D.A. Elashoff, and R.M. Elashoff

A



**Provedení exenterace spádových
lymfatických uzlin při pozitivě
sentinelové uzliny neovlivní
dlouhodobé přežití, ale je spojeno
s nižším rizikem lokálních recidiv.**

No. at Risk

Dissection	824	759	654	510	389	275	191	128	83	39	13
Observation	931	856	734	564	425	304	217	151	95	55	13

Adjuvantní imunoterpie

- Hlavním cílem adjuvantní imunoterapie u melanomu je odkrýt nádorové antigeny, usnadnit jejich rozpoznání, porušit nádorovou toleranci a posílit imunitní odpověď.
- Od roku 1995, u nás 1998
- Interferon alfa – studie Kirkwood ECOG 1684, 1690, 1694 – konec 2019.

Tarhini, A.A., Gogas, H., Kirkwood, J.M. (2012).
IFN-alpha in the treatment of melanoma.
Journal of immunology 189, 3789-3793.

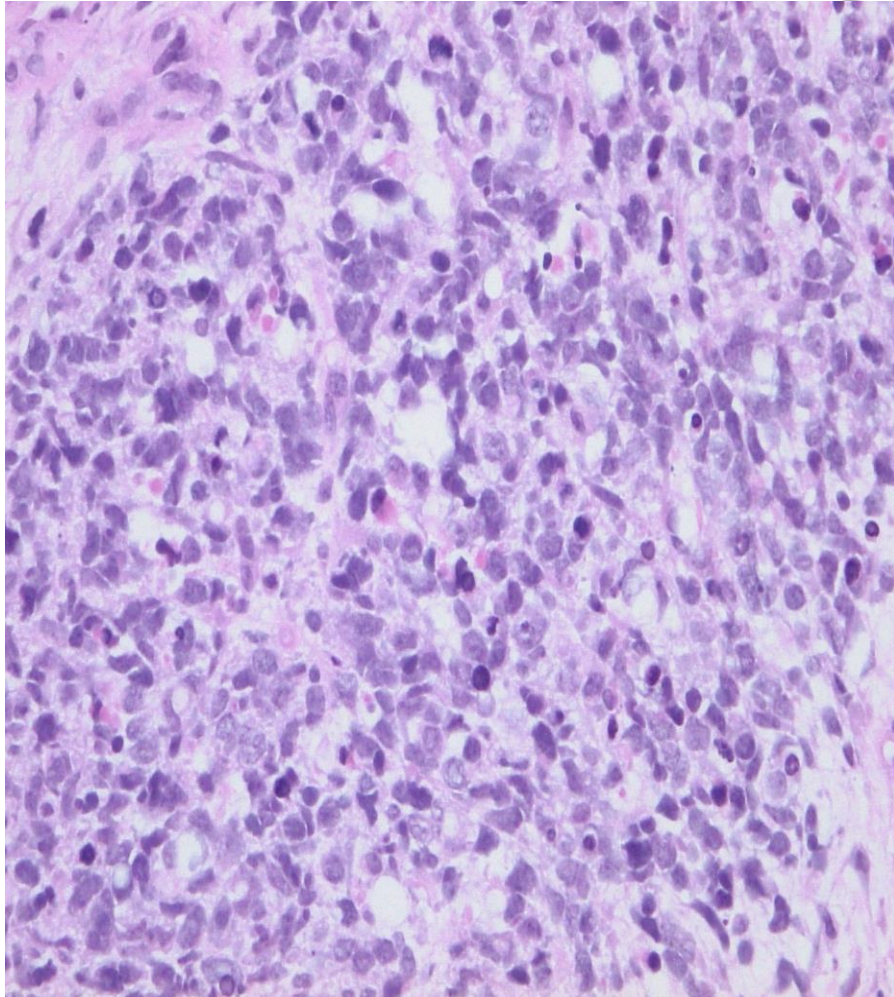
Adjuvantní imunoterapie – anti-PD1

- EORTC 18071 - Ipilimumab vs placebo 26,1 vs 17,1 RFS
– FDA 2015 – schválen pro adjuvanci
- CheckMate 238 – Nivo vs Ipi – 70,5% - vs 60,8%
- Keynote 054 (EORTC 1325) – Pembro vs placebo – 75,4% vs 61,0%

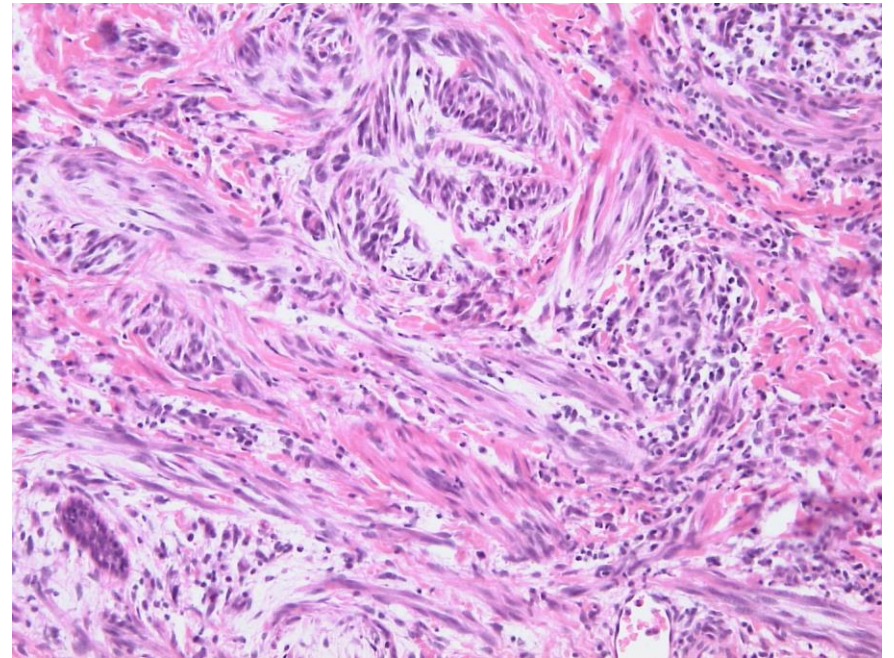
Adjuvantní cílená terapie

- Studie - BRIM 8 a COMBI-AD - použití cílené terapie BRAF a MEK inhibitory.
- BRIM 8 – Vemurafenib vs placebo – 23,1 vs 15,4
- COMBI-AD - Při mediánu sledování 2,8 roku bylo dosaženo 3 letého očekávaného přežití do relapsu u 58% pacientů na terapii a jen 39% na terapii placebem.

Definitivní diagnóza - Histologie - morfologie

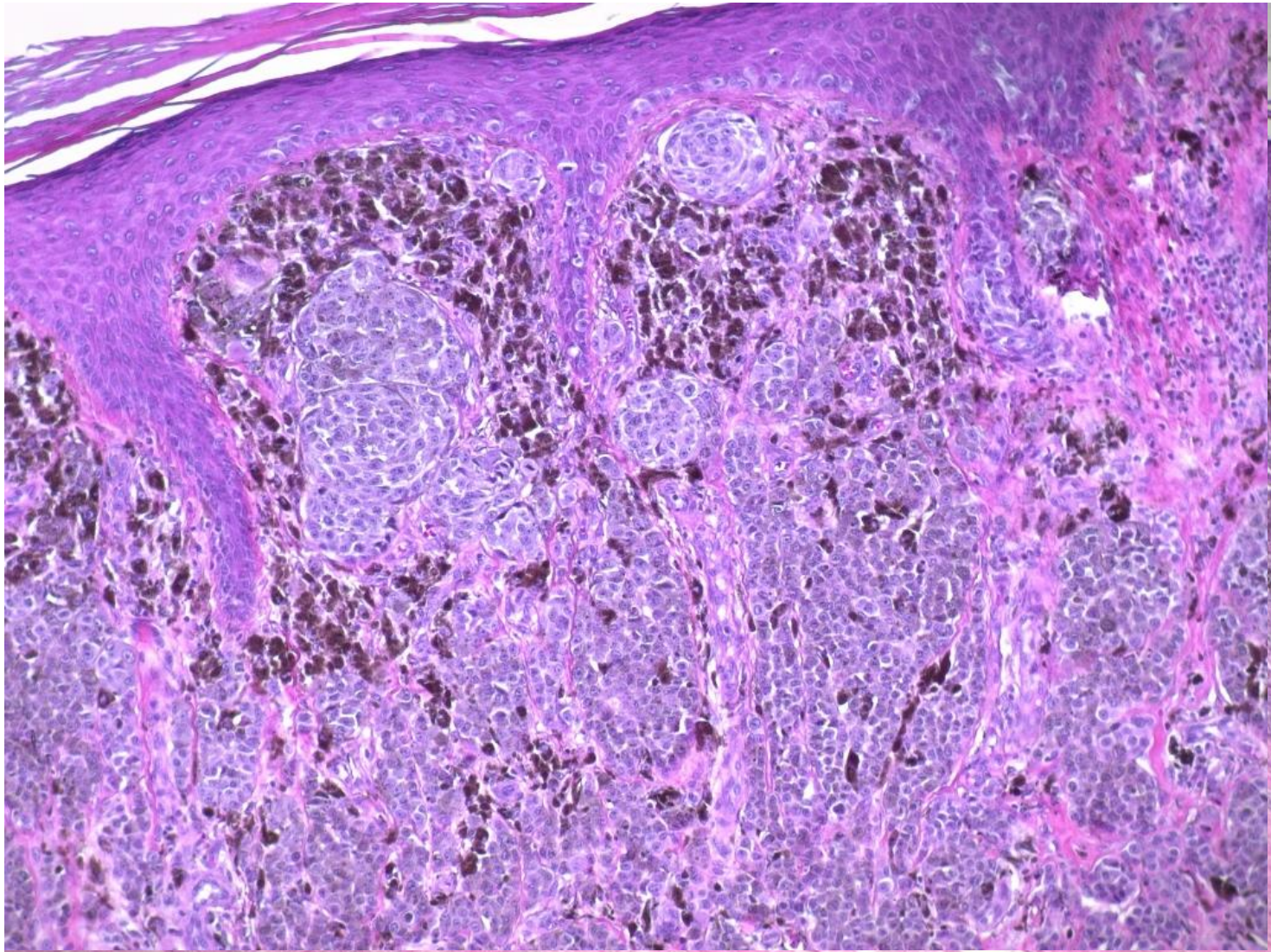


H&E 40x



H&E 20x

Histologie - složení melanomu



Nádorové stroma

Sebeobnova nádoru & Podpora progrese

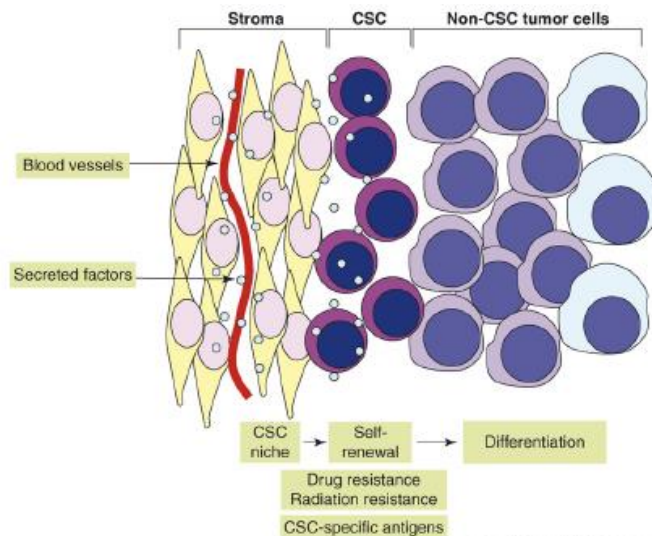


Cancer stem cells in solid tumors

Laurie E Ailles¹ and Irving L Weissman²

Current Opinion in Biotechnology 2007, 18:460–466

This review comes from a themed issue on
Tissue and cell engineering
Edited by Alan Trounson and Andrew Elefanty



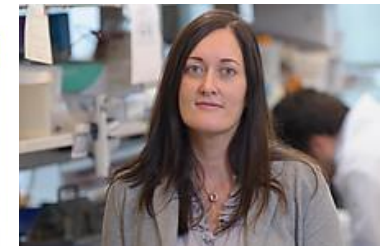
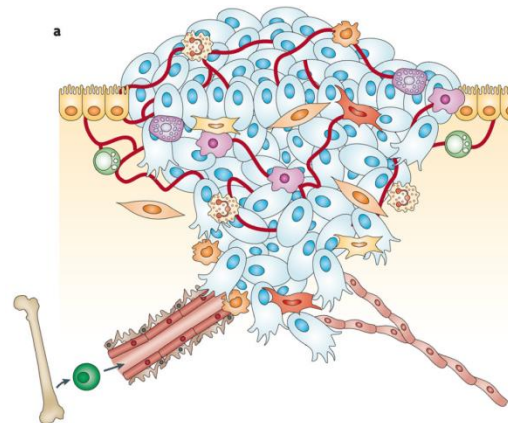
Current Opinion in Biotechnology



Fibroblast-Derived Dermal Matrix Drives Development of Aggressive Cutaneous Squamous Cell Carcinoma in Patients with Recessive Dystrophic Epidermolysis Bullosa

Yi-Zhen Ng^{1,3}, Celine Pourreyaon¹, Julio C. Salas-Alanis⁴, Jasbani H.S. Dayal¹, Rodrigo Cepeda-Valdes⁴, Wenfei Yan⁵, Sheila Wright¹, Mei Chen⁶, Jo-David Fine⁷, Fiona J. Hogg², John A. McGrath⁸, Dedee F. Murrell⁵, Irene M. Leigh¹, E. Birgit Lane³, and Andrew P. South¹

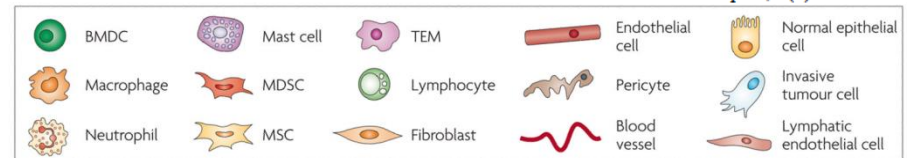
Cancer Research



Microenvironmental regulation of metastasis

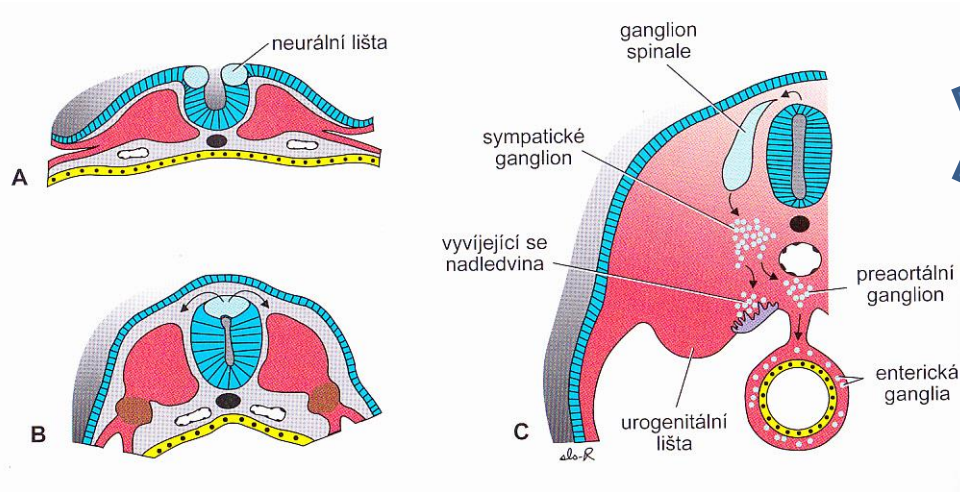
Johanna A. Joyce^{*} and Jeffrey W. Pollard[‡]

Nat Rev Cancer. 2009 April ; 9(4): 239–252.

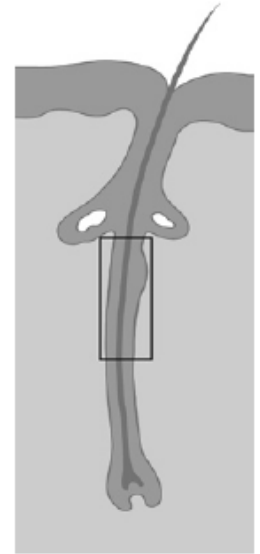


Vývoj zdravých melanocytů

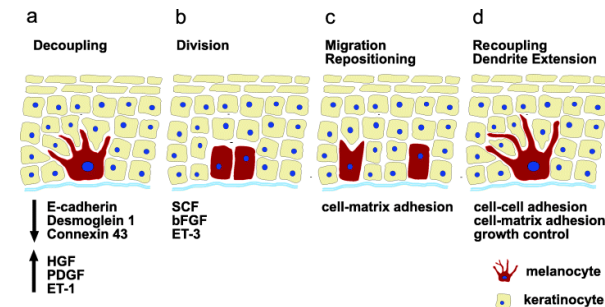
Buňky pocházející z neurální lišty - neuroektoderm
Během migrace z neurální lišty prodělávají epitelově-mezenchymový přechod.



Sadler et al.: *Langmanova lékařská embryologie* (2010)

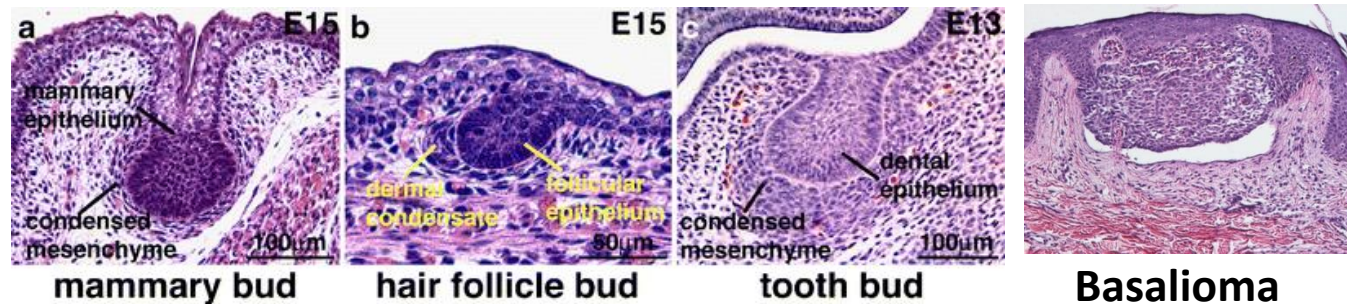
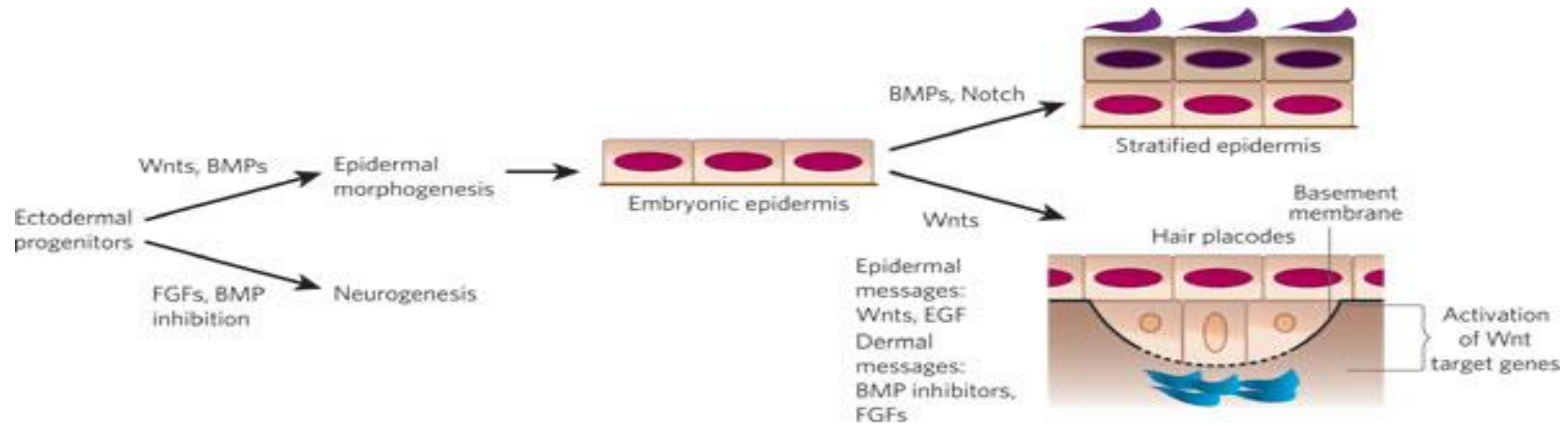


Krejčí et al.: *Folia biologica* (2010)



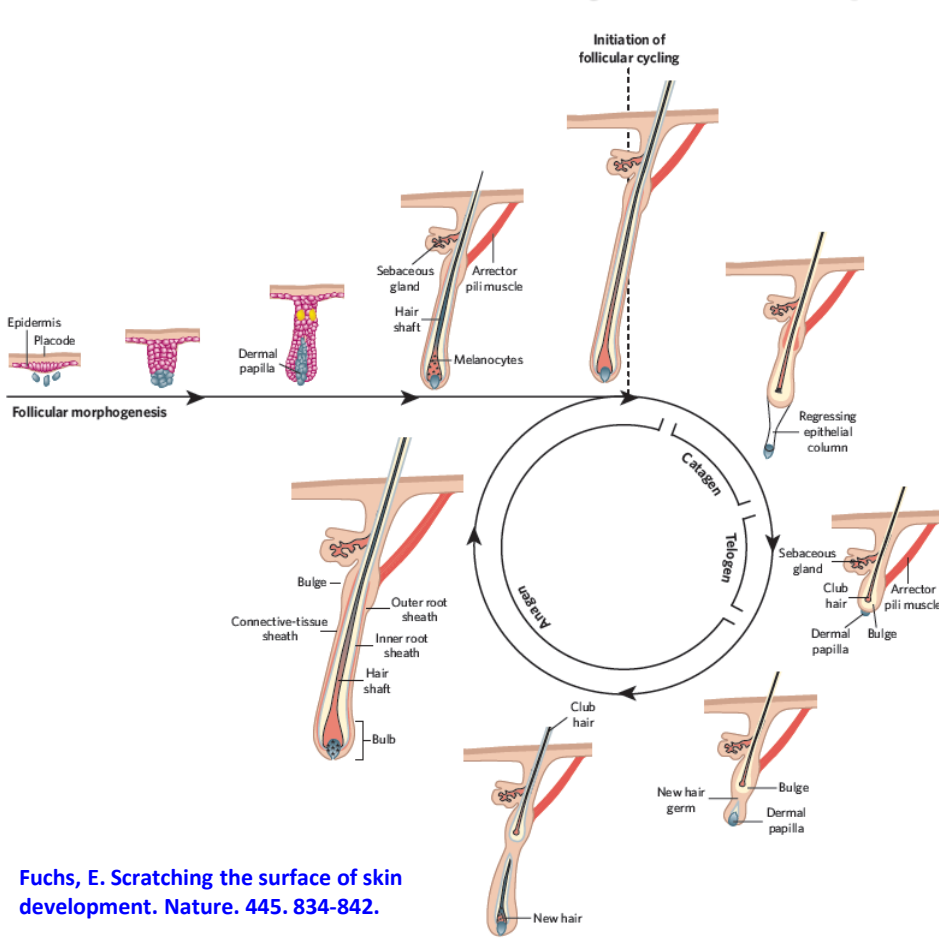
Nikolas K. et al.: *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings* (2005)

Epitelově mezenchymové interakce od embryologie po nádor

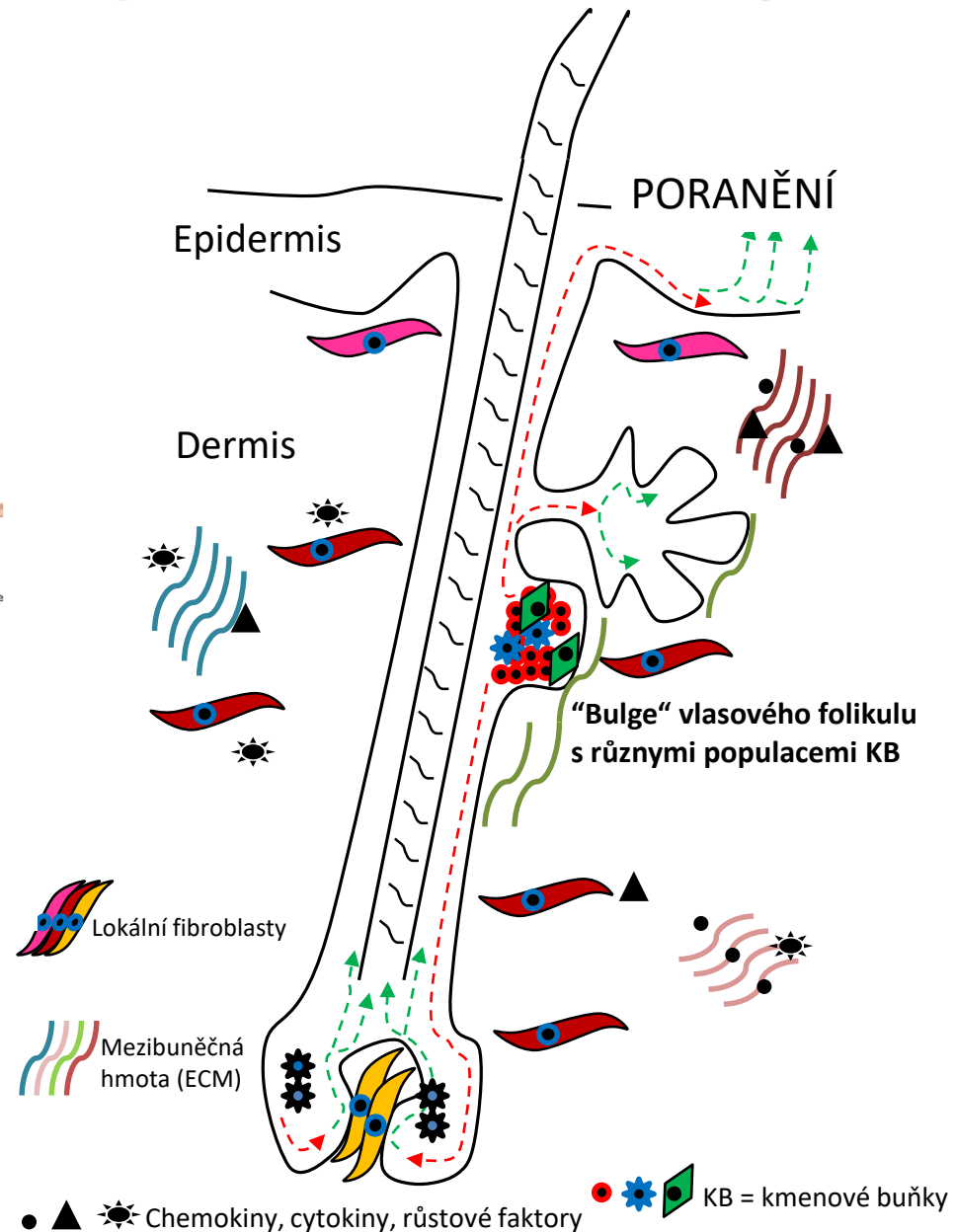


Využití podobných signalizačních mechanismů: Wnt, TGF- β , BMP, SHH, FGF, Notch, EGF, TNF α .
 ([Botchkarev et Kishimoto, 2003](#); Fuchs, E. Scratching the surface of skin development. Nature. 445. 834-842.)

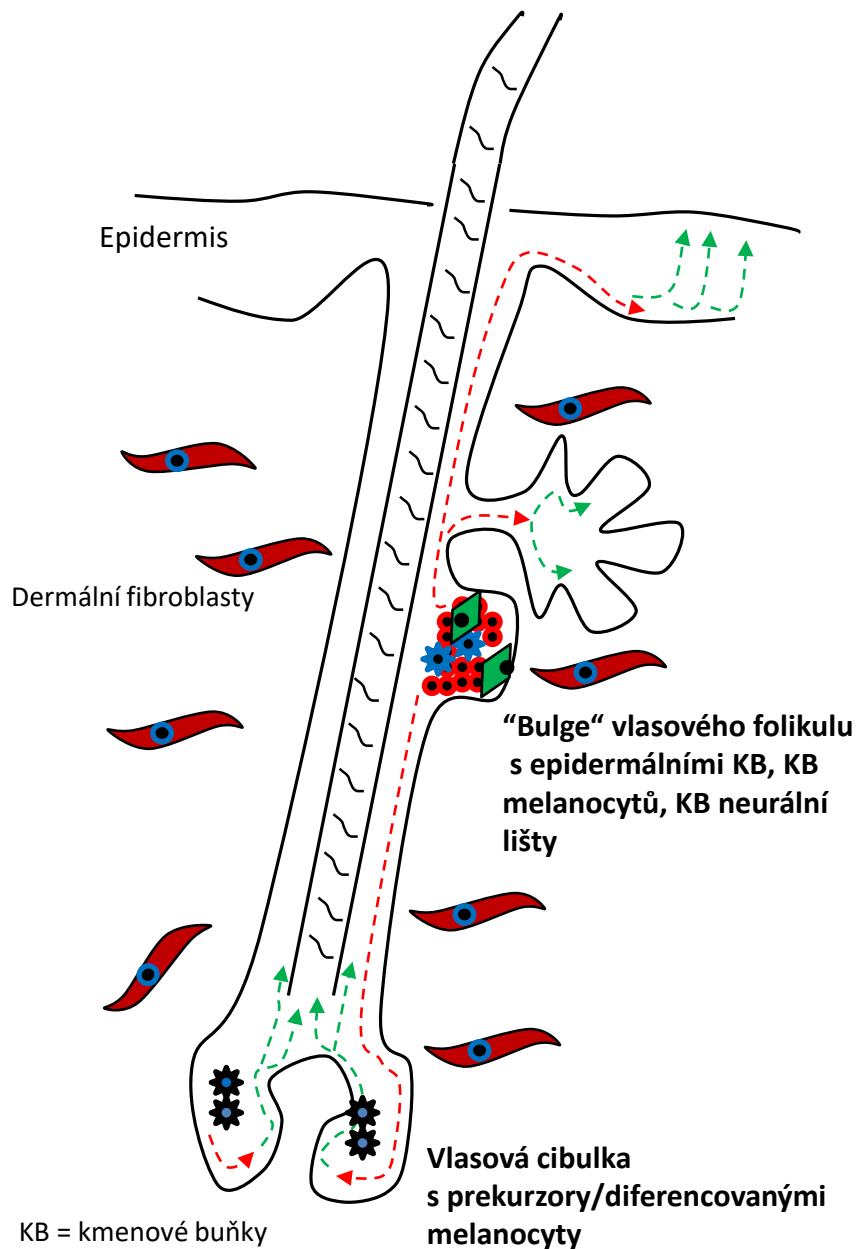
Epitelově mezenchymové interakce prenatálně a postnatálně. Tvorba mikroprostředí ("niche") a udržování homeostázy.



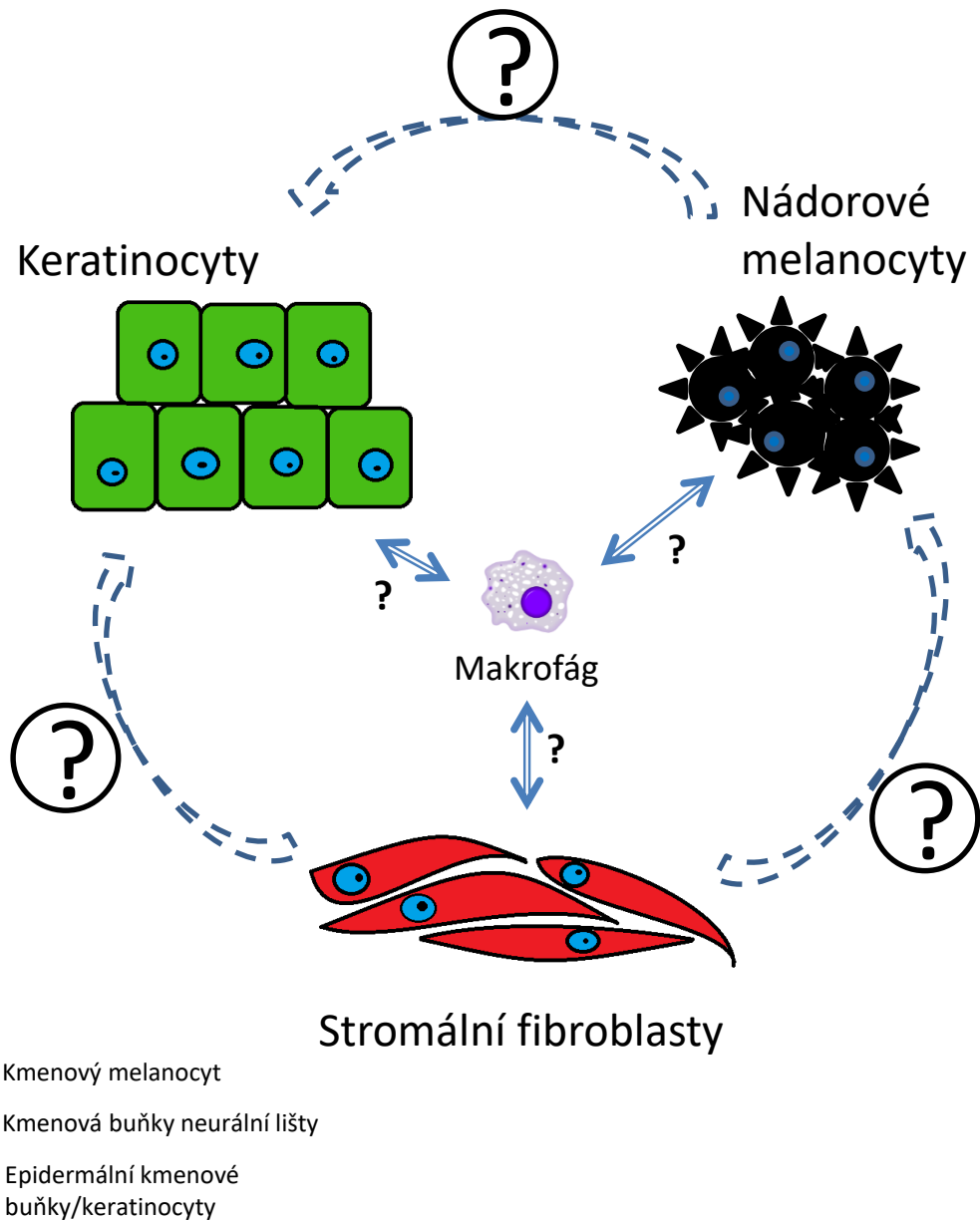
Fuchs, E. Scratching the surface of skin development. *Nature*. 445. 834-842.



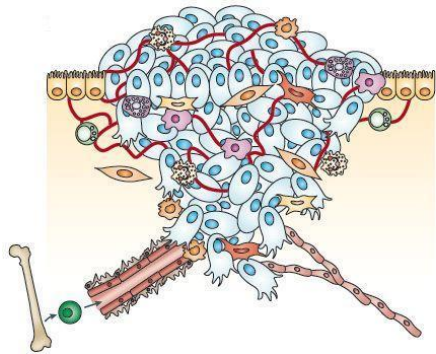
“Niche” vlasového folikulu



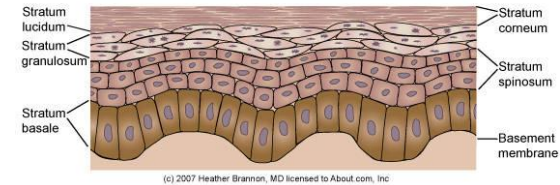
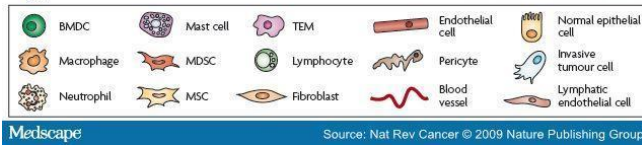
“Niche” nádoru/melanomu



Model nádorového mikroprostředí a epitelově mezenchymové interakce

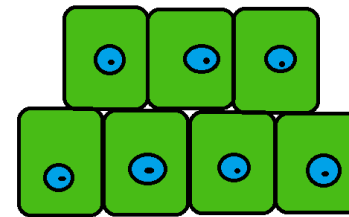


Nápř. nádory **K19 + a K8 +**



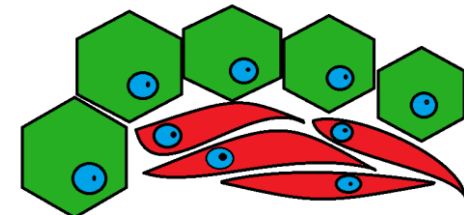
Normální epitel

K10, K14



Stromální fibroblasty

Vimentin, SMA



Sledování změn na úrovni keratinů a diferenciace

K19, K8, K14

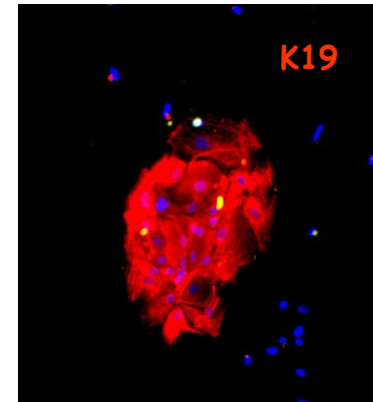
Funkce stromálních fibroblastů u BCC a SCC

BCC



Indukce exprese K19

K19 + pozitivní nádory



Lacina et al. *British Journal of Dermatology* 2007 156, pp819-829

Indukce exprese K19

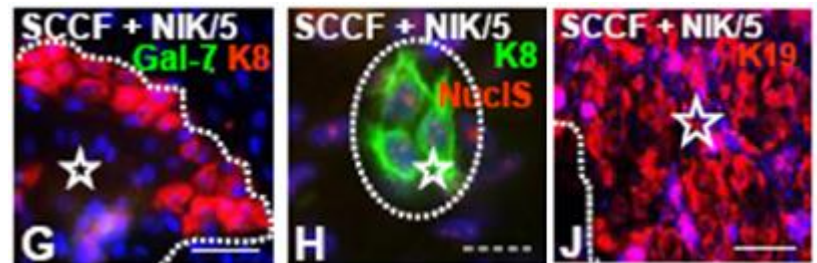
SCC



Indukce exprese K8

K19+, K8+ pozitivní nádory

Model nádorového prostředí:
Stromální fibroblasty + normální keratinocyty



Lacina et al. *Int. J. Rad. Biol.*,
156: 819, 2007

Stromální fibroblasty/keratinocyty

Stromální fibroblasty
- izolovány z kožní
metastázy melanomu.

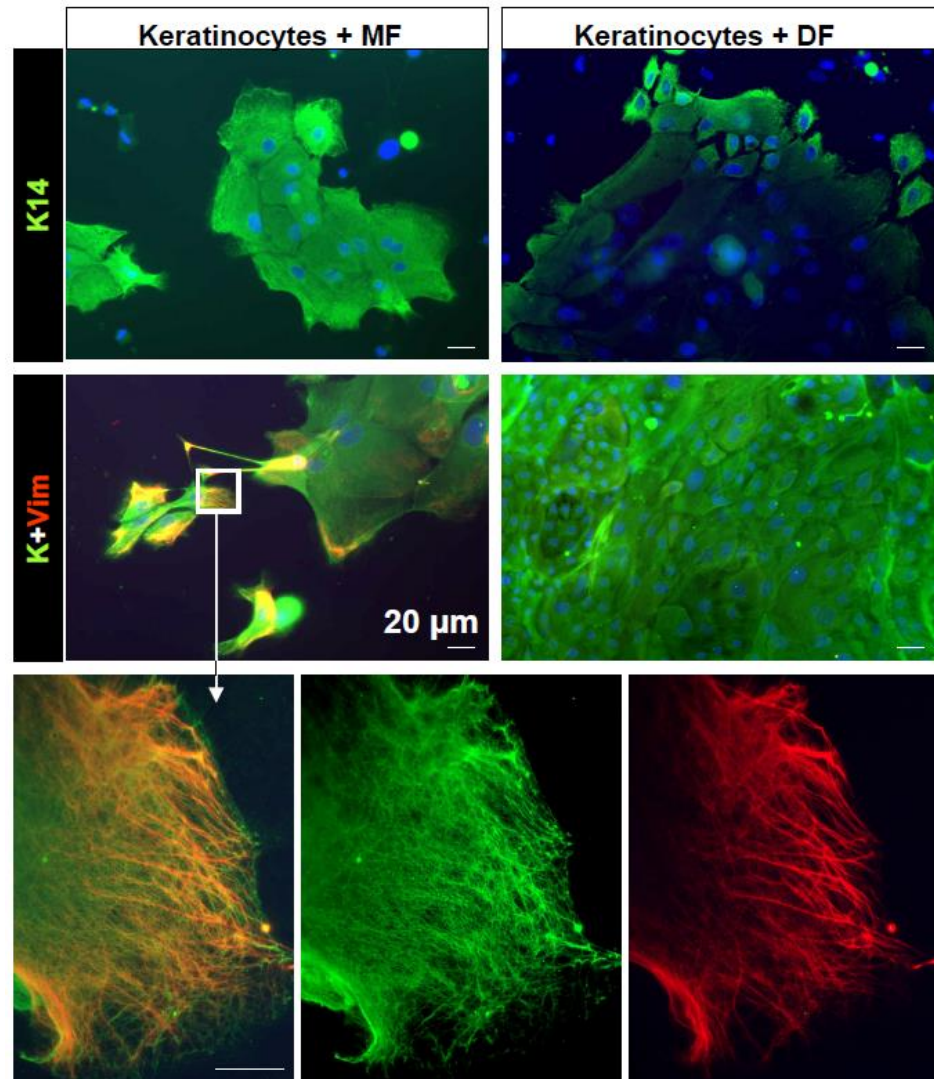
K14,
Keratin + Vimentin

Original Research Article

Fibroblasts isolated from the malignant melanoma
influence phenotype of normal human
keratinocytes



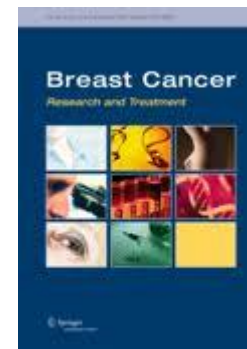
Kučera J. et al. Journal of
Applied Biomedicine. (0).
doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jab.2015.03.002>.



Stromální fibroblasty vs epitelové buňky EM-G3

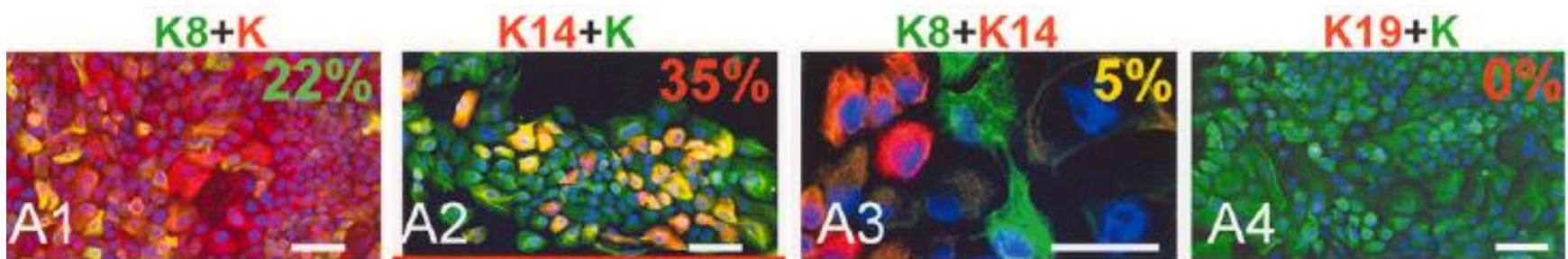
Izolované z invazivního duktálního karcinomu

In vivo: **K 19 + ,K 8 +,K14 +**

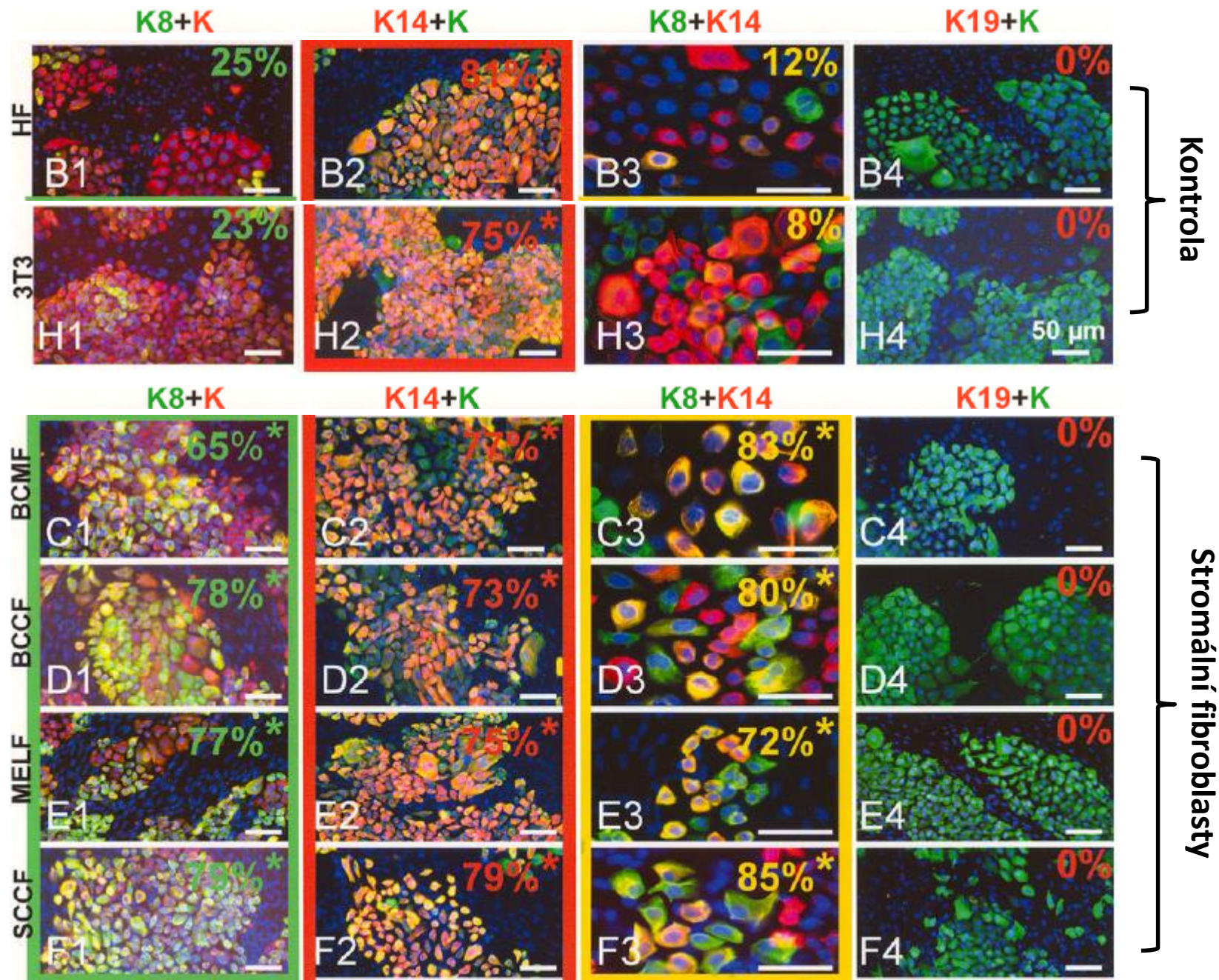


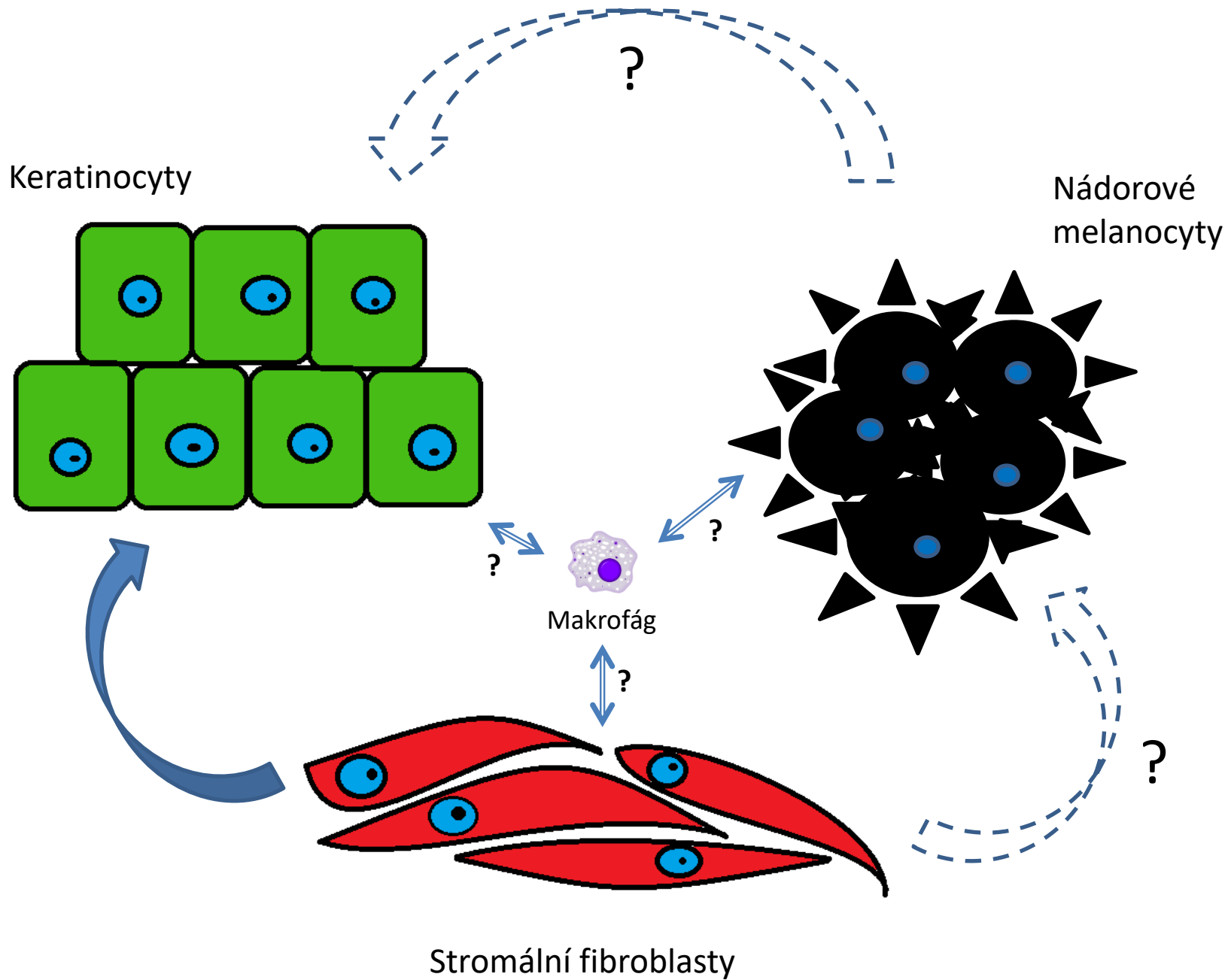
*Brožová M. et al.
Breast Cancer Res Treat.
2007 Jun;103(2):247-57.*

In vitro: **K19 - , K 8 +/-, K14 +/-**



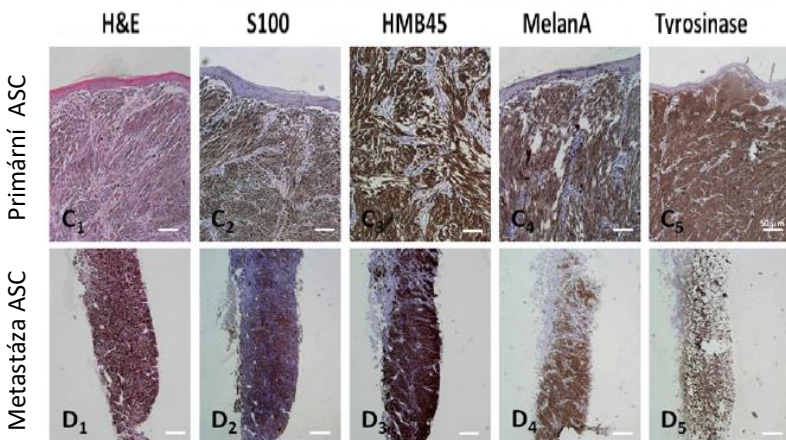
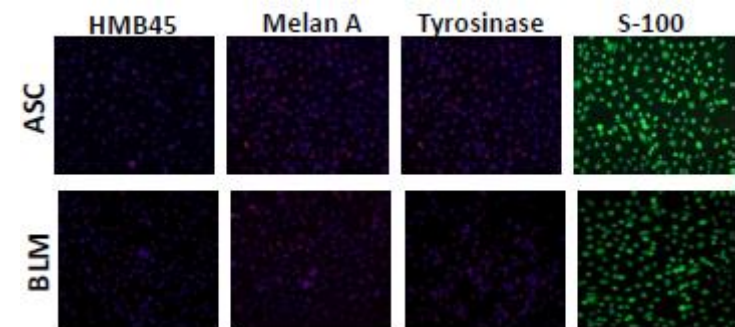
Stromální fibroblasty vs epitelové buňky EM-G3



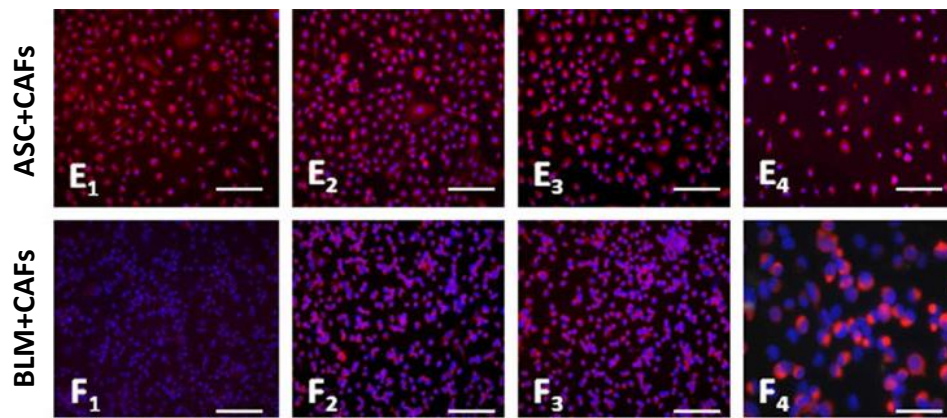


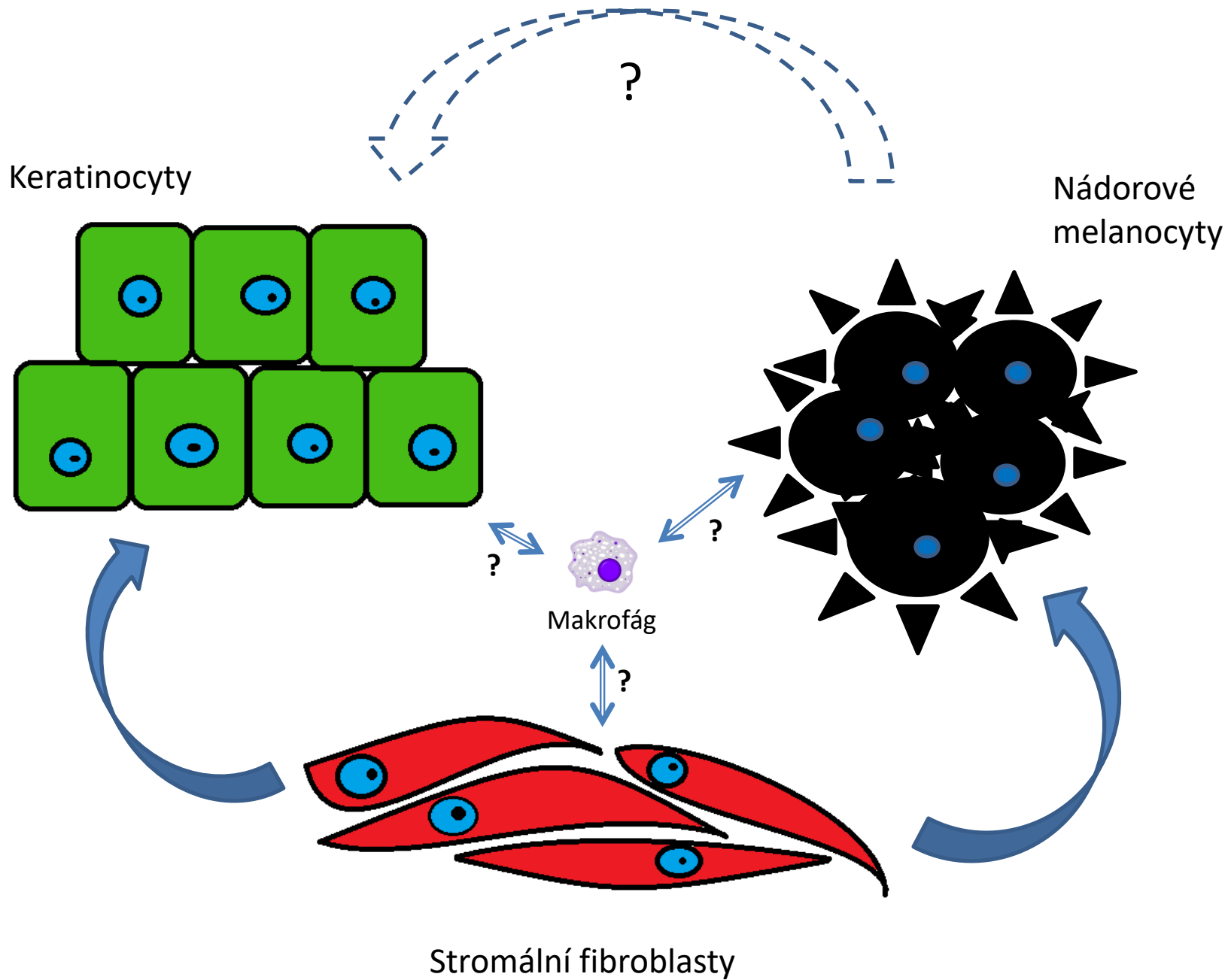
Stromální fibroblasty vs melanocyty

Kondiciovaná média (KM): a) obohacena o kuřecí embryonální extrakt;
b) odebraná po kultivaci embryonálních mezenchymových buněk
c) ko-kultivace s CAFs z kožní metastázy melanomu



ASC – nádorová linie melanomu izolovaná z ascitu
BLM – nádorová linie melanomu z kožní metastázy



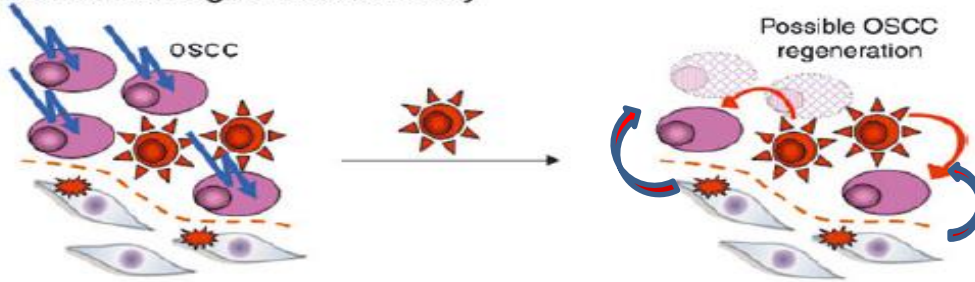


Funkce Stromatu/Stromálních fibroblastů

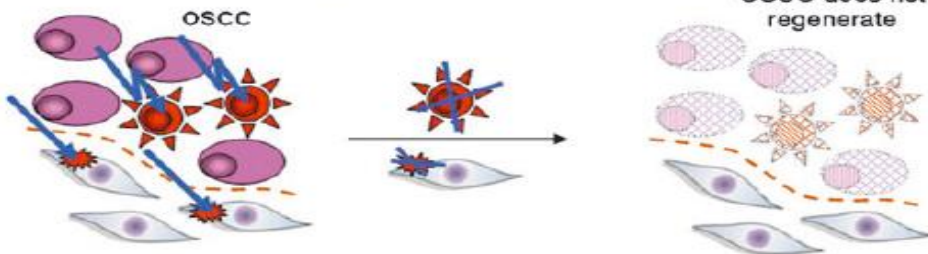
Možná léčebná strategie

Cancer stem cells as targets for oral cancer therapy
DE Costea et al

(a) Treatment strategies available today



(b) Prospective stem cell targeted strategies



Costea et al. Oral Dis. 2006 Sep;12(5):443-54.

Karcinom prsu , Karcinom kolorektální, Karcinom plic, Maligní melanom

Již schválené klinické preparáty - např. blokáda nádorové neoangiogeneze, modulace imunitní odpovědi apod.

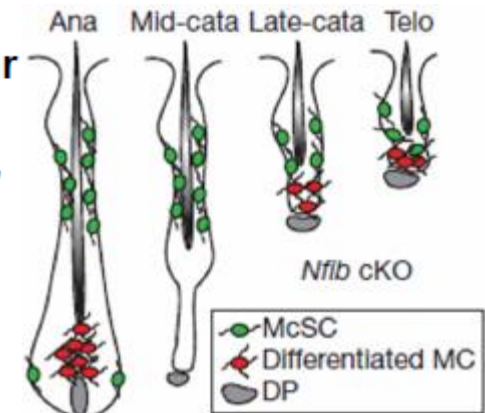
(Bevacizumab, Sunitinib, Sorafenib, Ipilimumab, Nivolumab, Pembrolizumab).

Nádorové melanocyty vs keratinocyty

NFIB is a governor of epithelial–melanocyte stem cell behaviour in a shared niche

Chiung-Ying Chang¹, H. Amalia Pasolli¹, Eugenia G. Giannopoulou², Géraldine Guasch³, Richard M. Gronostajski⁴, Olivier Elemento², and Elaine Fuchs¹

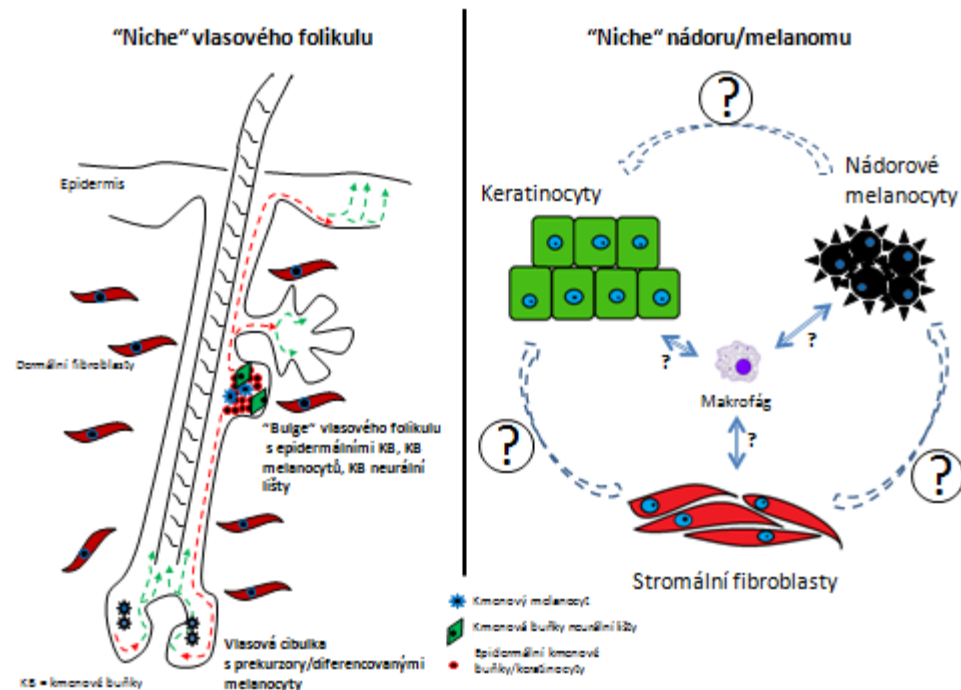
Nature. 2013 March 7; 495(7439): 98–102.



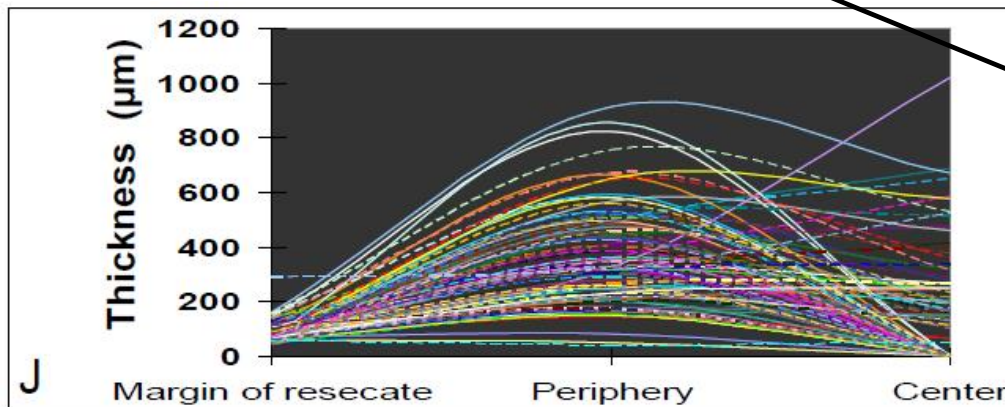
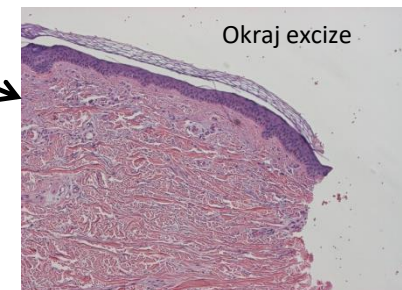
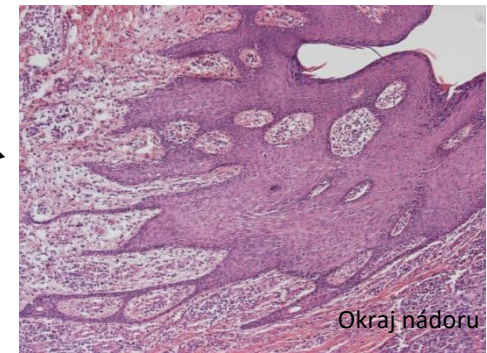
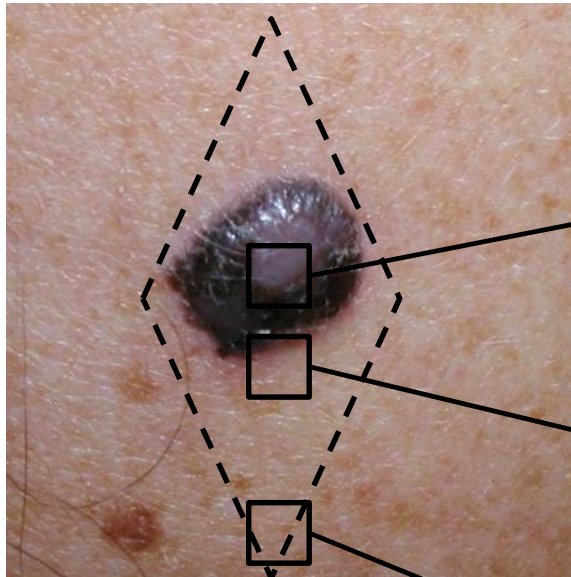
Keratinocytes drive melanoma invasion in a reconstructed skin model

Jeroen W.J. Van Kilsdonk^a, Mieke Bergers^b, Léon C.L.T. Van Kempen^c, Joost Schalkwijk^b and Guido W.M. Swart^a

Melanoma Research 2010, 20:372–380



Nádorové melanocyty vs keratinocyty



Zastoupení specifických keratinů v okolí melanocytů a maligního melanomu

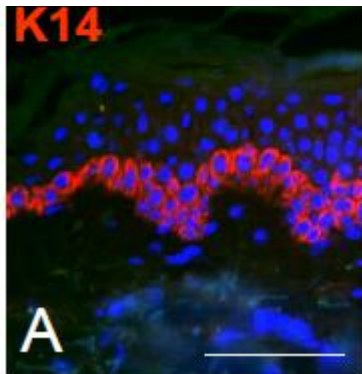
Zdravá kůže

Naevus

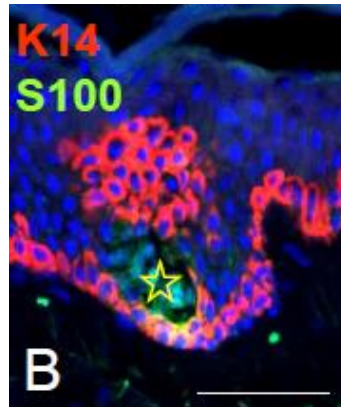
Nádor

Metastáza

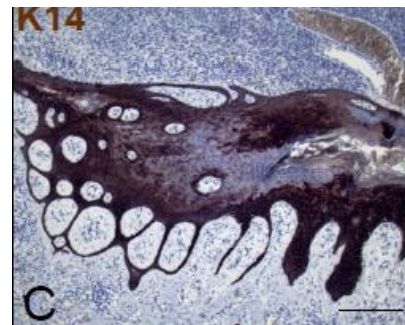
Zdravá kůže



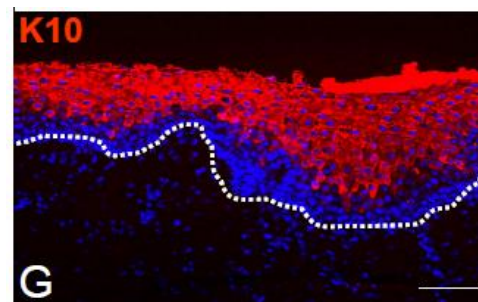
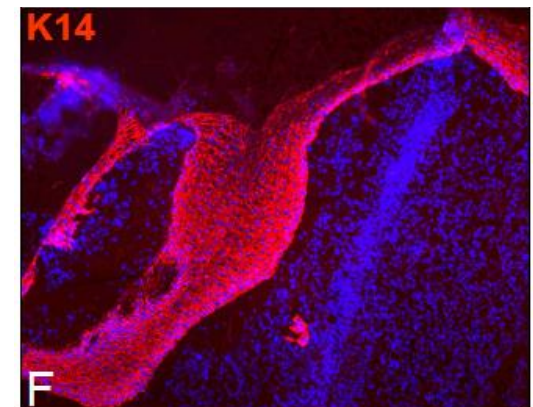
Pigmentový naevus



Maligní melanom



Kožní metastáza maligního melanomu



K14 - bazální vrstva
K10 - suprabazální vrstva
Ki67 - marker proliferace
S100 - nespecifický znak,
 marker buněk vycházejících z
 neurální lišty

Kodet et al. *Molecular Cancer* 2015, 14:1
<http://www.molecular-cancer.com/content/14/1/1>

MOLECULAR
CANCER

RESEARCH

Open Access

Melanoma cells influence the differentiation pattern of human epidermal keratinocytes

Ondřej Kodet^{1,2}, Lukáš Lacina^{1,2,3}, Eliška Krejčí¹, Barbora Dvořánková¹, Miloš Grm¹, Jiří Štokr², Daniela Kodetová⁴, Čestmír Vlček⁵, Jana Šáchová⁵, Michal Kolář⁵, Hynek Strnad^{2*} and Karel Smetana^{1*}

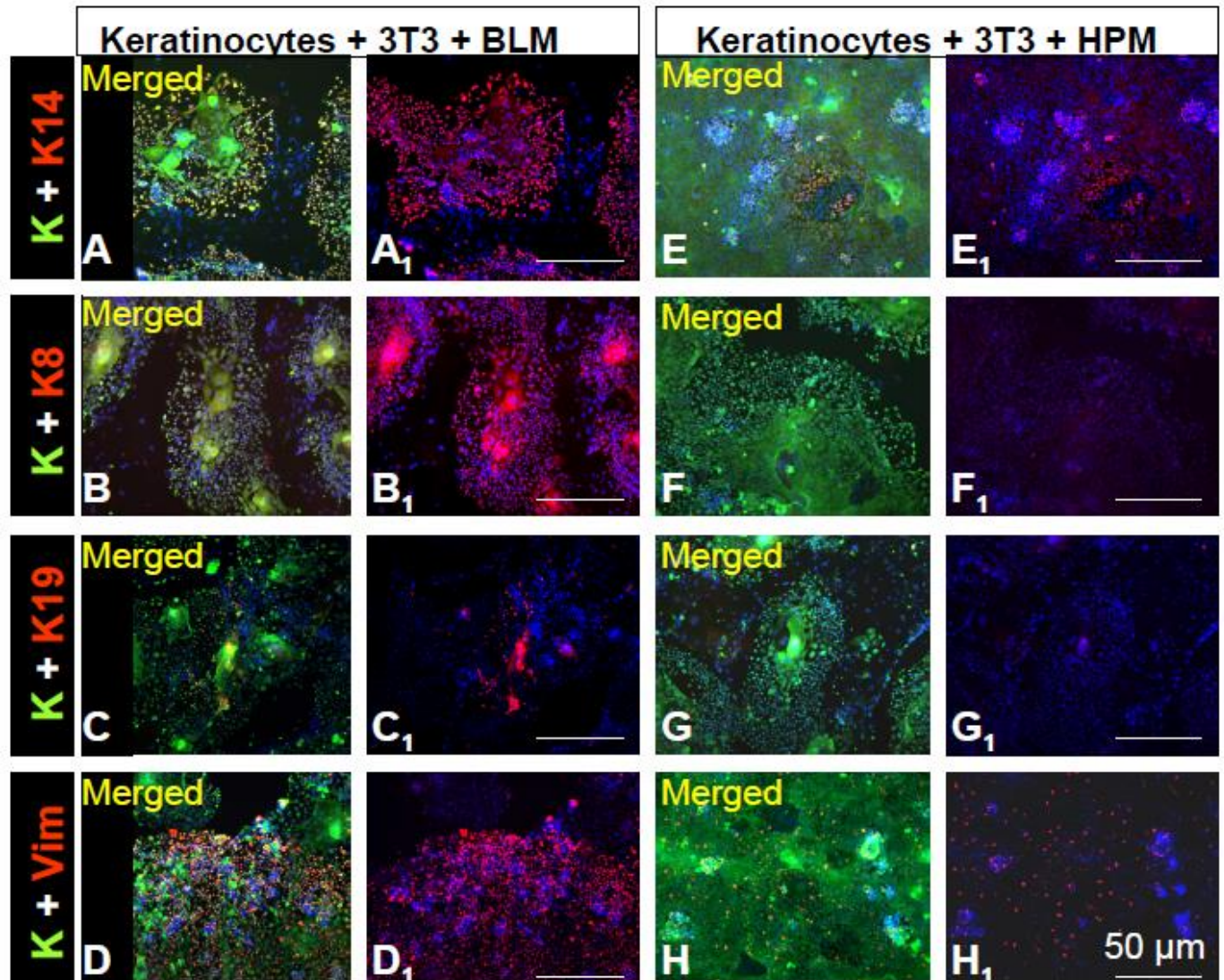
Melanocyty v kultuře

vliv melanocytů na keratinocyty

K14, K8, K19,
Keratin + Vimentin

BLM - nádorové
melanocyty

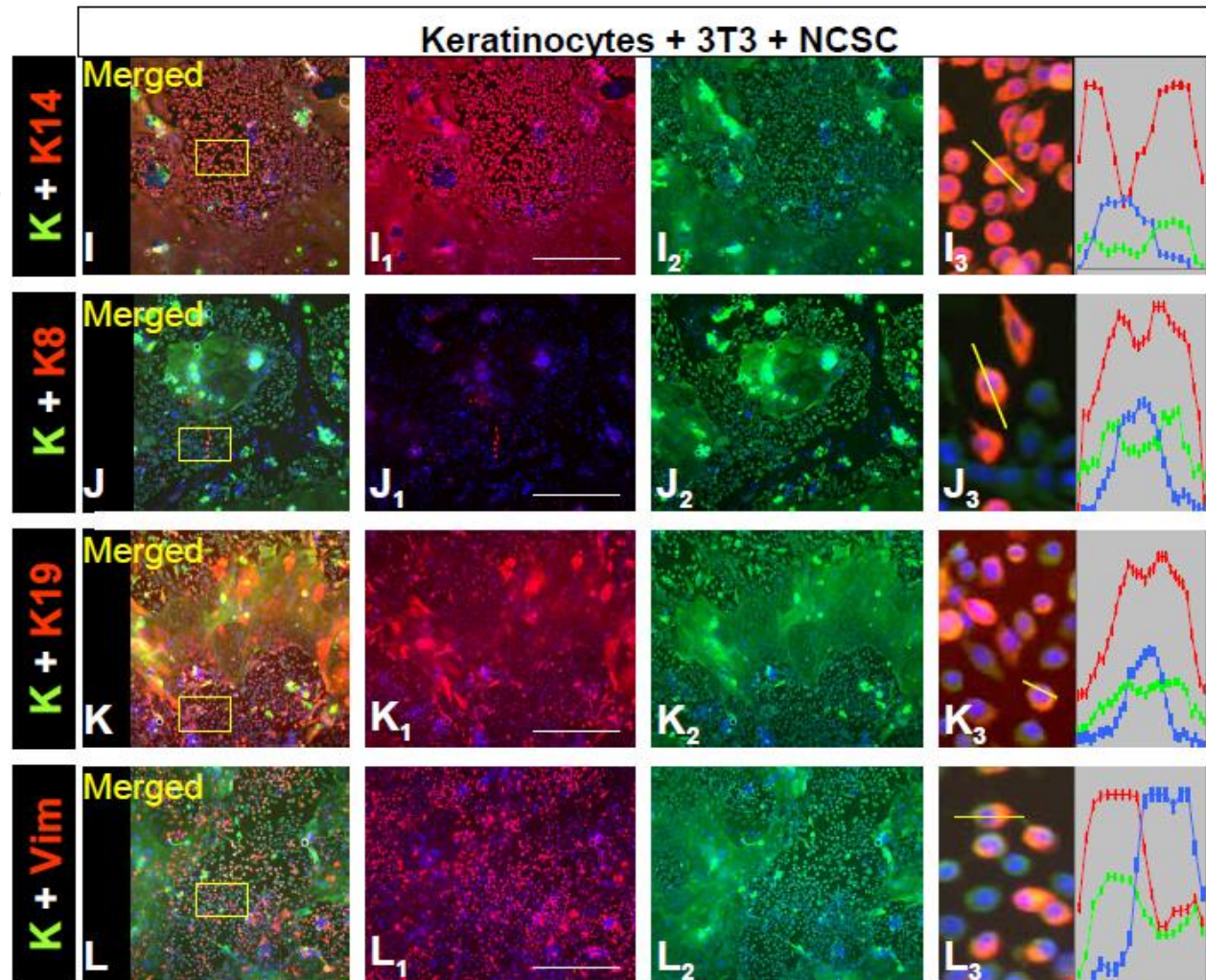
HPM - neonatální,
zdravé melanocyty



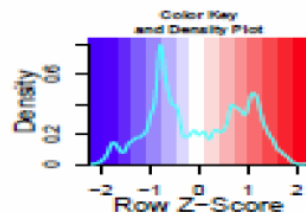
Vliv buněk neurální lišty na keratinocyty

K14, K8, K19,
Keratin + Vimentin

NCSC - kmenové
buňky z neurální
lišty, izolované z
vlasového foliálu



Mikročipová analýza Illumuna

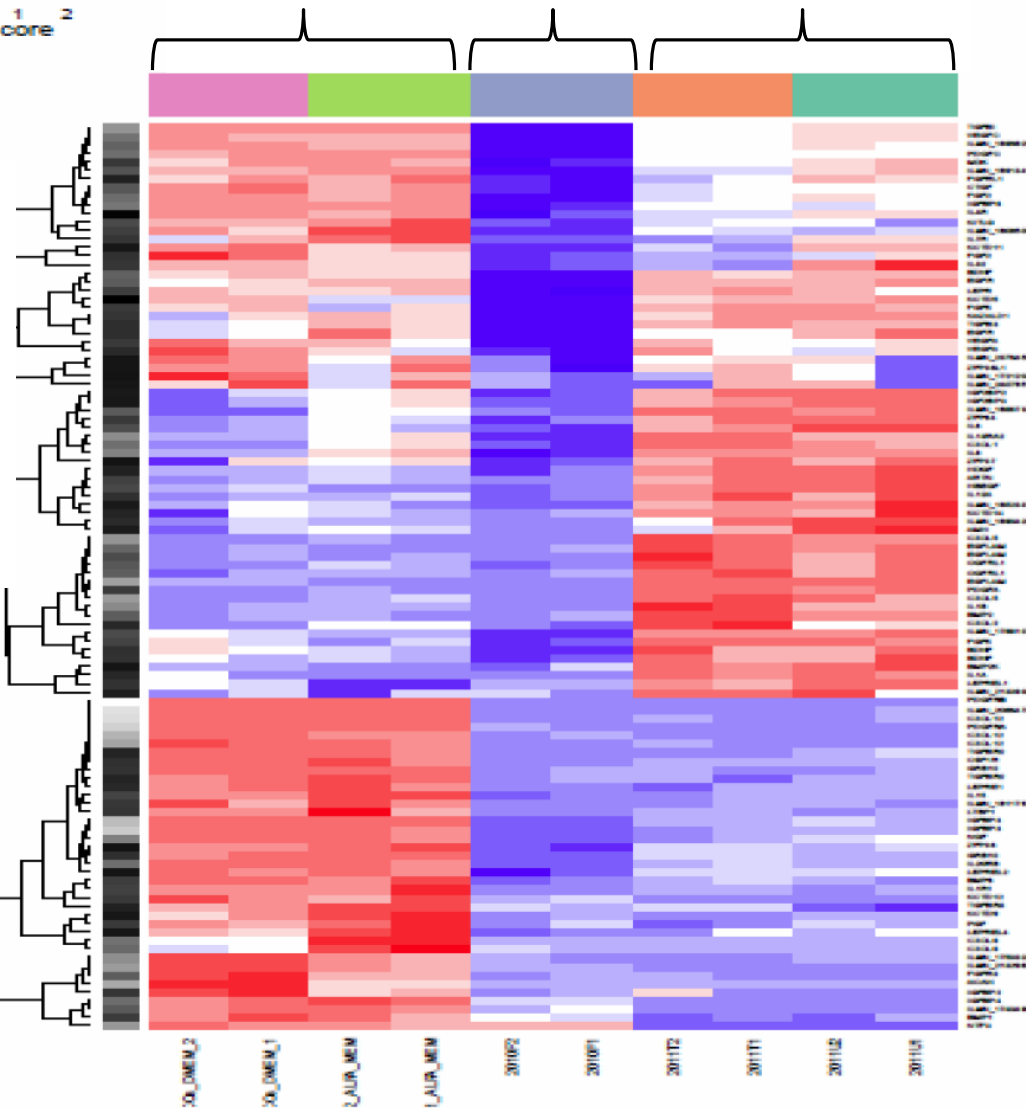


HM: BLM & NCC extracellular factors 106 probes, $q < 0.05$, UP reg FC $> 2x$

NCC

MEL-HP

BLM

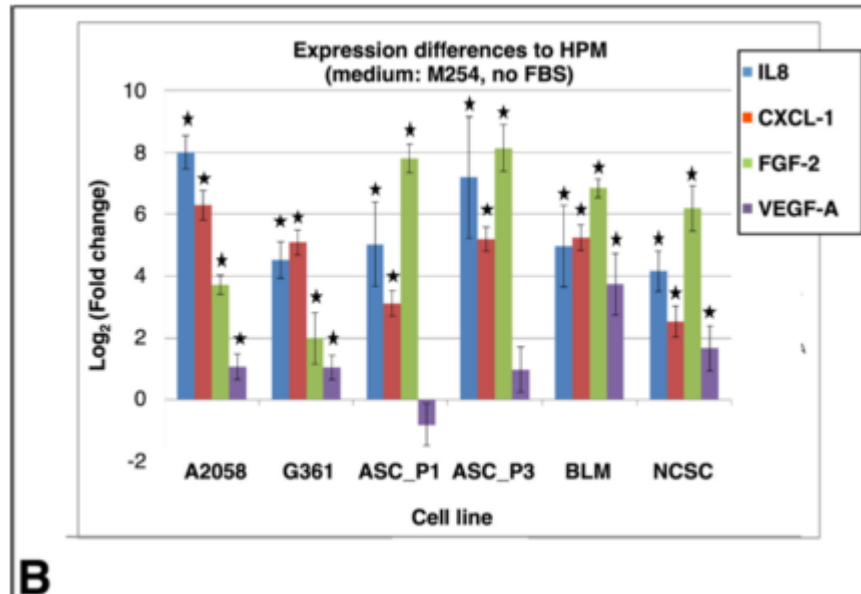
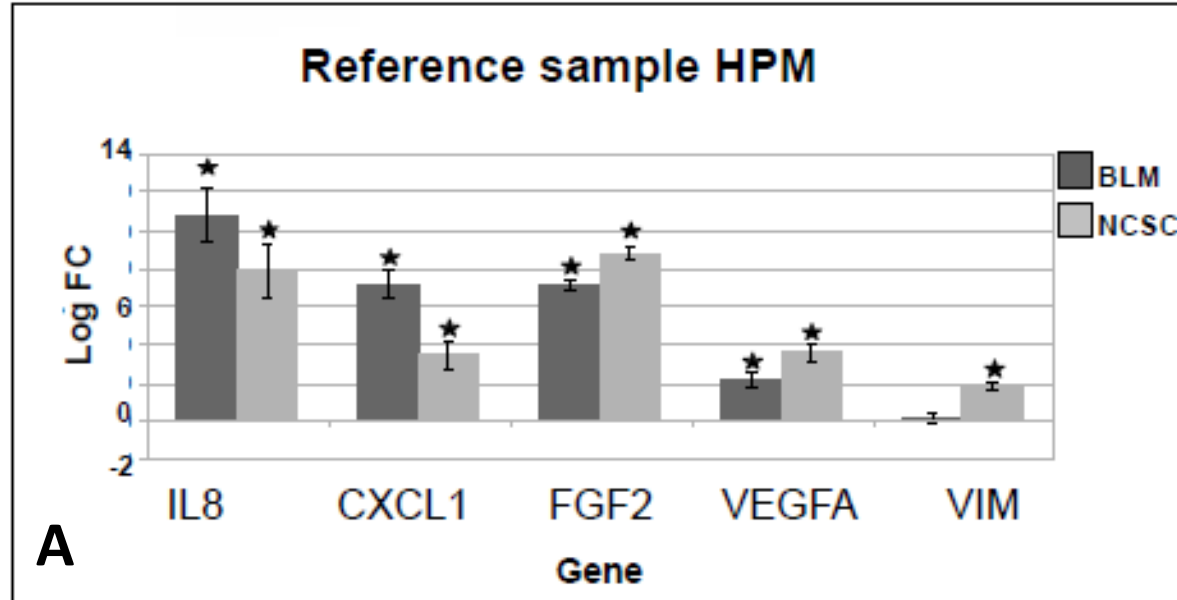


NCC – kmenové buňky
neurální lišty

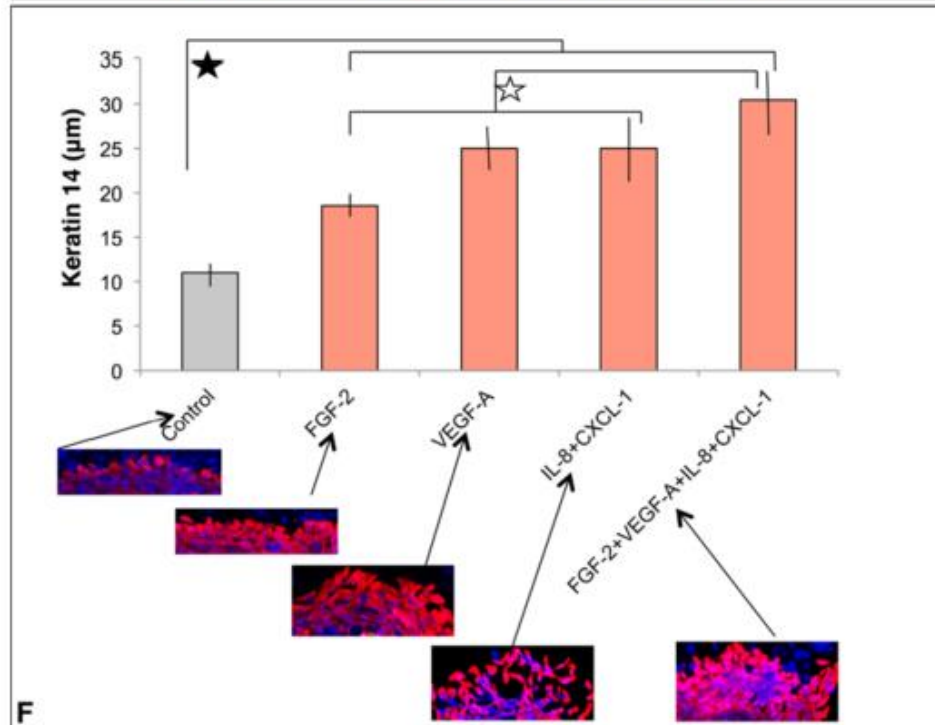
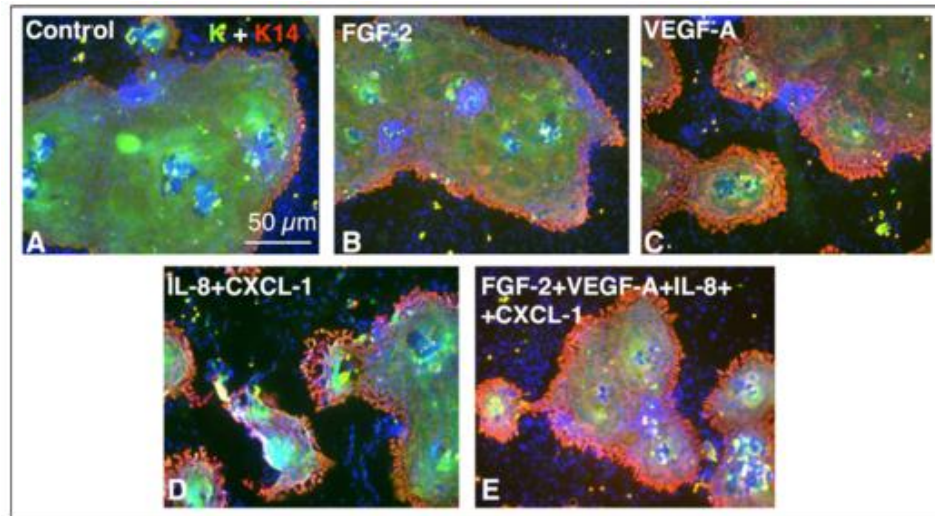
MEL-HP – neonatální
melanocyty

BLM – nádorové melanocyty

Nádorové melanocyty vs keratinocyty



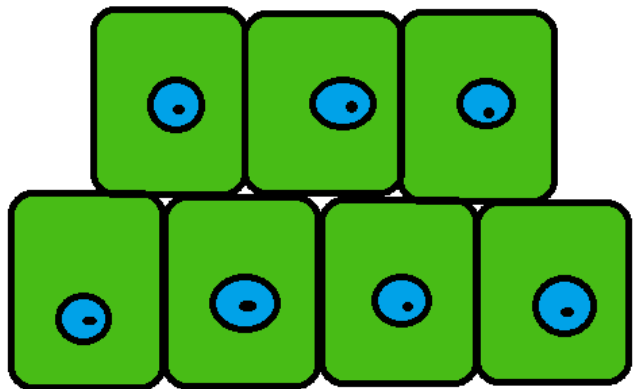
Nádorové melanocyty vs keratinocyty



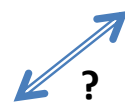
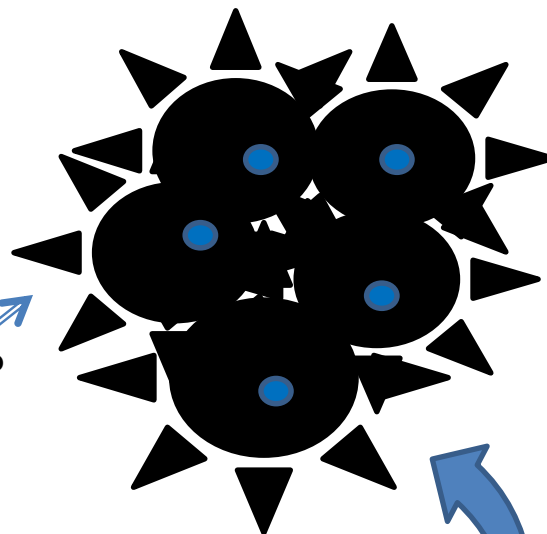
F

IL-8, CXCL-1, FGF-2, VEGF-A

Keratynocyty



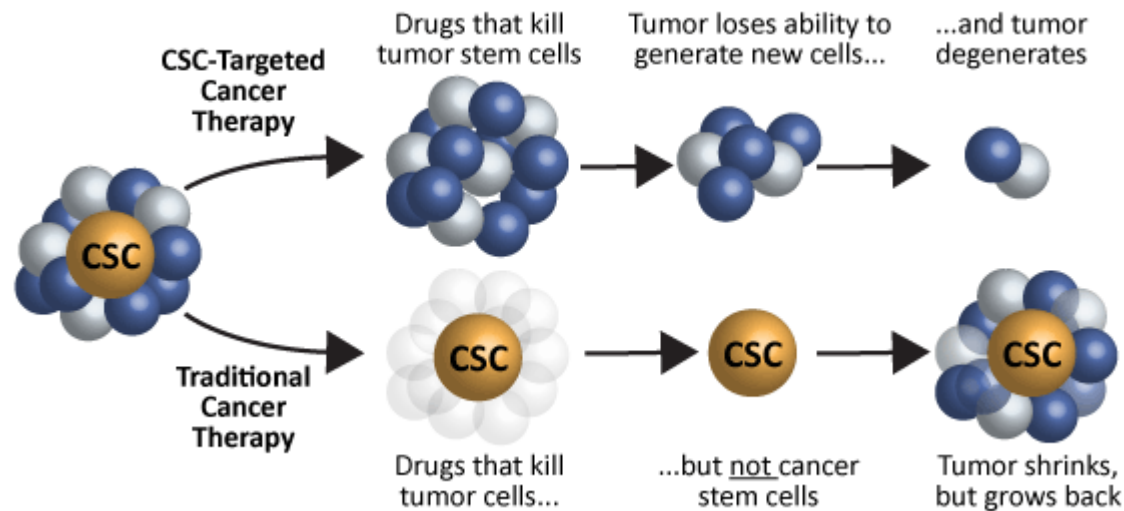
Nádorové melanocyty



Makrofág



Stromální fibroblasty

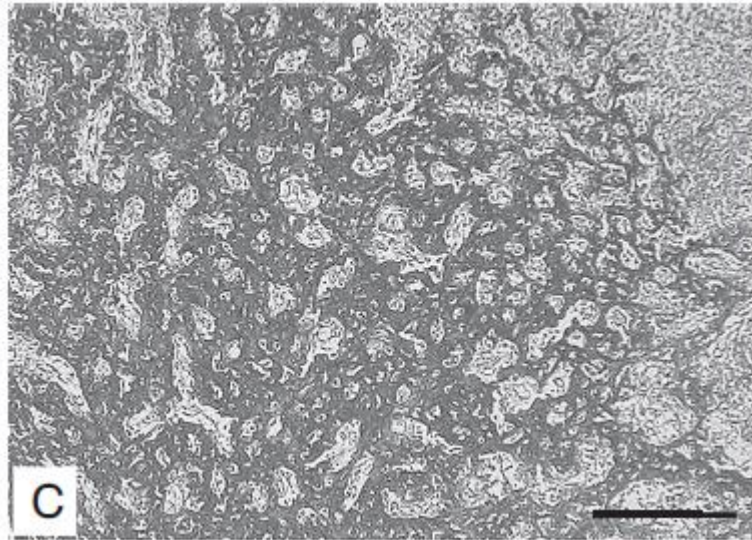


[Visvader JE](#), [Lindeman GJ](#). Cancer stem cells in solid tumours: accumulating evidence and unresolved questions.

[Nat Rev Cancer](#). 2008 Oct;8(10):755-68.

Breast Cancer with Cartilaginous and/or Osseous Metaplasia Diagnosed by Lymph Nodal Metastasis: A Case Report

Kazunori Tsukuda^{a*}, Hisashi Tsuji^a, Tadayoshi Kunitomo^b, Keiju Aokage^a,
Takayoshi Miyake^b, Saki Nakahara^a, and Hiroko Masuda^a



Breast cancer with cartilaginous and/or osseous metaplasia

Takuya Yoichi · Takeshi Nagashima · Hiroshi Yagata · Kazuya Yoshida ·
Masato Suzuki · Toshihiko Fujimori · Takafumi Sangai · Yukio Nakatani ·
Masaru Miyazaki



Metaplastická kostěná tkáň

Biol. Cell (2011) 100, 233–249 | Printed in Great Britain | doi:10.1042/BC20100113

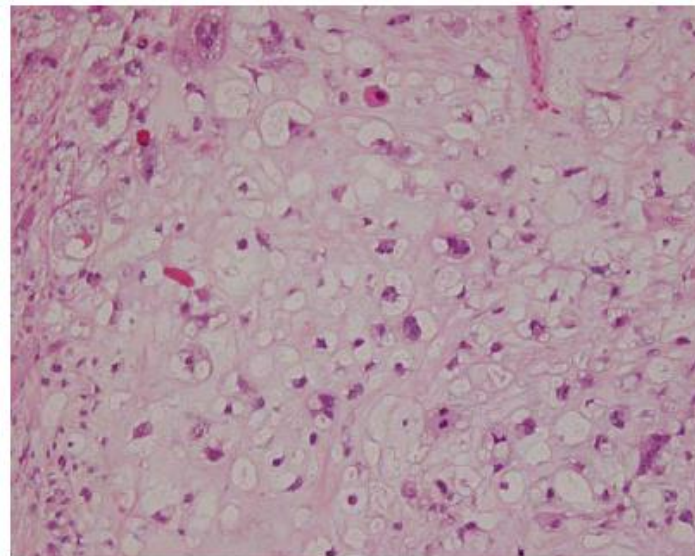


Research article



Mouse 3T3 fibroblasts under the influence of fibroblasts isolated from stroma of human basal cell carcinoma acquire properties of multipotent stem cells

Pavol Szabó^{*†}, Michal Kolář[†], Barbora Dvořánková^{*‡}, Lukáš Lacina^{*§}, Jiří Štorkš, Čestmír Víček[†], Hynek Strnad[†], Miroslav Tvrdek[‡] and Karel Smetana Jr^{*‡†}



Metaplastická chrupavčitá tkáň

Kmenové znaky a melanom

OPEN ACCESS Freely available online



Melanoma Spheroids Grown Under Neural Crest Cell Conditions Are Highly Plastic Migratory/Invasive Tumor Cells Endowed with Immunomodulator Function

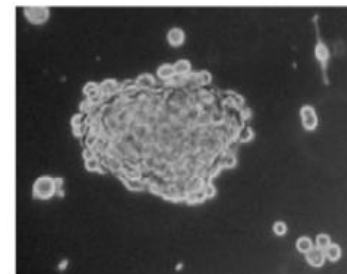
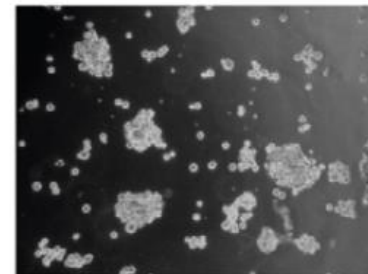
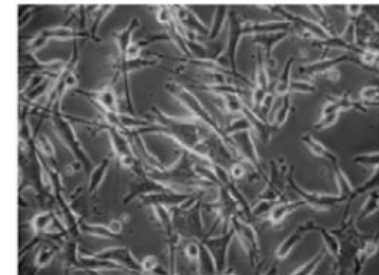
Kiran Ramgolam¹✉, Jessica Lauriol²✉, Claude Lalou¹, Laura Laudén¹, Laurence Michel³, Pierre de la Grange⁴, Abdel-Majid Khatib¹, Fawzi Aoudjit⁵, Dominique Charron^{1,6}, Catherine Alcaide-Loridan², Reem Al-Daccak^{1*}

J Cancer Res Clin Oncol (2012) 138:1145–1154
DOI 10.1007/s00432-012-1186-2

ORIGINAL PAPER

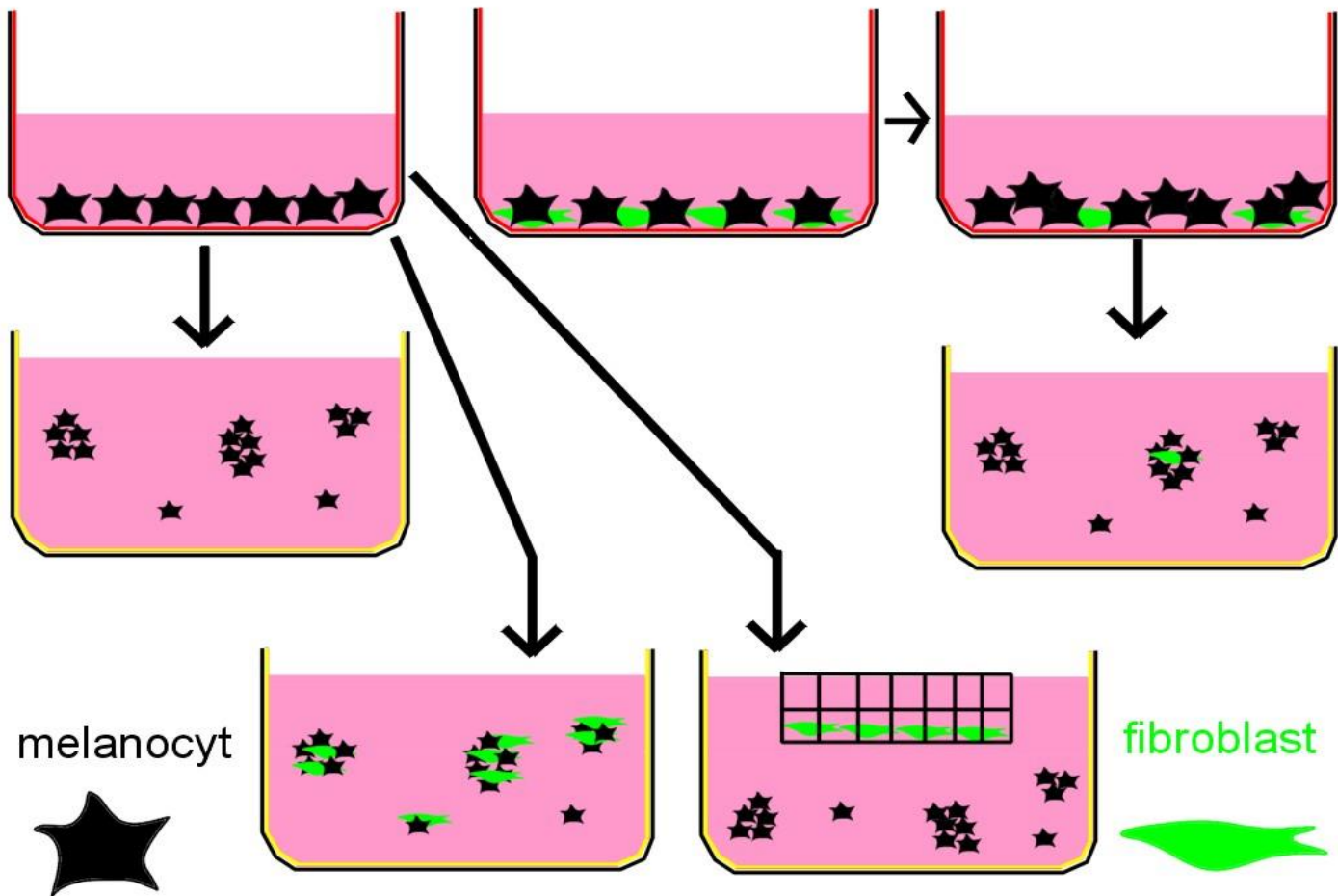
Nanog and Oct4 overexpression increases motility and transmigration of melanoma cells

Aurelie Borrull · Stephanie Ghislin ·
Frederique Deshayes · Jessica Lauriol ·
Catherine Alcaide-Loridan · Sandrine Middendorp

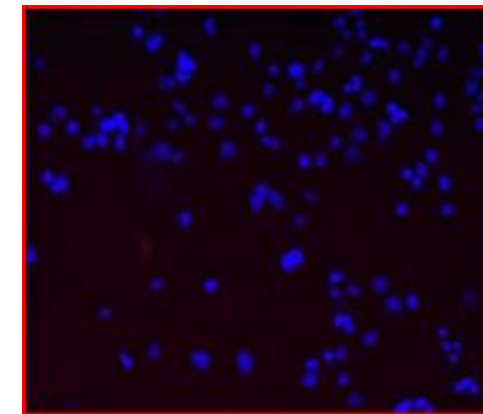
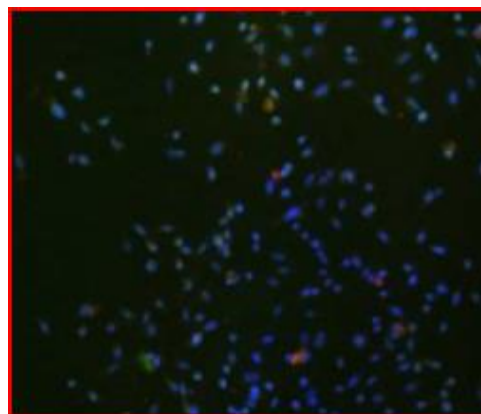
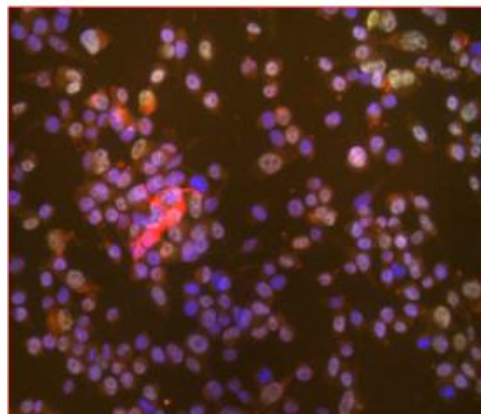
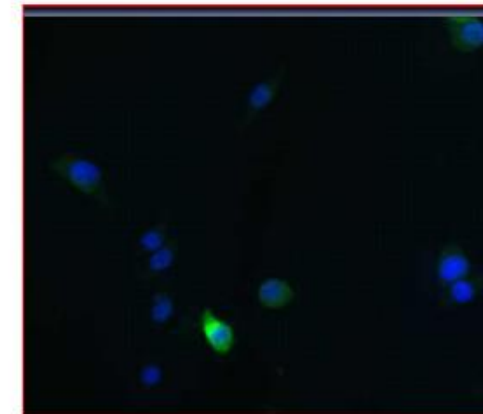
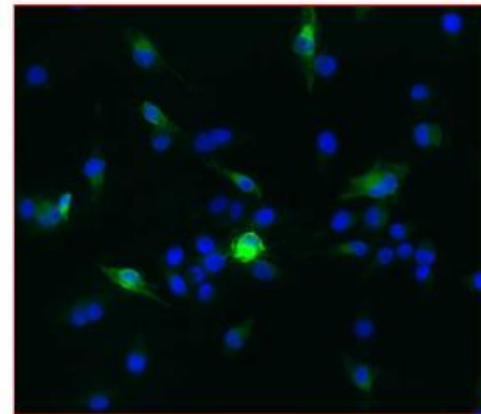
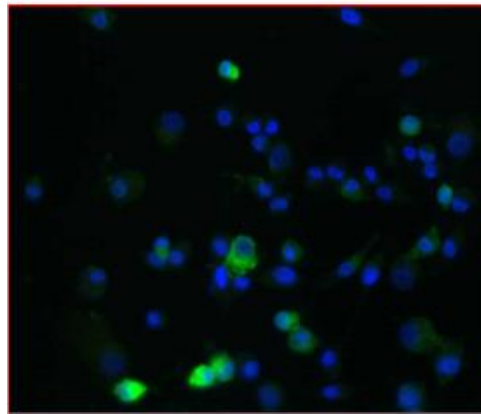
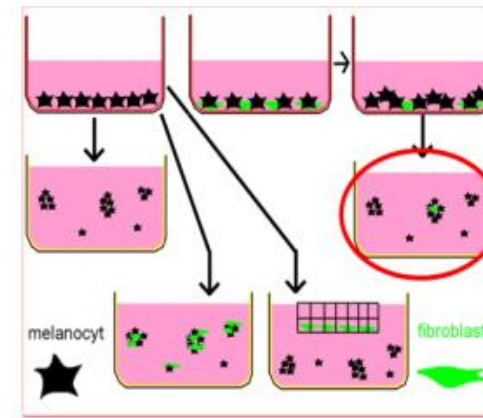
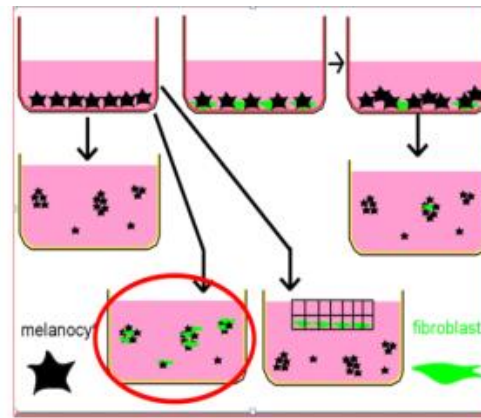
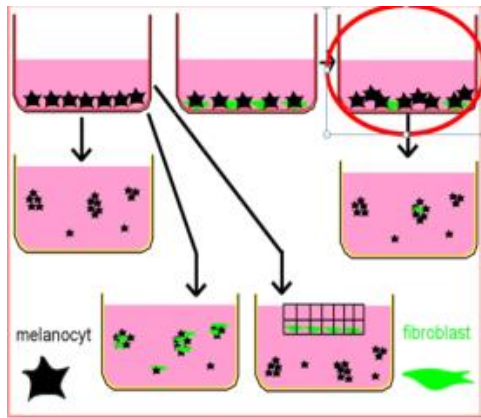


Indukce kmenových znaků u melanomových linií in vitro

- Znaky dediferenciace a kmenovosti – Oct4, Nanog, Nestin, CD271, keratiny



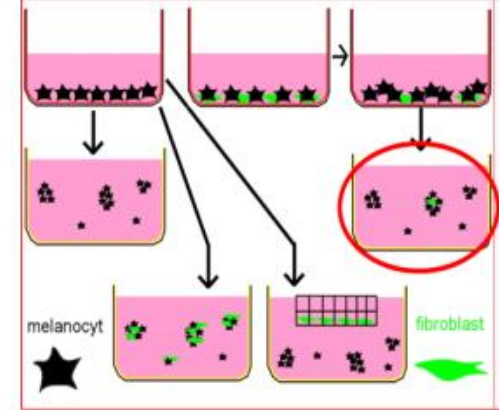
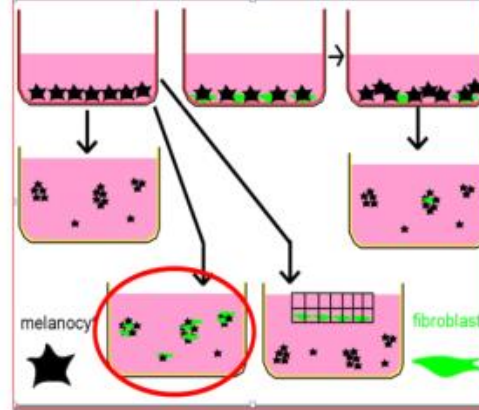
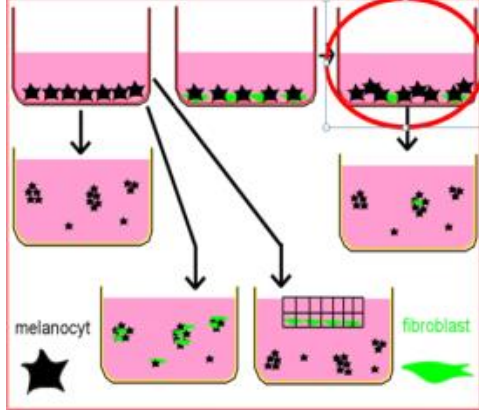
G361



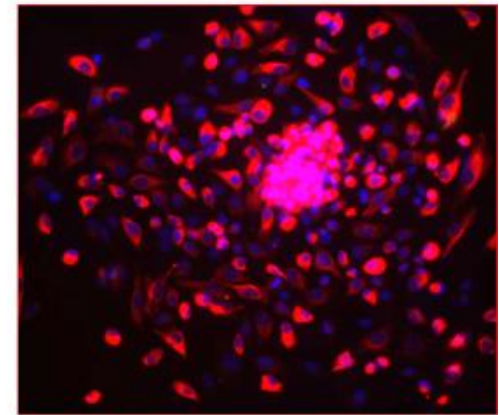
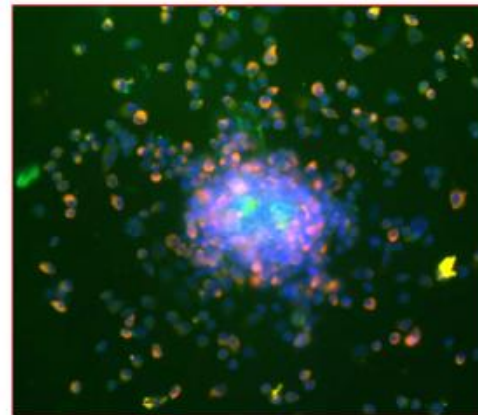
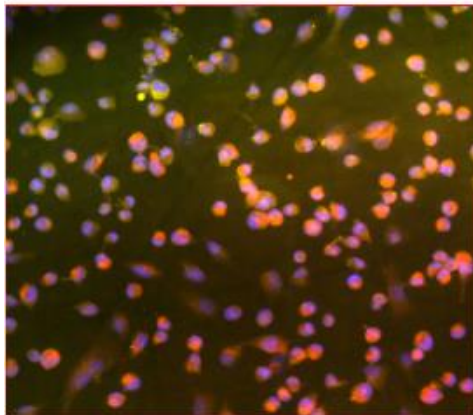
- CD271

- Oct4 + Nanog

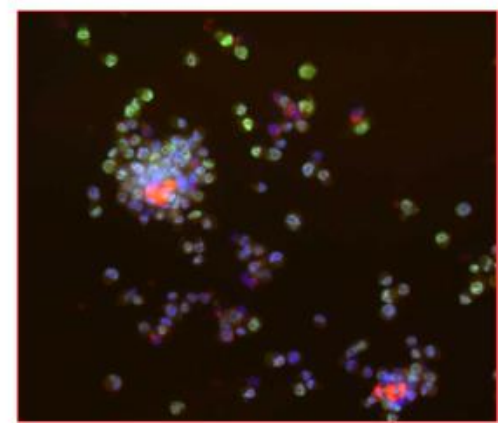
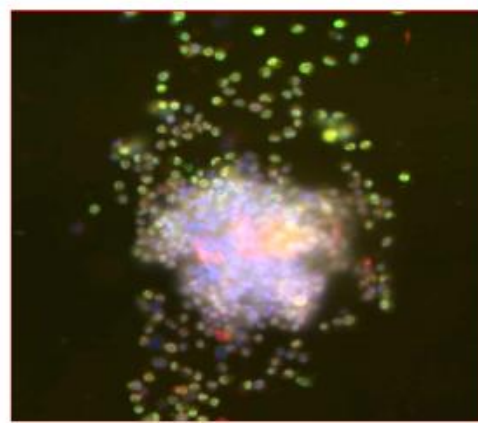
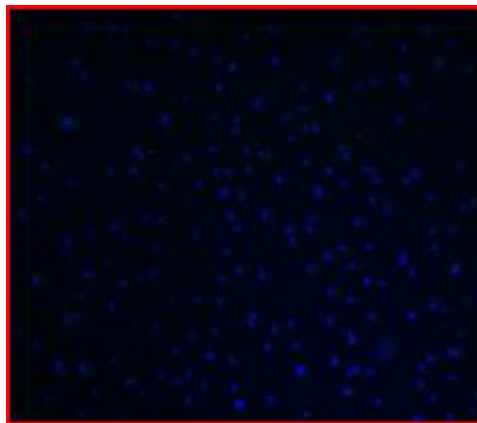
BLM



- Keratin+
Nestin



- Oct4 +
Nanog



Molekulárně genetické metody

Mohou za vše geny a genetická predispozice, nebo vlivy zevního prostředí?

Familiární melanom: CDKN₂A a p16, méně pak CDK₄

MAP kinázy – mutace **BRAF V600E**, K, D,
cca 50% melanomů, až 70-82% v benigních melanocytárních lézích
– MEK

N-Ras – mutace (5,9 % v benigních melanocytárních lézích, 5,2-28 %
v melanomu)

Metodika: PCR, cobas test
stanovení z DNA tedy
dobrá výtěžnost i z
parafinového bloku



Molecular diagnostics in melanoma

Target	Agent	Clinical trial
BRAF	Bay 43-9006	Yes
RAS	Farnesyl transferase inhibitors: R115777 (tipifarnib, Zarnestra), SCH66336 (lonafarnib, Sarasar) BMS-214662.	Yes
VEGF	Bevacizumab (Avastin)	Yes
PTEN loss	CCI-779 (inhibitor of mTOR, the mammalian target of rapamycin)	Yes
PI3K/AKT	CCI-779	Yes
MAPK	Anthrax lethal toxin CI 1040	No
CDK4	Inhibitor (small molecule)	No
BCL-2	Antisense bcl-2 (oblimersen sodium)	Yes
BCL-XL	Inhibitor A-385358	No
PTK	STI571 (Gleevec)	Yes
Angiogenesis	CC-5013 (Revimid)	Yes
Oxygen-free radicals	Histamine (Ceplene)	Yes

N-Ras mutace

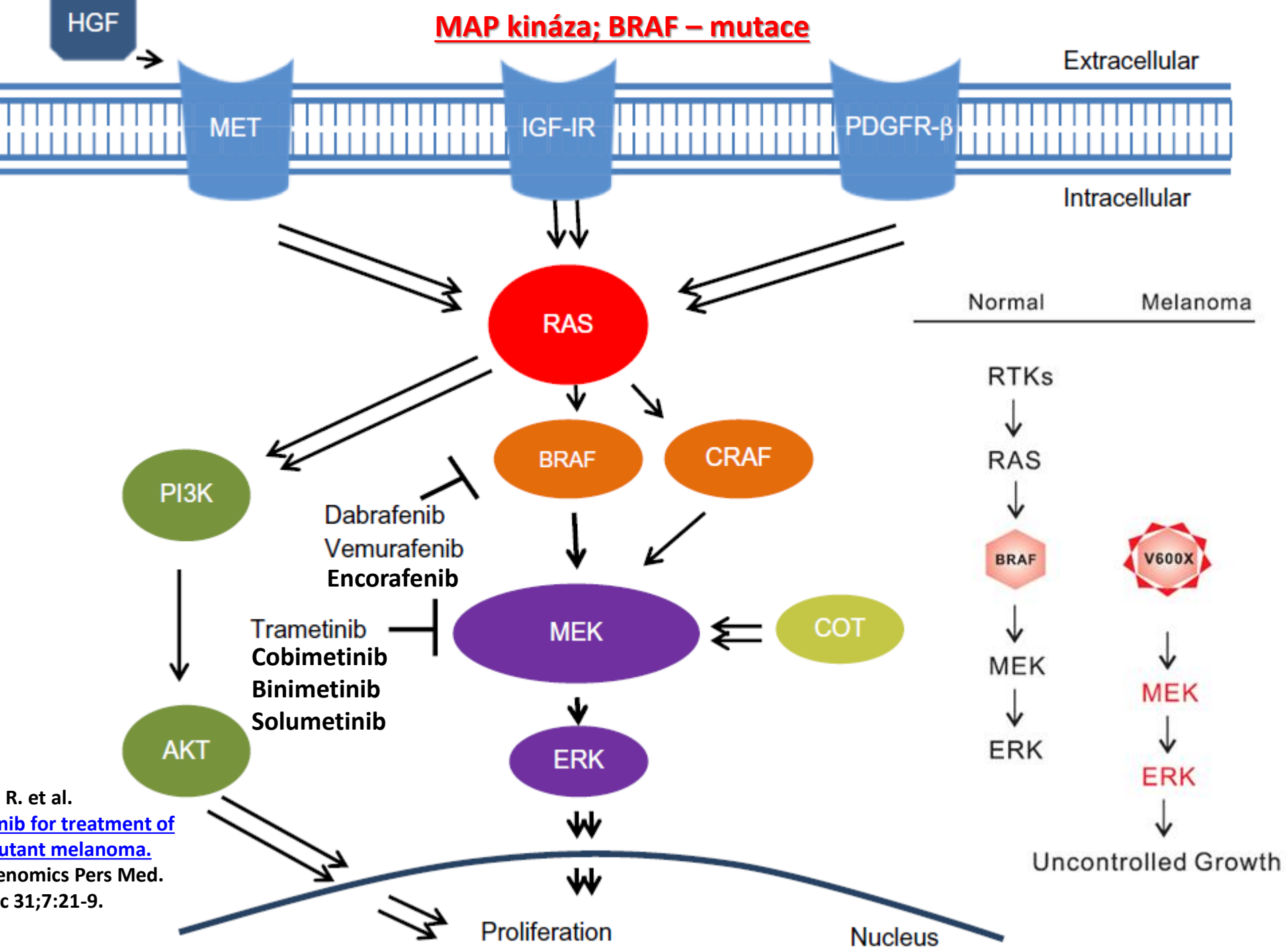
- rat sarcoma virus, chromozom 1
- Asi 15-18% melanomů
- K-ras, H-ras – časté mutace v nádorové biologii
- GTP-vážíci protein, ovlivňuje buněčný cyklus
- Terapie MEK inhibitory
- K-Ras/B-Raf – kolorektální karcinom – MEK inhibitory

KIT mutace

- c-KIT cca 5-8% melanomů – slizniční, akrolentiginózní melanom
- CD117, GIST tumor „GISTom“.
- Imatinib, Nilotinib

BRAF/B-Raf mutace

- Typ V600E (80%), K (19%), D (MAP kináza) – somatická mutace
 - serine/threonin-protein kinaza B-Raf
 - Intracelulární signalizace – proliferace
- cca 50% melanomů, až 70-82% v benigních melanocytárních lézích
- V řadě jiných nádorech 30% papilárních karcinom štítné žlázy, 3% plicní karcinom, 5% kolorektálních karcinomů etc.
- **Vyšetření B-Raf mutace se stává standardem u metastazujícího melanomu.**



R. et al.
[nib for treatment of
mutant melanoma.](#)
enomics Pers Med.
c 31;7:21-9.

Biologická terapie – *B-Raf* inhibitory

The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

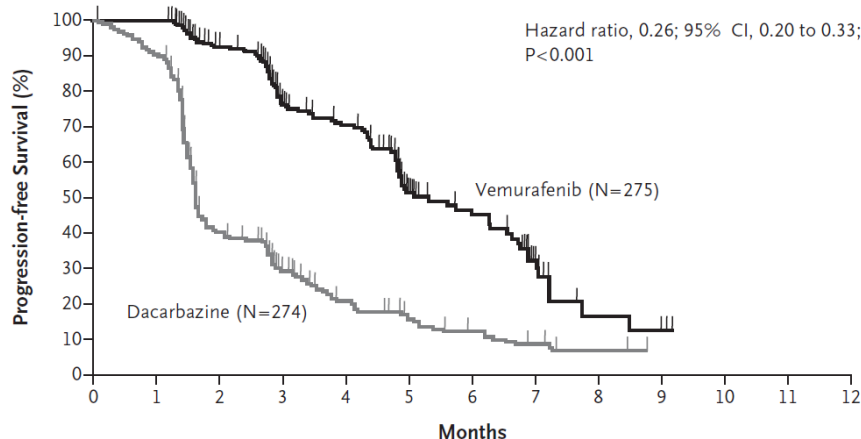
ORIGINAL ARTICLE

Improved Survival with Vemurafenib in Melanoma with BRAF V600E Mutation

Paul B. Chapman, M.D., Axel Hauschild, M.D., Caroline Robert, M.D., Ph.D., John B. Haanen, M.D., Paolo Ascierto, M.D., James Larkin, M.D., Reinhard Dummer, M.D., Claus Garbe, M.D., Alessandro Testori, M.D., Michele Maio, M.D., David Hogg, M.D., Paul Lorigan, M.D., Celeste Lebbe, M.D., Thomas Jouary, M.D., Dirk Schadendorf, M.D., Antoni Ribas, M.D., Steven J. O'Day, M.D., Jeffrey A. Sosman, M.D., John M. Kirkwood, M.D., Alexander M.M. Eggermont, M.D., Ph.D., Brigitte Dreno, M.D., Ph.D., Keith Nolop, M.D., Jiang Li, Ph.D., Betty Nelson, M.A., Jeannie Hou, M.D., Richard J. Lee, M.D., Keith T. Flaherty, M.D., and Grant A. McArthur, M.B., B.S., Ph.D., for the BRIM-3 Study Group*

- Pacienti ve stádiu III a IV
- Srovnání Vemurafenib vs Dacarbazin
- Terapeutická odpověď 58-65%
- relativně krát. efekt odpovědi
- Probíhající studie v adjuvantním podávání
- studie BRIM3, OS 13,6 oproti 9,7
- PFS 6,9 vs 1,6

A Progression-free Survival



No. at Risk

Dacarbazine	274	213	85	48	28	16	10	6	3	0	0	0	0
Vemurafenib	275	268	211	122	105	50	35	16	4	3	0	0	0

Biologická terapie – *B-Raf* inhibitory + MEK inhibitory

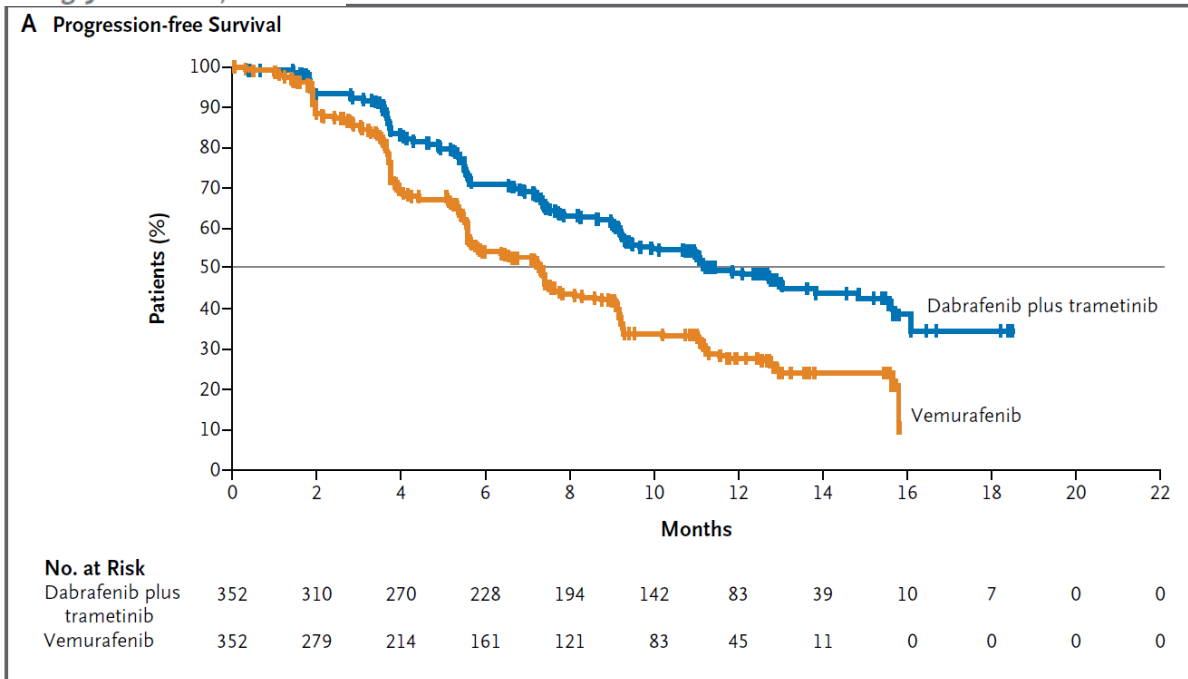
The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

ORIGINAL ARTICLE

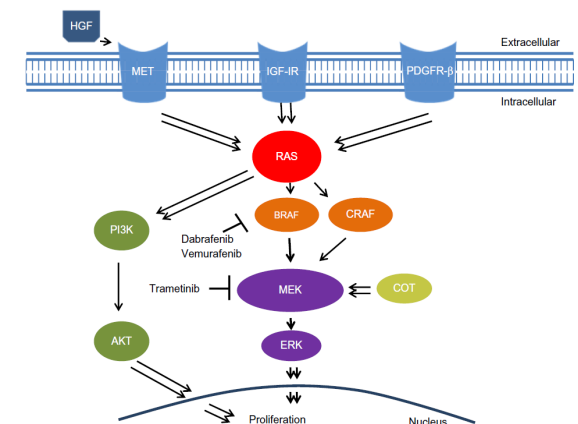
Improved Overall Survival in Melanoma with Combined Dabrafenib and Trametinib

Caroline Robert, M.D., Ph.D., Boguslawa Karaszewska, M.D., Jacob Schachter, M.D., Piotr Rutkowski, M.D., Ph.D., Andrzej Mackiewicz, M.D., Ph.D., Daniil Stroiakovski, M.D., Michael Lichinitser, M.D., Reinhard Dummer, M.D., Florent Grange, M.D., Ph.D., Laurent Mortier, M.D., Vanna Chiarion-Sileni, M.D., Kamil Drucis, M.D., Ph.D., Ivana Krajsova, M.D., Axel Hauschild, M.D., Ph.D., Paul Lorigan, M.D., Pascal Wolter, M.D., Georgina V. Long, M.D., Ph.D., Keith Flaherty, M.D., Paul Nathan, M.D., Ph.D., Antoni Ribas, M.D., Ph.D., Anne-Marie Martin, Ph.D., Peng Sun, Ph.D., Wendy Crist, B.A., Jeff Legos, Ph.D., Stephen D. Rubin, M.D., Shonda M. Little, M.P.H., and Dirk Schadendorf, M.D.

N Engl J Med 2015;372:30-9.



- Pacienti ve stádiu III a IV
- Srovnání Vemurafenib vs Dabrafenib + Trametinib
- Terapeutická odpověď 75-80%
- Výrazné prodloužení efektu
- COMBI-V, COMBI-D
- coBRIM OS 22,3 vs 17,4; PFS 12,3 vs 7,2



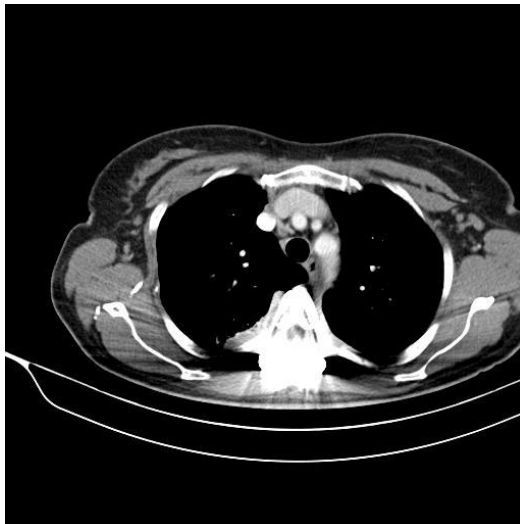
Kainthla R. et al. [Dabrafenib for treatment of BRAF-mutant melanoma](#). *Pharmgenomics Pers Med*. 2013 Dec 31;7:21-9.

Pacient ročník 1968 selhání terapie//vznik rezistence

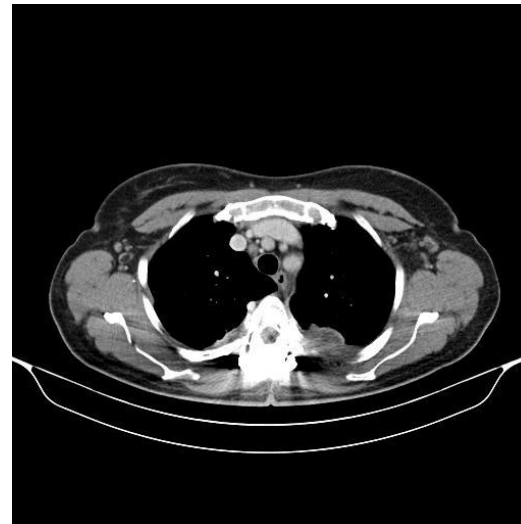
Před zahájením terapie



2 měsíce



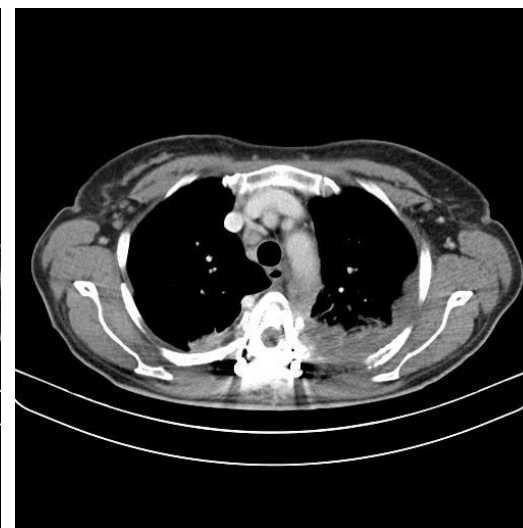
4 měsíce



6 měsíců



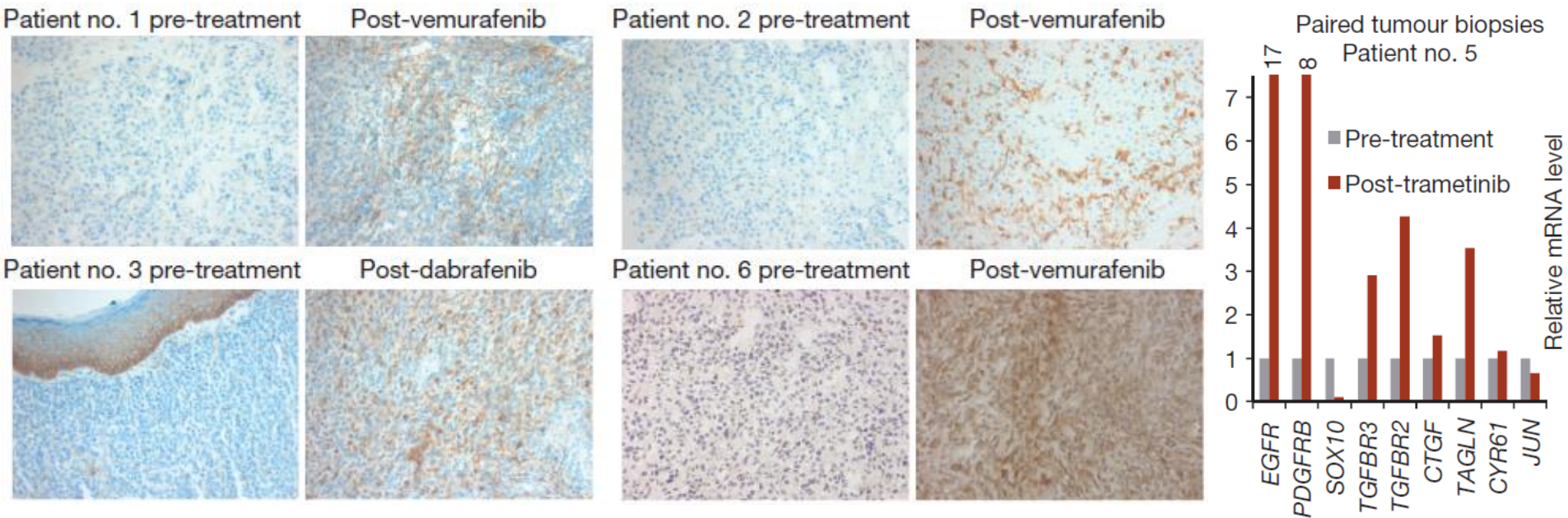
8 měsíců - ukončení



11 měsíců/chemoterapie

Reversible and adaptive resistance to BRAF(V600E) inhibition in melanoma

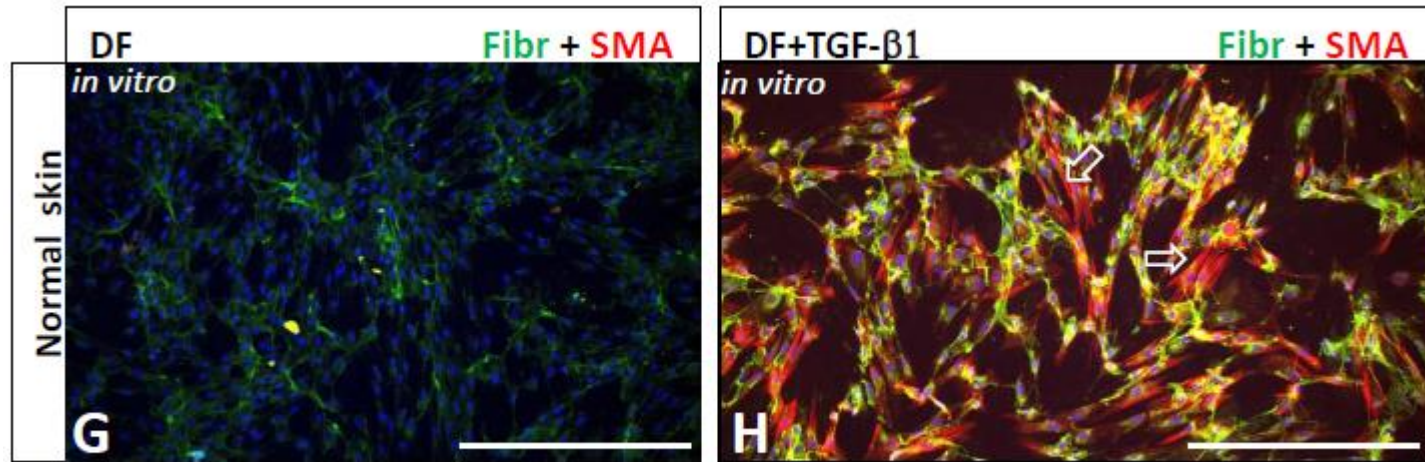
Chong Sun^{1*}, Liqin Wang^{1*}, Sidong Huang^{1,2*}, Guus J. J. E. Heynen¹, Anirudh Prahallad¹, Caroline Robert³, John Haanen⁴, Christian Blank⁴, Jelle Wesseling⁵, Stefan M. Willems^{1,6}, Davide Zecchin^{7,8}, Sebastijan Hobor⁸, Prashanth K. Bajpe¹, Cor Liefink¹, Christina Mateus³, Stephan Vagner³, Wipawadee Grernrum¹, Ingrid Hofland⁵, Andreas Schlicker¹, Lodewyk F. A. Wessels¹, Roderick L. Beijersbergen¹, Alberto Bardelli^{7,8,9}, Federica Di Nicolantonio^{7,8}, Alexander M. M. Eggermont³ & Rene Bernards¹



Ovlivňuje rezistenci B-raf inhibitorů vliv nádorového mikroprostředí?

Nádorové melanocyty vs fibroblasty

Vliv TGF- β 1 na fibroblasty – indukce SMA (myofibroblastů)



Human Galectins Induce Conversion of Dermal Fibroblasts into Myofibroblasts and Production of Extracellular Matrix: Potential Application in Tissue Engineering and Wound Repair

Barbora Dvořánková^{a, d} Pavol Szabo^{a, d} Lukas Lacina^{a, b, d} Peter Gal^{a, f, g}
Jana Uhrova^c Tomas Zima^c Herbert Kaltner^h Sabine André^h
Hans-Joachim Gabius^h Eva Sykova^{d, e} Karel Smetana, Jr.^{a, d}

**Cells
Tissues
Organs**

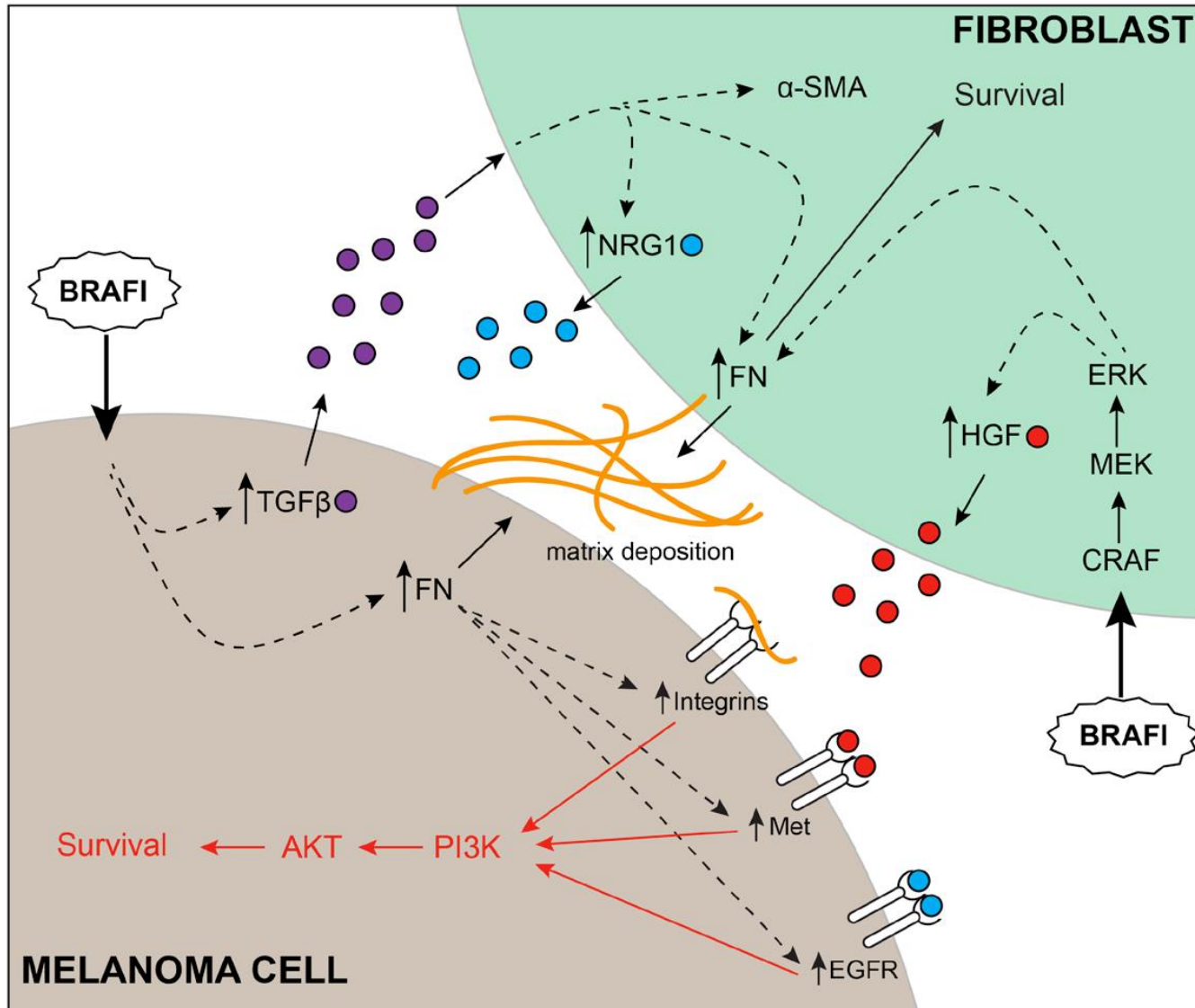
Cells Tissues Organs
DOI: 10.1159/000324864

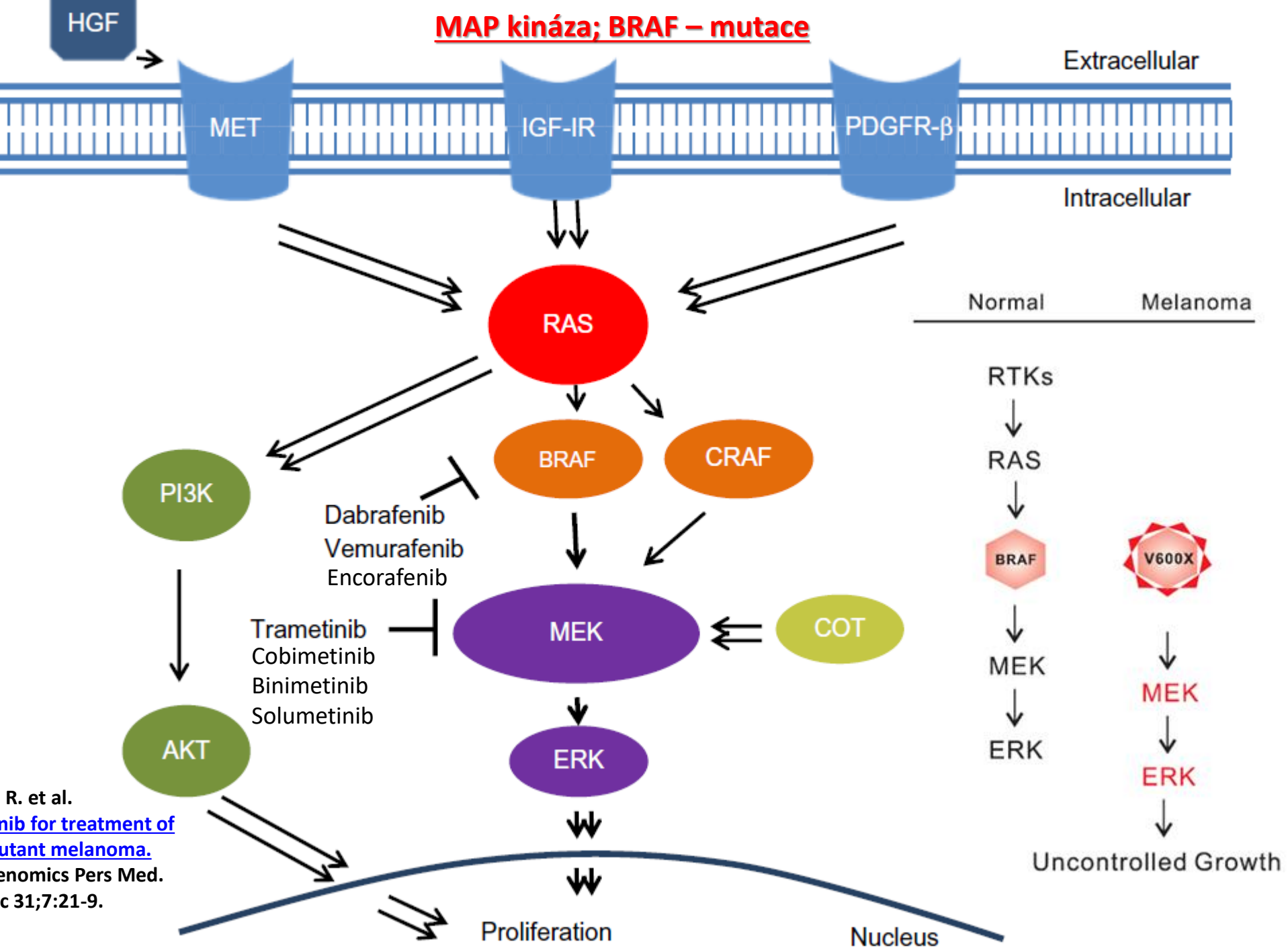
Synthetic Polyamine BPA-C8 Inhibits TGF- β 1-Mediated Conversion of Human Dermal Fibroblast to Myofibroblasts and Establishment of Galectin-1-Rich Extracellular Matrix in Vitro

Alžběta Miřková,^[a, b] Ondřej Kodet,^[a, c] Pavol Szabo,^[a] Jan Kučera,^[a, c] Barbora Dvořánková,^[a] Sabine André,^[d] Girish Koripelly,^[d] Hans-Joachim Gabius,^[d] Jean-Marie Lehn,^{*,[e]} and Karel Smetana, Jr.^{*,[a]}

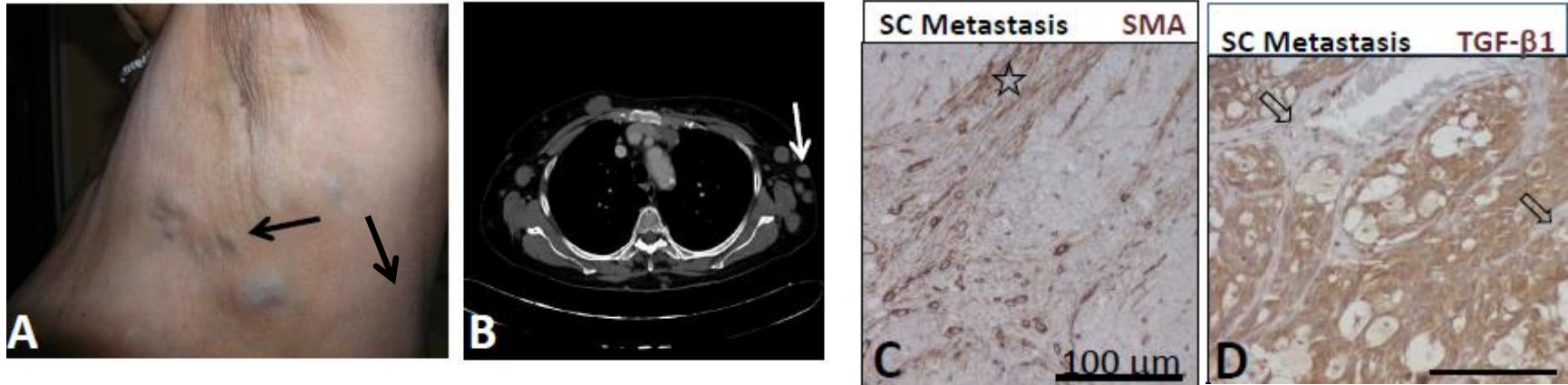
**CHEMBIOCHEM
FULL PAPERS**

Vliv stromatu na indukci rezistence na B-Raf inhibitory

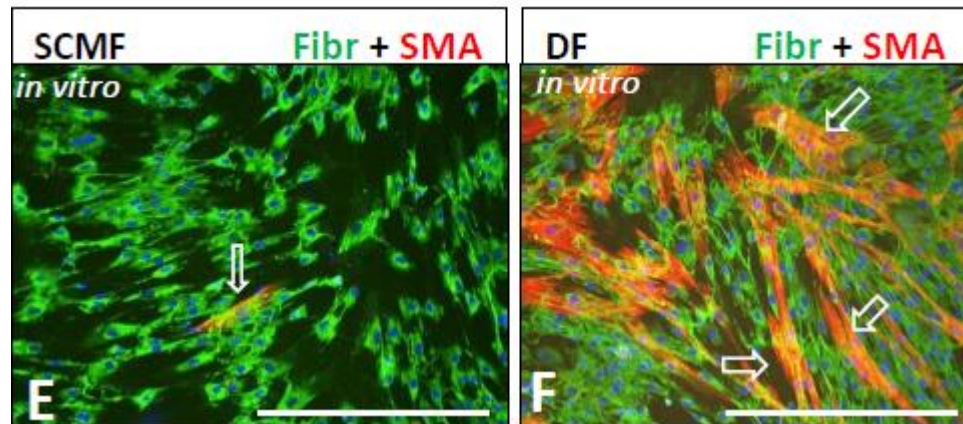




Nádorové melanocyty vs fibroblasty

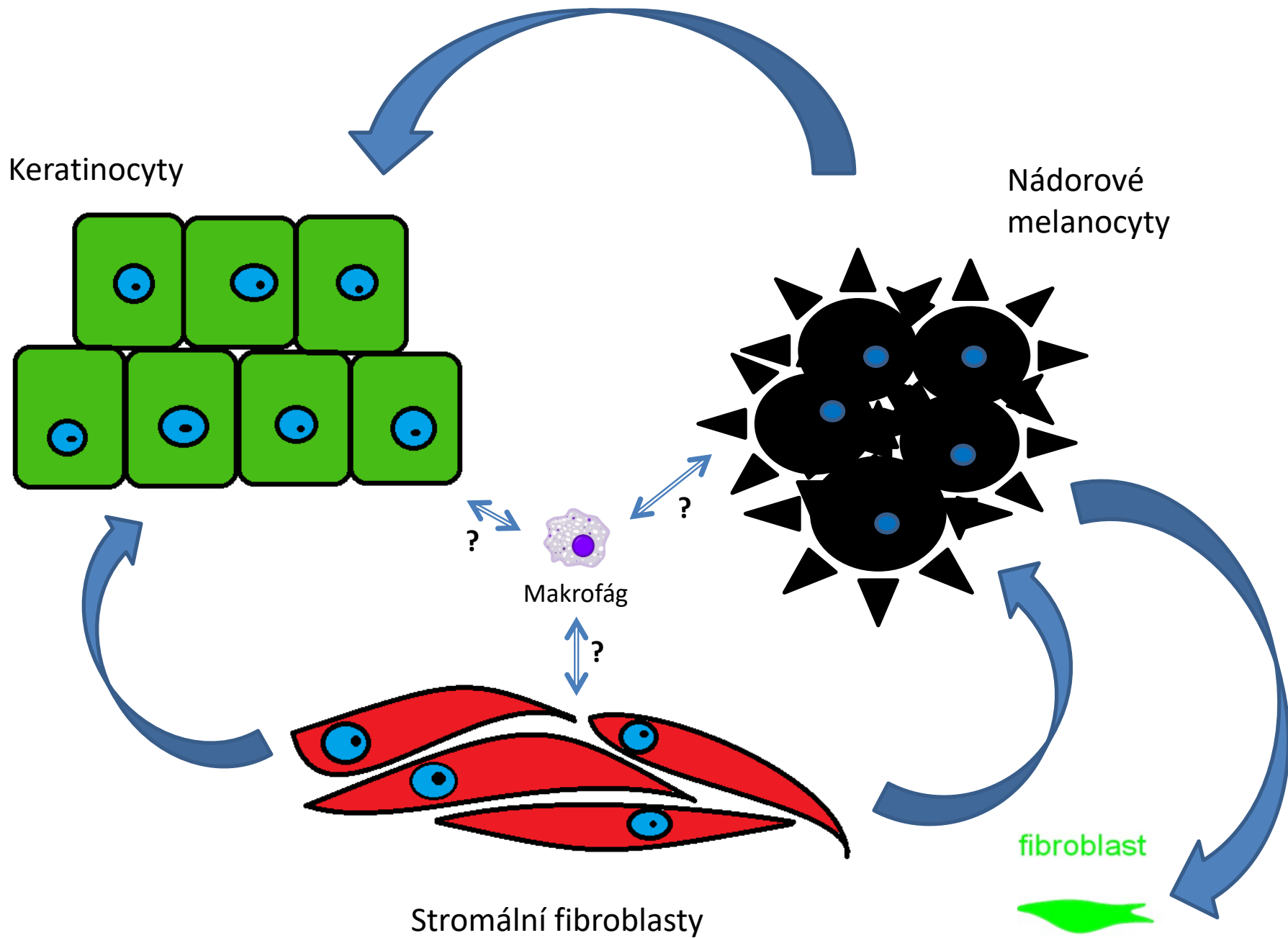


Schopnost
ovlivnit
vzdálené
fibroblasty –
endogenní/par
aneoplastický
efekt?



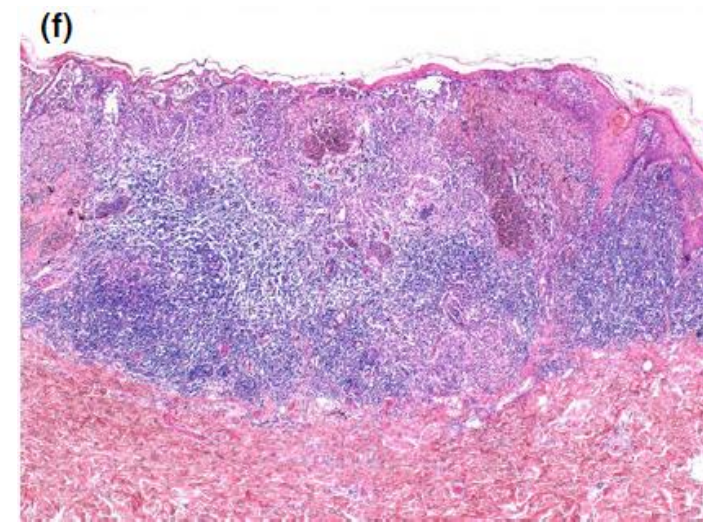
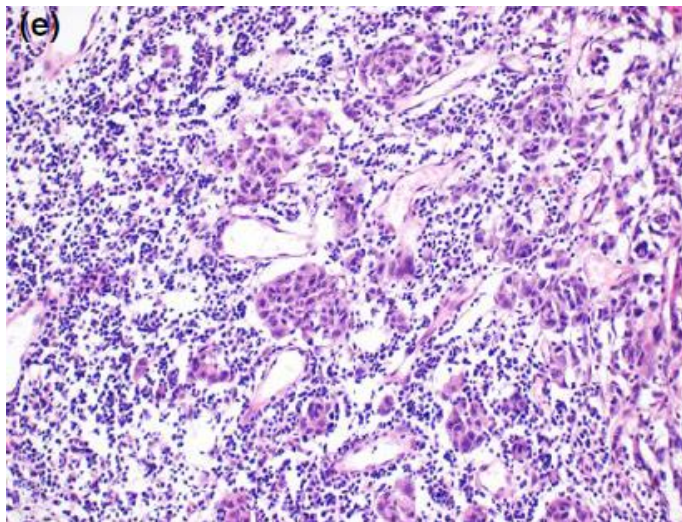
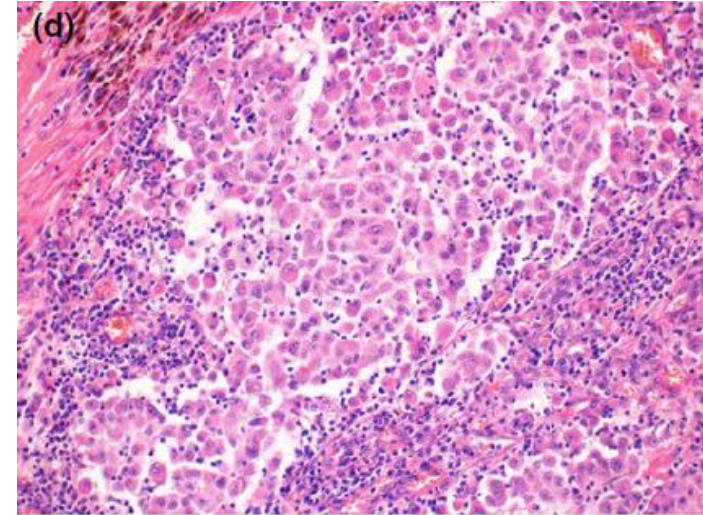
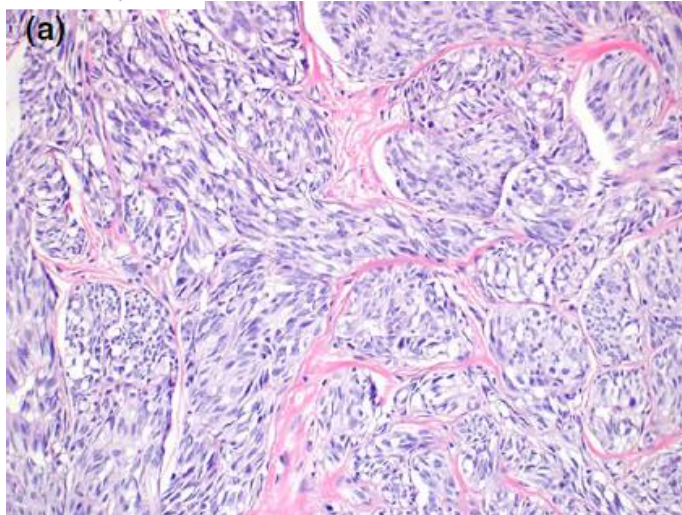
**Microenvironment-driven resistance to B-Raf inhibition
in a melanoma patient is accompanied by broad changes
of gene methylation and expression in distal fibroblasts**

ONDŘEJ KODET^{1,4}, BARBORA DVOŘÁNKOVÁ^{1,3}, BĚLA BENDLOVÁ⁵, VLASTA SÝKOROVÁ⁵,
IVANA KRAJSOVÁ⁴, JIŘÍ ŠTORK^{2,4}, JAN KUČERA^{1,2,4}, PAVOL SZABO^{1,3}, HYNEK STRNAD⁶,
MICHAL KOLÁŘ⁶, ČESTMÍR VLČEK⁶, KAREL SMETANA Jr^{1,3} and LUKÁŠ LACINA^{1,4}



Comparison of five different scoring methods in the evaluation of inflammatory infiltration (tumor-infiltrating lymphocytes) in superficial spreading and nodular melanoma

Kristýna Němejcová¹ | Ivana Tichá¹ | Michaela Bártů¹ | Ondřej Kodet^{2,3} |
Miroslav Důra² | Radek Jakša¹ | Romana Michálková¹ | Pavel Dundr¹ 
Pigment Cell Melanoma Res. 2018;1–12.



Biologická terapie – Immunoterapie I.

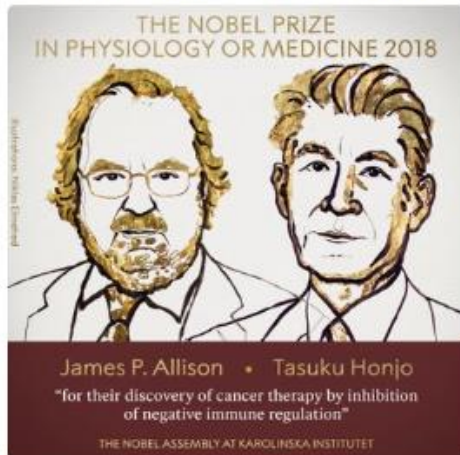
check-point inhibitory

- Od roku 2008-2009 – IgG1 monoklonální protilátka proti CLTA -4 - **Ipilimumab**

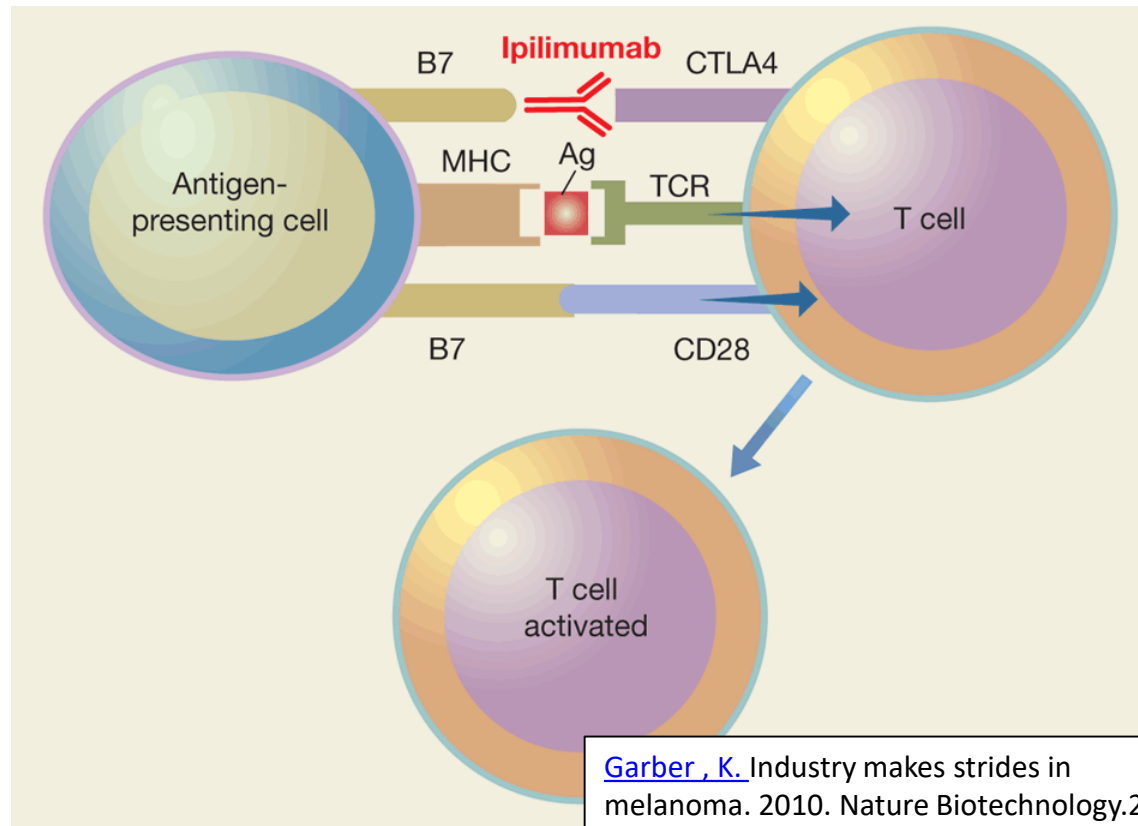
THE NOBEL PRIZE
The Nobel Prize
@NobelPrize

BREAKING NEWS

The 2018 #NobelPrize in Physiology or Medicine has been awarded jointly to James P. Allison and Tasuku Honjo "for their discovery of cancer therapy by inhibition of negative immune regulation."



24.5K 10:31 AM - Oct 1, 2018



[Garber, K.](#) Industry makes strides in melanoma. 2010. Nature Biotechnology.28, 763–764.

Anti-CTLA-4, Ipilimumab

The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

The NEW ENGLAND
JOURNAL of MEDICINE

ESTABLISHED IN 1812

AUGUST 19, 2010

VOL. 363 NO. 8

ORIGINAL ARTICLE

Improved Survival with Ipilimumab in Patients with Metastatic Melanoma

F. Stephen Hodi, M.D., Steven J. O'Day, M.D., David F. McDermott, M.D., Robert W. Weber, M.D., Jeffrey A. Sosman, M.D., John B. Haanen, M.D., Rene Gonzalez, M.D., Caroline Robert, M.D., Ph.D., Dirk Schadendorf, M.D., Jessica C. Hassel, M.D., Wallace Akerley, M.D., Alfons J.M. van den Eertwegh, M.D., Ph.D., Jose Lutzky, M.D., Paul Lorigan, M.D., Julia M. Vaubel, M.D., Gerald P. Linette, M.D., Ph.D., David Hogg, M.D., Christian H. Ottensmeier, M.D., Ph.D., Celeste Lebbe, M.D., Christian Peschel, M.D., Ian Quirt, M.D., Joseph I. Clark, M.D., Jedd D. Wolchok, M.D., Ph.D., Jeffrey S. Weber, M.D., Ph.D., Jason Tian, Ph.D., Michael J. Yellin, M.D., Geoffrey M. Nichol, M.B., Ch.B., Axel Hoos, M.D., Ph.D., and Walter J. Urban, M.D., Ph.D.

Ipilimumab plus Dacarbazine for Previously Untreated Metastatic Melanoma

Caroline Robert, M.D., Ph.D., Luc Thomas, M.D., Ph.D., Igor Bondarenko, M.D., Ph.D., Steven O'Day, M.D., Jeffrey Weber, M.D., Ph.D., Claus Garbe, M.D., Celeste Lebbe, M.D., Ph.D., Jean-François Baurain, M.D., Ph.D., Alessandro Testori, M.D., Jean-Jacques Grob, M.D., Neville Davidson, M.D., Jon Richards, M.D., Ph.D., Michele Maio, M.D., Ph.D., Axel Hauschild, M.D., Wilson H. Miller, Jr., M.D., Ph.D., Pere Gascon, M.D., Ph.D., Michal Lotem, M.D., Kaan Harmankaya, M.D., Ramy Ibrahim, M.D., Stephen Francis, M.Sc., Tai-Tsang Chen, Ph.D., Rachel Humphrey, M.D., Axel Hoos, M.D., Ph.D., and Jedd D. Wolchok, M.D., Ph.D.

N Engl J Med 2011;364:2517-26.

ANTICANCER RESEARCH 35: 6303-6310 (2015)

Long-term Survival with Ipilimumab: Experience from a National Expanded Access Program for Patients with Melanoma

IVANA KRAJSOVÁ¹, PETR ARENBERGER², RADEK LAKOMÝ³, EUGEN KUBALA⁴, IVANA BŘEZINOVÁ⁵, ALEXANDR POPRACH³, MAREK ŠTASTNÝ⁶, JAN MUŽÍK⁷ and BOHUSLAV MELICHAR⁸

Biologická terapie - Imunoterapie

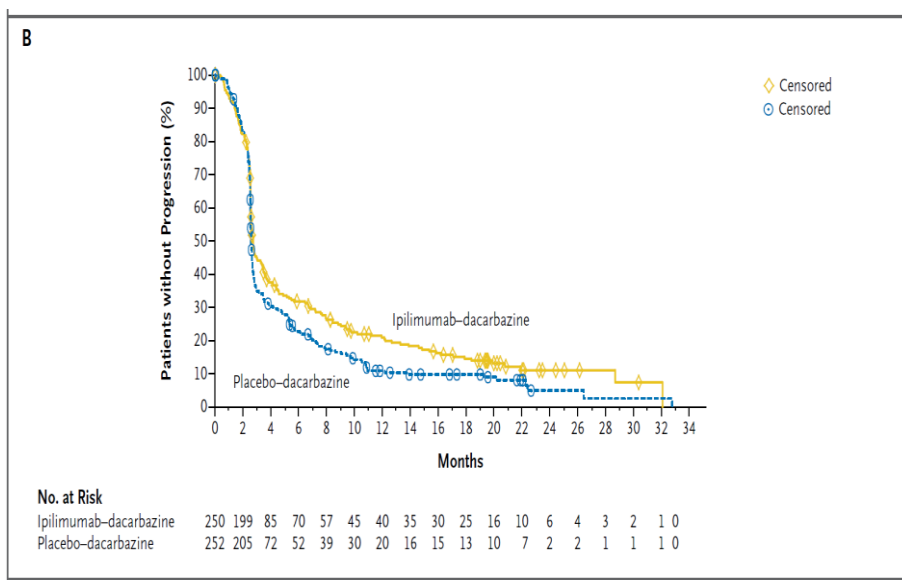
The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

ORIGINAL ARTICLE

Ipilimumab plus Dacarbazine for Previously Untreated Metastatic Melanoma

Caroline Robert, M.D., Ph.D., Luc Thomas, M.D., Ph.D.,
Igor Bondarenko, M.D., Ph.D., Steven O'Day, M.D., Jeffrey Weber M.D., Ph.D.,
Claus Garbe, M.D., Celeste Lebbe, M.D., Ph.D., Jean-François Baurain, M.D., Ph.D.,
Alessandro Testori, M.D., Jean-Jacques Grob, M.D., Neville Davidson, M.D.,
Jon Richards, M.D., Ph.D., Michele Maio, M.D., Ph.D., Axel Hauschild, M.D.,
Wilson H. Miller, Jr., M.D., Ph.D., Pere Gascon, M.D., Ph.D., Michal Lotem, M.D.,
Kaan Harmankaya, M.D., Ramy Ibrahim, M.D., Stephen Francis, M.Sc.,
Tai-Tsang Chen, Ph.D., Rachel Humphrey, M.D., Axel Hoos, M.D., Ph.D.,
and Jedd D. Wolchok, M.D., Ph.D.

- Pacienti ve stádiu III a IV
- Srovnání Ipilimumabu vs Dacarbazin
- Terapeutická odpověď 17-25%
- Dlouhodobí efekt léčebné odpovědi
- Probíhající studie v adjuvantním podávání
- OS 11,2 vs 9,1



The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

ESTABLISHED IN 1812

AUGUST 19, 2010

VOL. 363 NO. 8

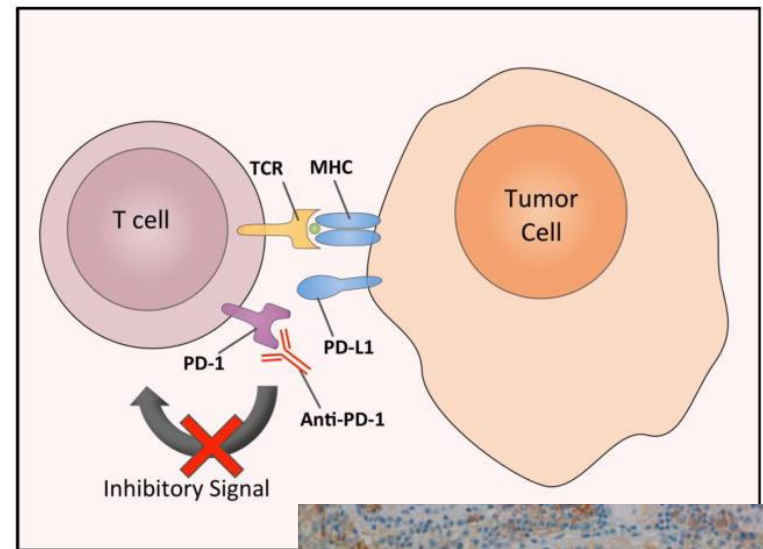
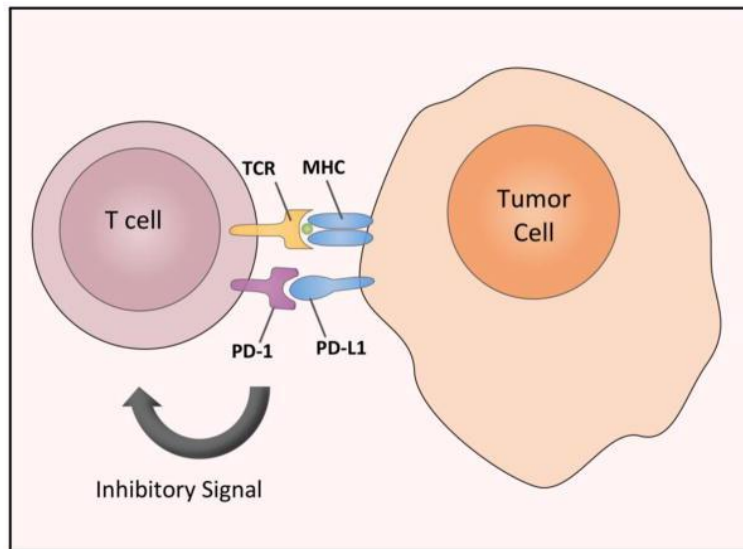
Improved Survival with Ipilimumab in Patients with Metastatic Melanoma

F. Stephen Hodi, M.D., Steven J. O'Day, M.D., David F. McDermott, M.D., Robert W. Weber, M.D.,
Jeffrey A. Sosman, M.D., John B. Haanen, M.D., Rene Gonzalez, M.D., Caroline Robert, M.D., Ph.D.,
Dirk Schadendorf, M.D., Jessica C. Hassel, M.D., Wallace Akerley, M.D., Alfons J.M. van den Eertwegh, M.D., Ph.D.,
Jose Lutzky, M.D., Paul Lorigan, M.D., Julia M. Vaubel, M.D., Gerald P. Linette, M.D., Ph.D., David Hogg, M.D.,
Christian H. Ottensmeier, M.D., Ph.D., Celeste Lebbe, M.D., Christian Peschel, M.D., Ian Quirt, M.D.,
Joseph I. Clark, M.D., Jedd D. Wolchok, M.D., Ph.D., Jeffrey S. Weber, M.D., Ph.D., Jason Tian, Ph.D.,
Michael J. Yellin, M.D., Geoffrey M. Nichol, M.B., Ch.B., Axel Hoos, M.D., Ph.D., and Walter J. Urba, M.D., Ph.D.

Biologická terapie – Immunoterapie II.

check-point inhibitory

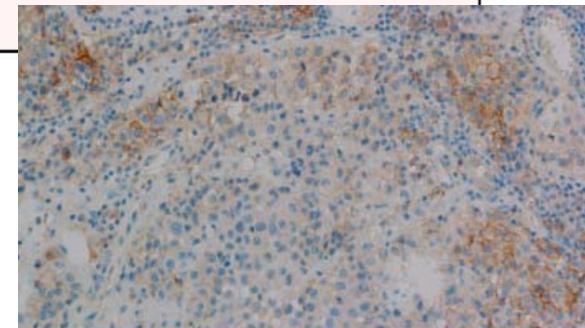
- Pembrolizumab – lidská protilátka proti PD-1



Targeting the PD-1 Pathway: A Promising Future for the Treatment of Melanoma

Andrew Mamalis^{1,2}, Manveer Garcha^{1,2}, and Jared Jagdeo^{1,2}

Arch Dermatol Res. 2014 August ; 306(6): 511–519.



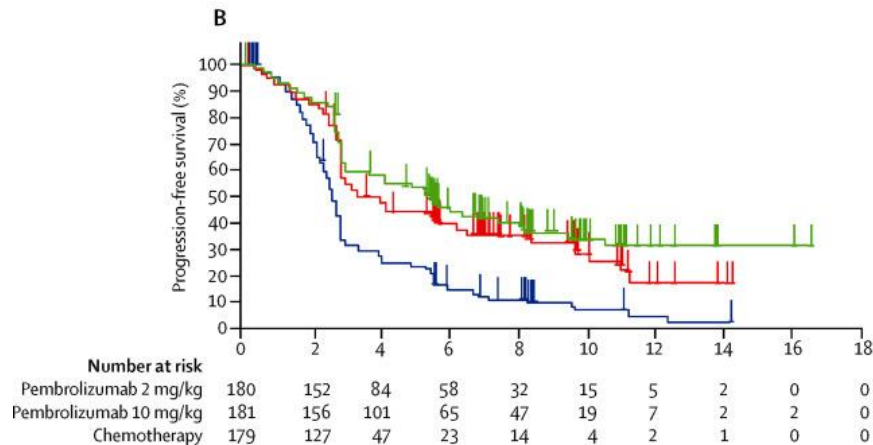
Biologická terapie - Imunoterapie

The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

ORIGINAL ARTICLE

Safety and Tumor Responses with Lambrolizumab (Anti-PD-1) in Melanoma

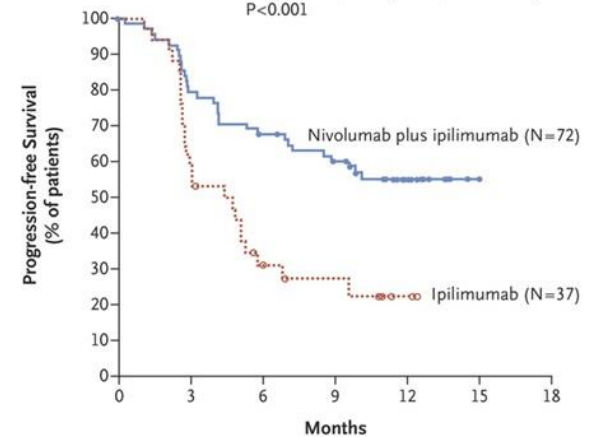
Omid Hamid, M.D., Caroline Robert, M.D., Ph.D., Adil Daud, M.D., F. Stephen Hodi, M.D., Wen-Jen Hwu, M.D., Ph.D., Richard Kefford, M.D., Ph.D., Jedd D. Wolchok, M.D., Ph.D., Peter Hersey, M.D., Ph.D., Richard W. Joseph, M.D., Jeffrey S. Weber, M.D., Ph.D., Roxana Dronca, M.D., Tara C. Gangadhar, M.D., Amita Patnaik, M.D., Hassane Zarour, M.D., Anthony M. Joshua, M.B., B.S., Ph.D., Kevin Gergich, M.A., Jeroen Ellassaiss-Schaap, Ph.D., Alain Algazi, M.D., Christine Mateus, M.D., Peter Boasberg, M.D., Paul C. Tumeh, M.D., Bartosz Chmielowski, M.D., Ph.D., Scot W. Ebbinghaus, M.D., Xiaoyun Nicole Li, Ph.D., S. Peter Kang, M.D., and Antoni Ribas, M.D., Ph.D.



CheckMate 037, 066

Keynote 001, 002, 006

	Death or Disease Progression	Median Progression-free Survival
	no. of patients/total no.	mo (95% CI)
Nivolumab plus Ipilimumab	30/72	NR
Ipilimumab	25/37	4.4 (2.8–5.7)
	Hazard ratio, 0.40 (95% CI, 0.23–0.68)	
	P<0.001	



No. at Risk	0	3	6	9	12	15	18
Nivolumab plus ipilimumab	72	54	45	38	20	1	0
Ipilimumab	37	20	9	6	2	0	0

Image taken from: Postow MA et al. N Engl J Med 2015.
DOI: 10.1056/NEJMoa1414428

CheckMate 67

Overall Survival with Combined Nivolumab and Ipilimumab in Advanced Melanoma

The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

ORIGINAL ARTICLE

Overall Survival with Combined Nivolumab and Ipilimumab in Advanced Melanoma

J.D. Wolchok, V. Chiarion-Sileni, R. Gonzalez, P. Rutkowski, J.-J. Grob, C.L. Cowey, C.D. Lao, J. Wagstaff, D. Schadendorf, P.F. Ferrucci, M. Smylie, R. Dummer, A. Hill, D. Hogg, J. Haanen, M.S. Carlino, O. Bechter, M. Maio, I. Marquez-Rodas, M. Guidoboni, G. McArthur, C. Lebbé, P.A. Ascierto, G.V. Long, J. Cebon, J. Sosman, M.A. Postow, M.K. Callahan, D. Walker, L. Rollin, R. Bhore, F.S. Hodi, and J. Larkin

Terapeutická odpověď

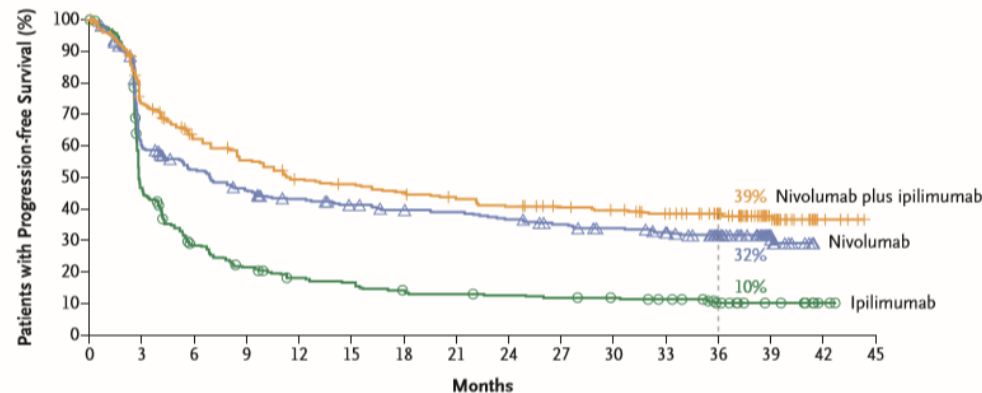
57,6% vs 43,7% vs 19% ($p < 0,0001$)

OS 58% vs 52% vs 34%

PFS 39% vs 32% vs 10%

HR 0,55 vs HR 0,65

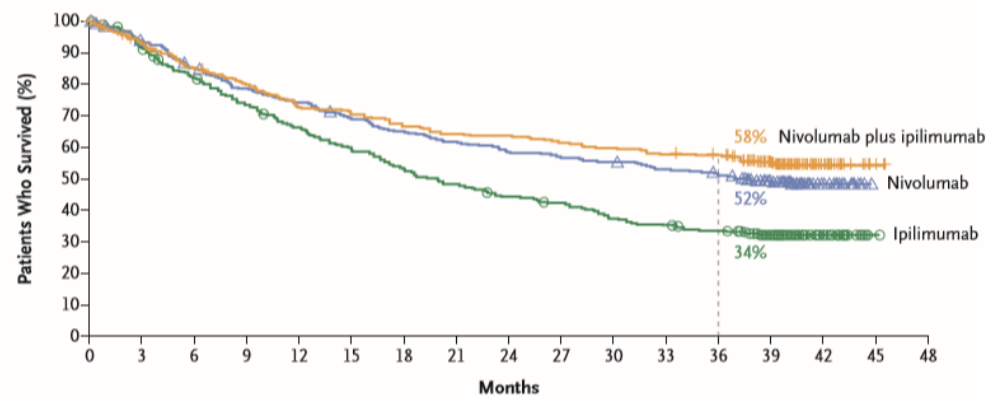
A Progression-free Survival



No. at Risk

Nivolumab plus ipilimumab	314	218	175	155	136	131	124	117	110	104	100	92	75	29	5	0
Nivolumab	316	177	151	131	119	111	105	102	96	87	81	75	61	24	0	0
Ipilimumab	315	136	78	58	46	42	34	32	30	28	26	23	15	8	2	0

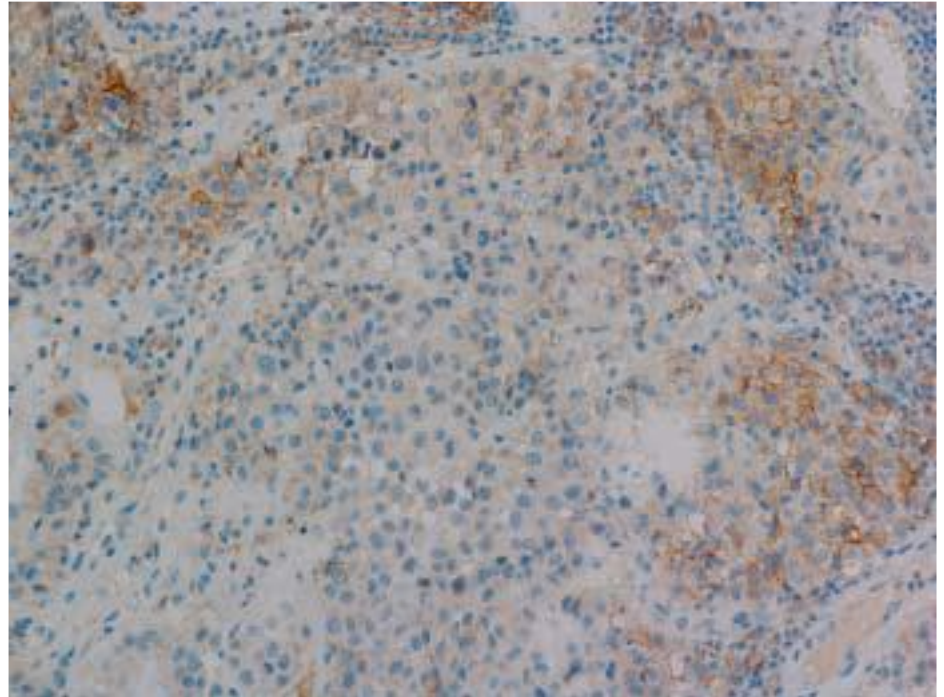
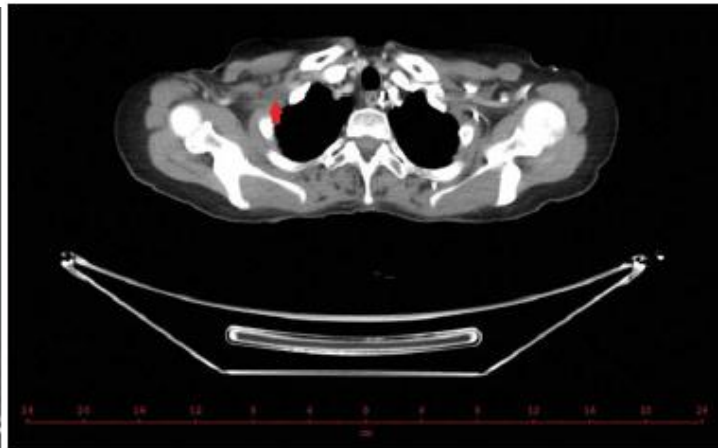
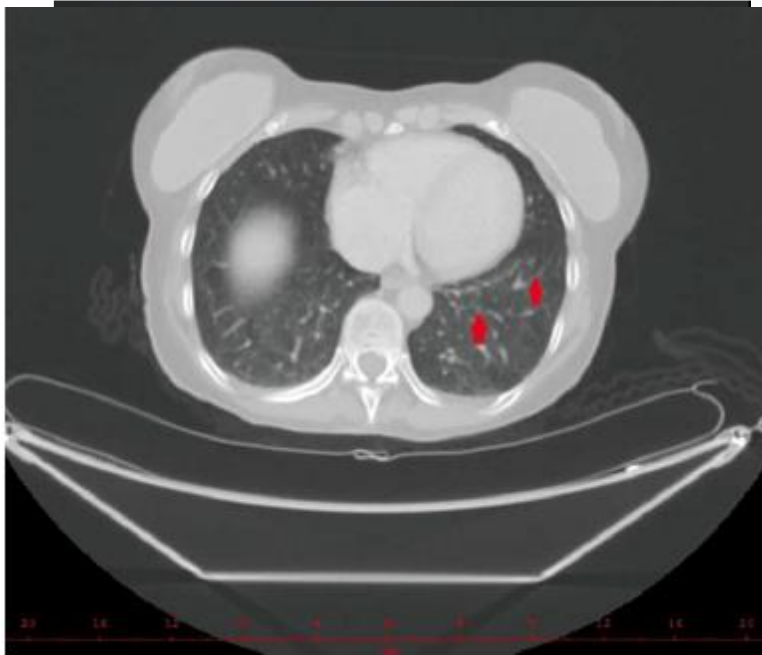
B Overall Survival



No. at Risk

Nivolumab plus ipilimumab	314	292	265	247	226	221	209	200	198	192	186	180	177	131	27	3	0
Nivolumab	316	292	265	244	230	213	201	191	181	175	171	163	156	120	28	0	0
Ipilimumab	315	285	253	227	203	181	163	148	135	128	117	107	100	68	20	2	0

Imunoonkologie//anti-PD1



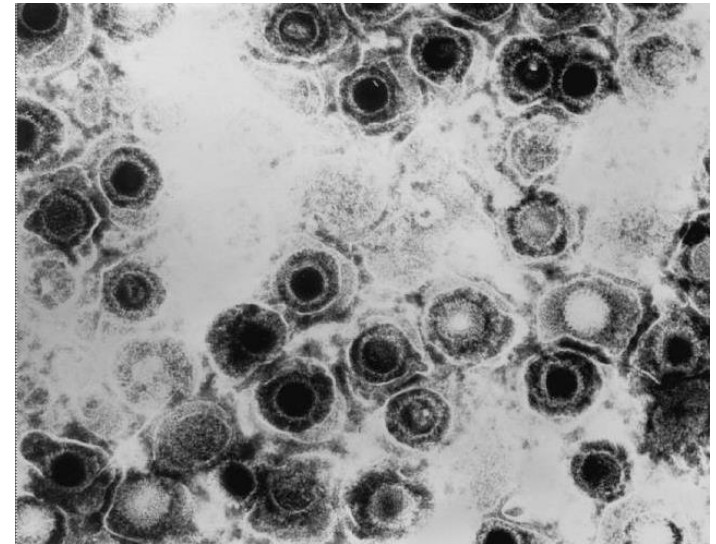
Onkologie: 1 (12): 2018. 16-20.

Kompletní léčebná odpověď po anti-PD1 terapii u pacientky s pokročilým melanomem a rezistencí na cílenou terapii BRAF inhibitory

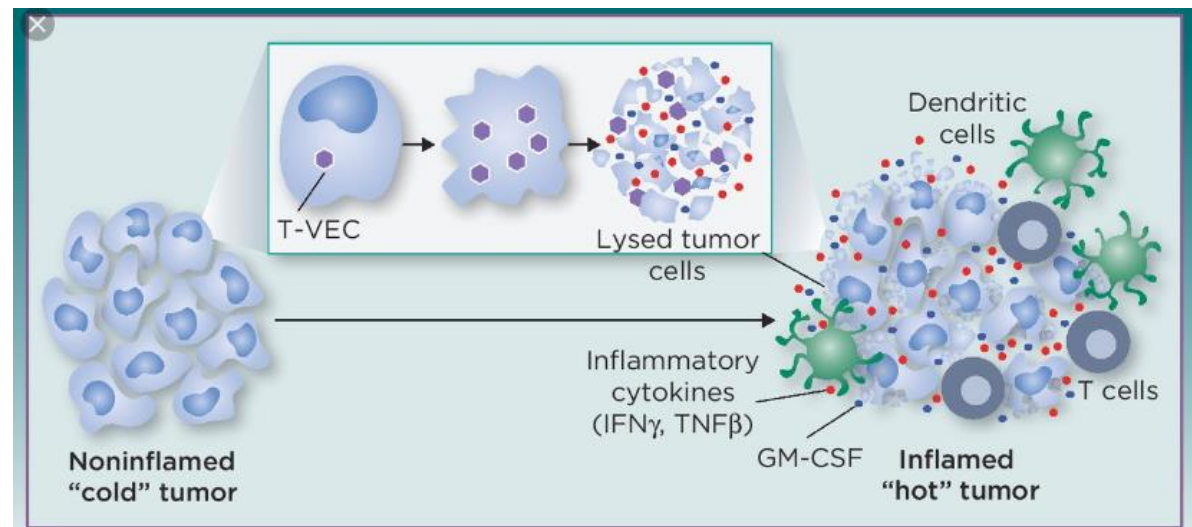
Ondřej Kodet^{1,2,3}, Kristýna Němejcová⁴, Lukáš Lacina^{1,2,3}, Ivana Krajsová¹

Talimogene laherparepvec (T-VEC)

- geneticky modifikovaný virus herpes simplex typ 1 je první onkolytickou virovou terapií schválenou americkou FDA pro léčbu metastazujícího melanomu (2015)



- EMA (2015/2016)



© 2016 American Association for Cancer Research

Talimogene laherparepvec (T-VEC)

- T-VEC je modifikován delecí virových genů pro neurovirulenci a potencován pro imunogenitu delecí virového genu ICP47 (Infected Cell Protein 47).
- Imunogenicitata je dále podporována expresí genu lidského granulocyt-makrofágového kolonie stimulujícího faktoru (GM-CSF), který pomáhá podporovat primární T buněčnou odpověď.
- T-VEC vakcína prokázala významné zlepšení v míře dlouhodobé odpovědi, míře objektivní odpovědi a přežití bez progresu v randomizovaných klinických studiích fáze II a III u pacientů s metastazujícím melanomem

Patterns of Clinical Response with Talimogene Laherparepvec (T-VEC) in Patients with Melanoma Treated in the OPTiM Phase III Clinical Trial

Robert H. I. Andtbacka, MD, CM, FACS FRCSC¹, Merrick Ross, MD², Igor Puzanov, MD, MSI, FACP³, Mohammed Milhem, MD⁴, Frances Collichio, MD⁵, Keith A. Delman, MD, FACS⁶, Thomas Amatruda, MD⁷, Jonathan S. Zager, MD, FACS⁸, Lee Cranmer, MD, PhD⁹, Eddy Hsueh, MD¹⁰, Lisa Chen, PhD¹¹, Mark Shilkrut, MD, PhD¹¹, and Howard L. Kaufman, MD, FACS¹²

Aplikace T-VEC zaznamenala zmenšení více jak o 50% z původní velikosti u 64% lézí s aplikací T-VĚC, u 34% bez aplikace a u 15% vzdálených viscerálních metastáz .

Baseline



Week 26



Week 46



Week 78



Baseline



Week 6



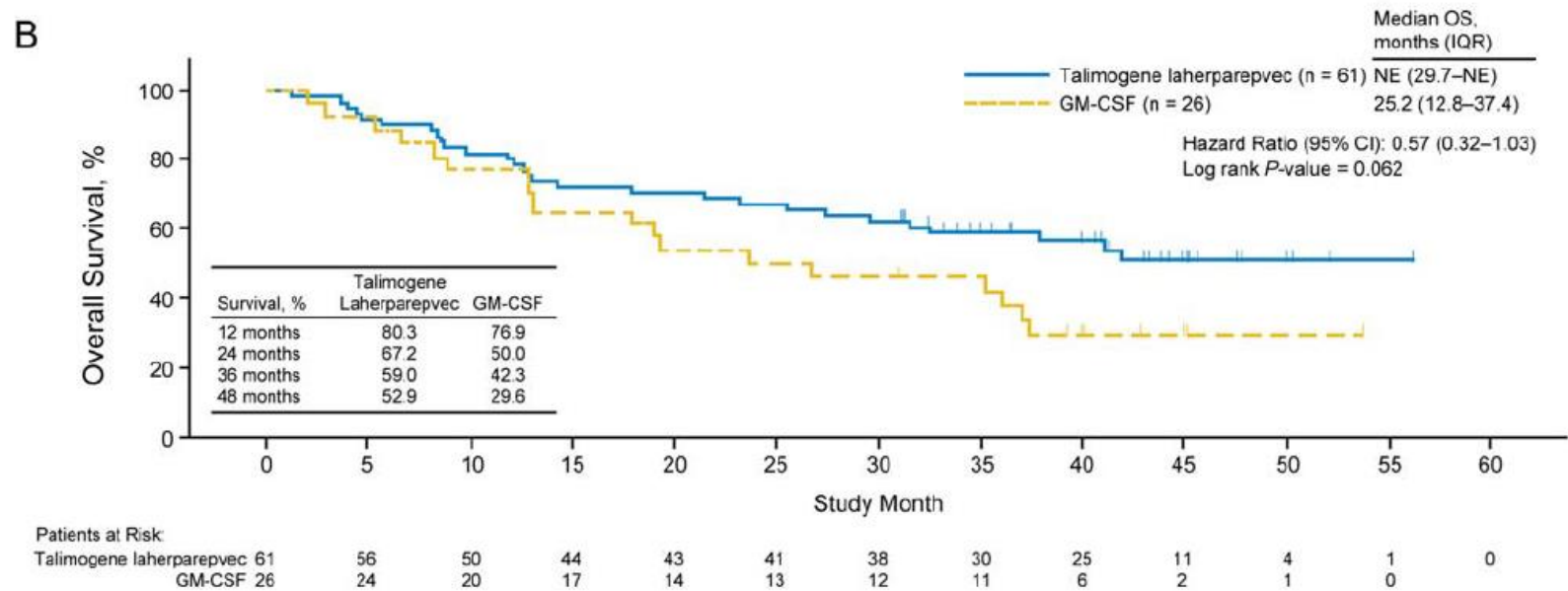
Week 34



Cutaneous head and neck melanoma in OPTiM, a randomized phase 3 trial of talimogene laherparepvec versus granulocyte-macrophage colony-stimulating factor for the treatment of unresected stage IIIB/IIIC/IV melanoma

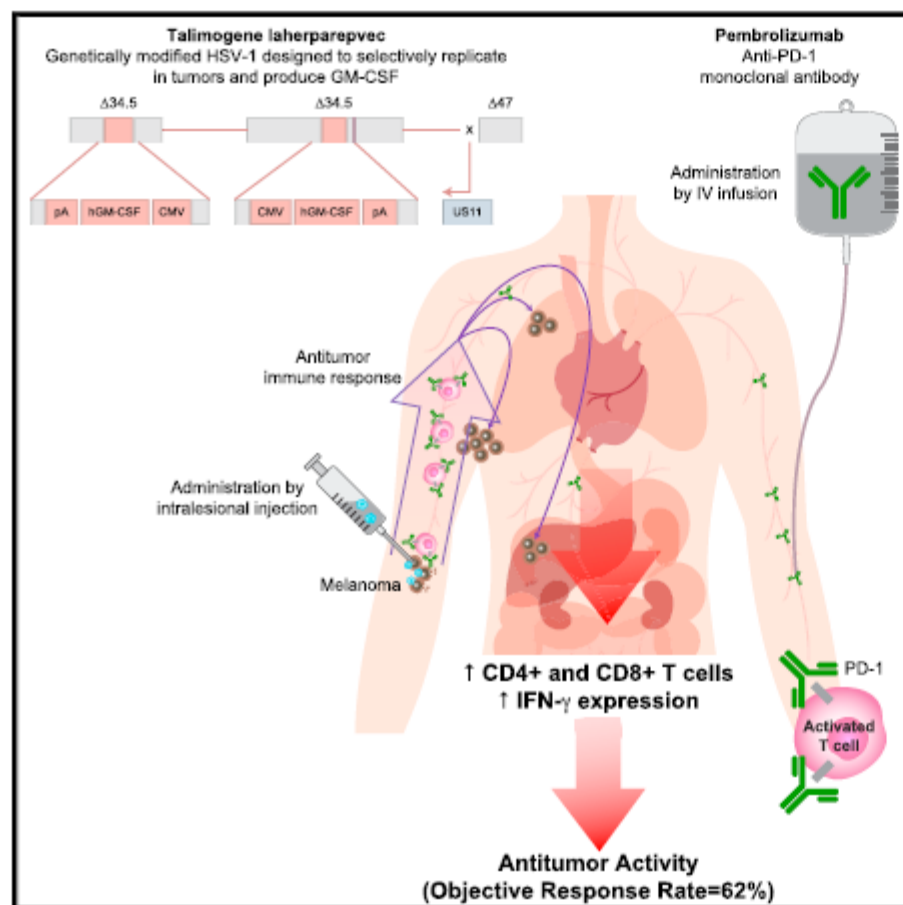
Robert H. I. Andtbacka, MD, CM,^{1*} Sanjiv S. Agarwala, MD,² David W. Ollila, MD,³ Sigrun Hallmeyer, MD,⁴ Mohammed Milhem, MD,⁵ Thomas Amatruda, MD,⁶ John J. Nemunaitis, MD,⁷ Kevin J. Harrington, PhD,⁸ Lisa Chen, PhD,⁹ Mark Shikruti, MD, PhD,⁹ Merrick Ross, MD,¹⁰ Howard L. Kaufman, MD¹¹

- 61 pacientů vs 26 pacientů jen s GM-CSF; sledována míra trvalé odpovědi a celkové přežití
- **(36,1% vs 3,8%; p 0,001)**
 - Medián OS 25,2 u pacientů s GM-CSF
 - u T-VEC nebyl dosažen, 12 měsíců se dožilo 73% pacientů s trvajícím terapeutickým odpovídáním



Oncolytic Virotherapy Promotes Intratumoral T Cell Infiltration and Improves Anti-PD-1 Immunotherapy

Graphical Abstract



Authors

Antoni Ribas, Reinhard Dummer, Igor Puzanov, ..., Jennifer Gansert, F. Stephen Hodi, Georgina V. Long

Correspondence

aribas@mednet.ucla.edu

In Brief

In combination with anti-PD-1 therapy, intratumoral injection of an oncolytic virus engineered to enhance immune recognition of cancer resulted in a high response rate in patients with advanced melanoma.

Cell 170, 1109–1119, September 7, 2017 © 2017 Elsevier Inc.

T-VEC v kombinaci s pembrolizumabem

Figure 2. MASTERKEY-265 Phase 1b Study Schema

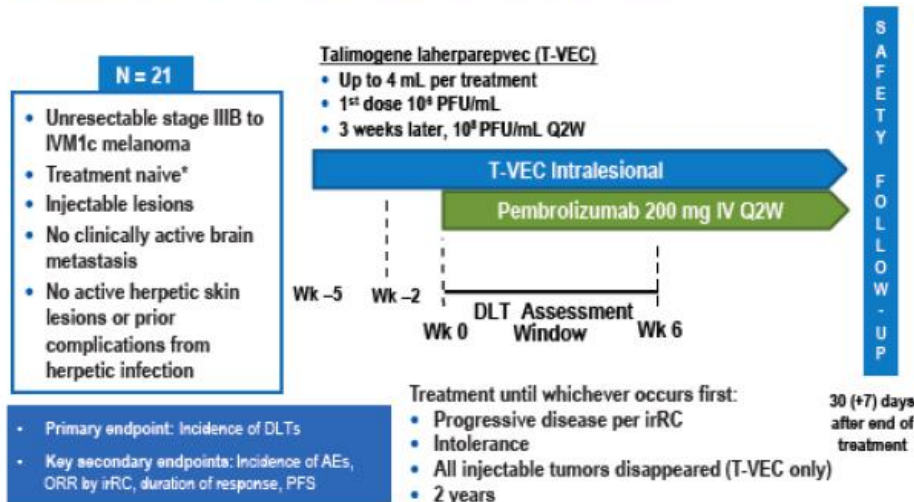
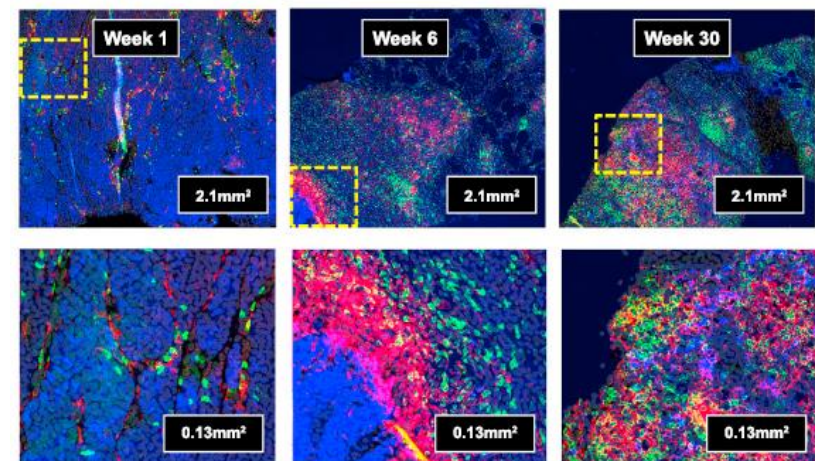


Table 1. Best Overall Response^a

	Talimogene Laherparepvec Plus Pembrolizumab (N = 21)	
	Total ^b	Confirmed ^b
Patients with a response	15	13
Response rate, % (95% CI)	71 (48–89)	62 (38–82)
Best overall response, n (%)		
Complete response	8 (38)	7 (33)
Partial response	7 (33)	6 (29)
Stable disease ^c	1 (5)	3 (14)
Progressive disease	5 (24)	5 (24)
Disease control rate, n (%)	16 (76)	16 (76)

PD-L1 CD8 S100



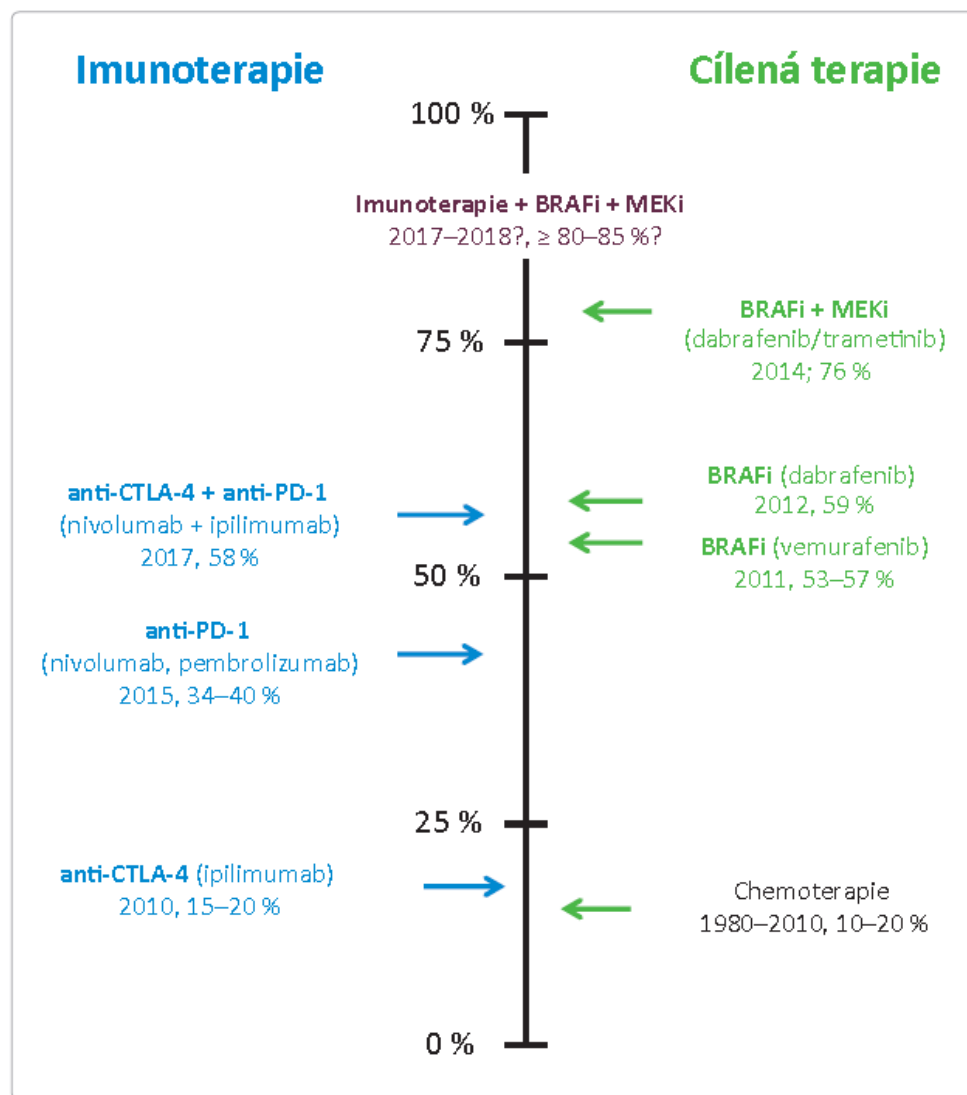
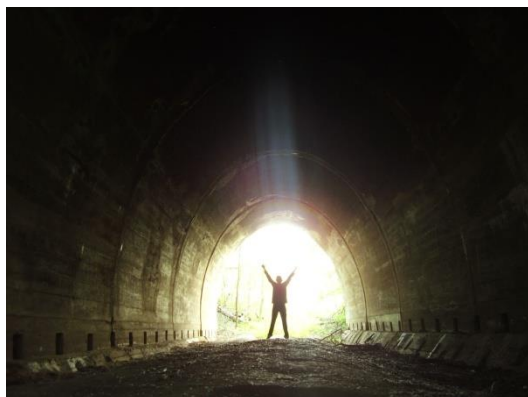
Ribas et al. Cell, 2017

Jiné viry? Jiná nádorová onemocnění?

- Dalším testovaným virem, který se již dostává do klinického testování, je Cocksackie virus (**CVA21** nebo **CAVATAK**).
- Jeho lytický efekt byl prokázán v in vitro modelování tkáňových kulturách melanomu a v myším modelu in vivo.
- V současné době probíhají první klinické zkoušky v kombinaci s pembrolizumabem a ipilimumabem u pacientů s melanomem klinického stadia III–IV.

Závěr

- Základem zůstává radikální chirurgická léčba s histologickým zhodnocením Breslowa
- Imunoterapie – anti-CTLA-4, anti- PD-1
- Cílená terapie – B-raf inhibitory
- **Význam molekulární patologie a prediktivní patologie**
- Medián přežívání – 6-9/měsíců; zlepšen až k 20-23/měsíců.
- Vysoká cena/úhrada pojišťovnou
- Výsledky v adjuvantním podávání



Obr. 3 Základní léčebné schéma metastazujícího melanomu, cílené terapie a imunoterapie s terapeutickou odpovědí (%)¹

BRAFi – inhibitory BRAF; MEKi – inhibitory MEK

Děkuji Vám za pozornost



"FLUCTUAT NEC MERGITUR"

- I. *Krajsová, J. Štork, L. Lacina, I. Procházková, T. Šuková, Z. Plzáková, M. Důra, A. Havlínová, K. Vojnarovičová*
- II. *J. Šuk, Š. Kimle*
- III. *P. Dundr, K. Němejcová, I. Vítková, I. Tichá, R. Michálková,*
- IV. *K. Smetana, L. Lacina B. Dvořánková, K. Strnadová, A.J. Palvíček....*



- Tato práce je podpořena z projektů : **GAČR 16-05534S, AZV 16-30954A, BIOCEV CZ.1.05/1.1.00/02.0109.**

Otázka – test:

- Jak se obecně označují protilátky používané pro imunoterapii nádorů, včetně melanomu, za které byla udělena v roce 2018 Nobelova cena?