



# MELANOOMA

Ihon pigmenttisolujen syöpä

**Matti Yläne**  
**LuK-Tutkielma**  
**Biologian Tutkimusryhmä**  
**Oulun Yliopisto**  
**Toukokuu 2016**

## SISÄLLYSLUETTELO

Johdanto.....	2
1. Yleisimmät Ihosyövät .....	4
2. Melanooma .....	6
2.1 Melanooman päätyypit .....	8
2.2 Melanooman kliininen luokittelu .....	9
2.3 Melanooman geneettinen tausta .....	11
3. Hoitomenetelmät ja niiden kehitys .....	12
3.1 Mallieläimet .....	13
3.2 Kohdistettu terapia .....	14
3.3 Immunoterapia .....	15
3.4 Kombinaatiohoidot .....	17
Kirjallisuusluettelo.....	19

Syöpä yleisnimitys on nimitys monille taudeille, joissa taudin aiheuttajana on pahanlaatuinen kasvainsolukko. Kaikkia syöpätauteja yhdistää hallitsemattomasti kasvava solukko, jolla on kyky tunkeutua ja levitä sitä ympäröivään soluksoon. Tällaisia hallitsemattomasti jakautuvia soluja voi syntyä mistä tahansa kehon triljoonista soluista tarvittavien mutaatioiden tapahtuessa. Normaalisti solut jakaantuvat ja kasvavat elimistön tarpeiden mukaan ja solut kuolevat tietyn jakautumismäärän jälkeen tai kun ne vahingoittuvat. Kasvaimeen johtavien mutaatioiden tapahtuessa solu alkaa jakautumaan ja kasvamaan kontrolloimattomasti. Tässä vaiheessa syntyneet kasvainsolut eivät reagoi elimistön tuottamiin viesteihin, jotka normaalisti rajoittaisivat solujen kasvua ja ohjaisivat niiden käyttäytymistä. Tämä johtaa laajenevaan kasvainsolumassaan, joka häiritsee elimistön normaalitoimintoja esimerkiksi vaikuttamalla lähialueen aineenvaihduntaan ja levitessään huonontamalla kehon omaa immuunijärjestelmää.

Solujen perimässä tapahtuu tuhansia mutaatioita päivässä. Nämä johtuvat virheistä solun replikaatiossa ja aineenvaihdunnassa tai ovat mahdollisesti elimistön ulkopuolisten mutaatioita aiheuttavien aineiden, mutageenien aiheuttamia. Mutageeniä, jonka altistus voi aiheuttaa syöpään johtavan mutaation, kutsutaan karsinogeeniksi. Nämä karsinogeenit voivat vaikuttaa suoraan DNA:n rakenteeseen tai välillisesti elimistön toimintoihin, lisäten esimerkiksi solujen jakautumisvauhtia nostattaen mutaatioiden todennäköisyyttä. Karsinogeenien syöpää aiheuttava potentiaali vaihtelee aineiden välillä. Joidenkin karsinogeenien kohdalla tarvitaan pitkäaikainen tai korkean tason altistuminen mutaatiomahdollisuuden syntymiseksi. Myös yksilöiden välillä on eroja eri karsinogeenien vaikutuksissa. Ihmiset ovat päivittäin altistuneena eri karsinogeenille, kuten ihosyövälle altistavalle ultraviolettisäteilylle (UV-säteily) (American Cancer Society, 2015).

Solun jakautumista ja kasvua sääteleviä geenejä kutsutaan proto-onkogeneiksi. Proto-onkogeenin mutatoituessa tai duplikoituessa, siitä muodostuu syöpägeeni (onkogeeni). Vastaavasti solusykliä, DNA:n korjausta ja solukuolemaa (apoptoosi) sääteleviä geenejä kutsutaan kasvainsuppressorigeeneiksi (American Cancer Society, 2014). Näiden lisäksi soluissa on myös pelkäänsä DNA:n korjaukseen keskittyneitä geenejä. Syövän kehittymisen edellytyksenä on, että mutaatioiden pitää tapahtua juuri näissä solun kasvua, apoptoosia ja DNA:ta korjaamista säätelevissä gee-

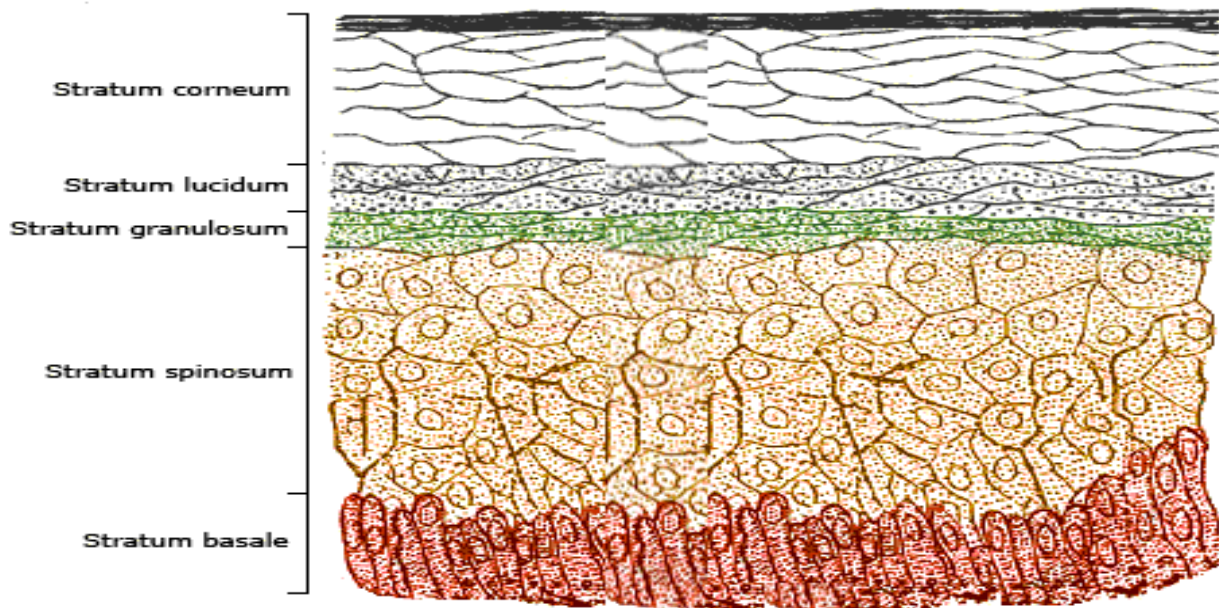
neissä. Mutaatioiden täytyy kuitenkin olla peräkkäisiä, muuten DNA-virheet voivat päätyä korjauksen kohteiksi tai solu voidaan ohjata apoptoosiin. Kaikki muutokset kehon solujen jakautumisessa eivät kuitenkaan muuta soluja syöpämaisiksi. Jokin ulkopuolinen ärsyke esimerkiksi voi johtaa solujen runsaaseen jakaantumiseen, kuten ihonsolut vasteena tyvikalvovaurioon. Kasvainsolukot voivat myös olla hyvänlaatuisia, jolloin niillä ei ole kykyä tunkeutua tai levitä muualle elimistöön. Ne jakaantuvat silti itsenäisesti ilman elimistön viestintää ja voivat haitata elimistön toimintaa esimerkiksi painamalla elimiä tai verisuonia. Näistä esimerkkejä ovat muun muassa lipooma eli rasvapatti ja iholle kehittyvä syylä.

Riski sairastua syöpään nousee iän myötä, sillä DNA-virheiden määrä kasvaa vanhoissa soluissa. Tämä johtuu muun muassa solun DNA:n korjausmekanismien heikentymisestä ja johtaa virheiden korjaamattomuuteen sekä niiden kasaantumiseen. Tämä nostaa riskiä mutaatioiden osuista geeneihin, jotka säätelevät solun jakautumista, erilaistumista ja solukuolemaa. Esimerkkinä tästä on monen syövän taustalla oleva P53-kasvainsupressorigeeni, joka säätelee solusykliä. P53 tunnistaa DNA-vaurioita ja reagoi niihin aktivoimalla DNA:ta korjaavia proteiineja, estämällä solusyklin siirtymistä G1-vaiheesta S-vaiheeseen ja aiheuttamalla apoptoosin, jos solu on ehtinyt siirtyä jo S-vaiheeseen.

Tässä tutkielmassa keskityn melanooma ihosyöpään, sekä laajemmin sen uusiin hoitomenetelmiin ja niiden kehitykseen. Melanoomasta käyn läpi lyhyesti sen peruspiirteet, syntymisen, geneettistä taustaa, sekä hieman laajemmin sen luokittelua. Melanooman hoitomenetelmät osiassa perehdyn tarkemmin hoitoihin, joiden kehityksessä on tapahtunut viime aikoina eniten edistystä ja jotka vaikuttavat lupaavimmilta sekä mahdollisesti paremmilta vaihtoehdoilta perinteisiin solusalpajahoitoihin verrattuna. Käsittelen myös yleisesti ihosyöpään liittyviä perusteita, kuten sen epidemiologiaa ja ihon fysiologiaa.

# 1. YLEISMMÄT IHOSYÖVÄT

Ihosityövät ovat yleisimpiä valkoihoisilla ihmisillä esiintyviä kasvaintyyppisiä maailmassa ja niiden esiintyvyys on yleistynyt viimeisen 50 vuoden aikana (Leiter et al. 2008). Vuonna 2007 ihosyöpä tapauksia oli havaittu enemmän kuin muita syöpiä yhteensä 31 vuoden aikana (Stern et al. 2010). Ihosityövät ovat pääosin ihon ylimpään kerrokseen eli orvasketeen sijoittuneita kasvaimia. Ne saavat alkunsa kun ihoon syntyy poikkeavia soluja, joilla on kyky tunkeutua tai levitä kehon eri osiin. Orvaskesi on jatkuvassa vuorovaikutuksessa ympäristön kanssa ja sen tehtävänä on suojata elimistöä muun muassa patogeeneiltä ja muilta haitallisilta muuttujilta, kuten UV-säteilyltä. Orvaskesi itsessään koostuu neljästä eri solukerroksesta (ks. kuva 1), jotka ovat uloimmasta kerroksesta alkaen: sarveissolujen muodostama ”kuollut” solukerros *stratum corneum*, jyväissoluista koostuva *stratum granulosum*, okasoluista rakentuva *stratum spinosum* ja syvimpänä tyvisoluista muodostuva *stratum basale*. Paksuilla ihoalueilla, kuten käsissä ja jalkapohjissa, on myös löydettävissä yksi ohut kuolleiden kirkassolujen muodostava kerros (*stratum lucidum*), joka on *stratum corneumin* alapuolella (Solunetti, 2006).



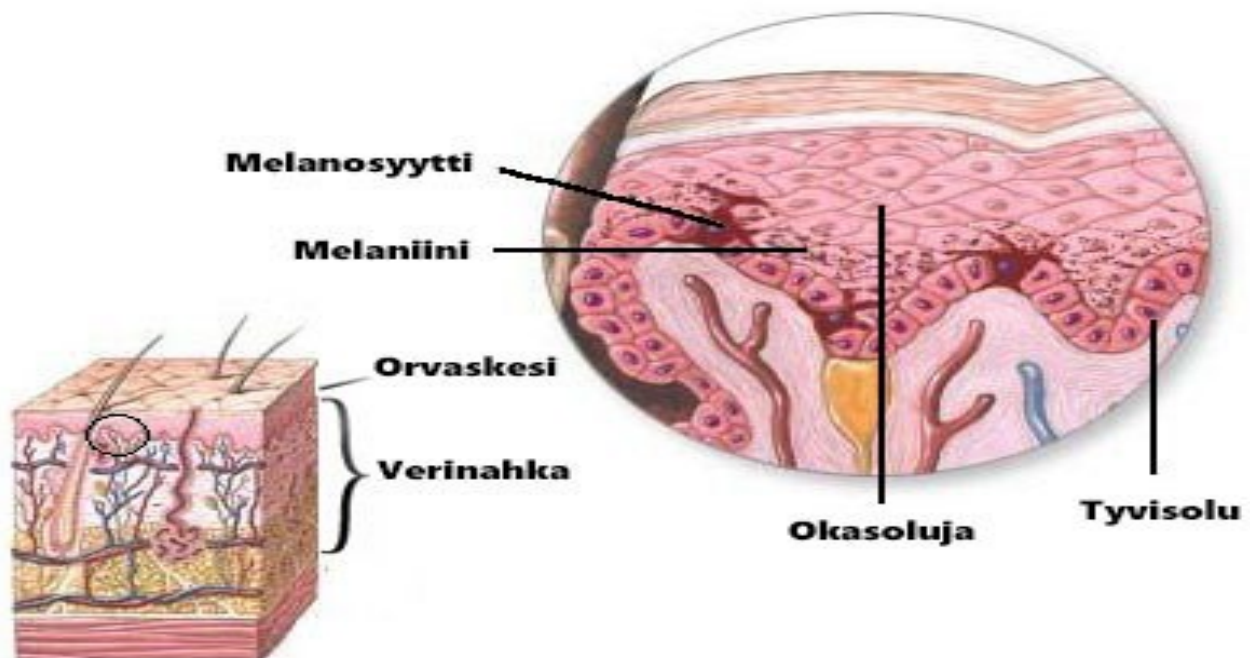
Kuva 1. Ihon ylimmän kerroksen eli orvaskeden rakenne. Kuvassa näkyy sarveissolujen muodostama *stratum corneum*, kirkassolujen muodostama *stratum lucidum*, jyväissolujen muodostama *stratum granulosum*, okasolujen muodostama *stratum spinosum* ja tyvisolujen muodostama *stratum basale*.

Lähde: Public Domain kuva.

Ihosityövät jaetaan eri luokkiin niiden kehityssijainnin mukaan ja näistä kolme yleisintä tyyppiä ovat basalioma (tyvisolusyöpä), spinalioma (okasolusyöpä) ja melanooma. Basalioma ja spinalioma luokitellaan muiden harvinaisimpien ihosyöpien kanssa ei-melanoomisiin ihosyöpiin (NMSC). Näistä NMSC 80 % ovat basaliomaa ja 20 % spinaliomaa (Sajjad Rajpar, ABC of skin cancer, 2008). NMSC ihosityövät harvoin johtavat kuolemaan, sillä ne eivät useimmiten metastasoisi ja ovat usein helposti hoidettavissa leikkauksen tai säteilyhoidon avulla. Kaikista ihosyöpätapauksista 80-90 % on auringon ultraviolettisäteilyn aiheuttamia (Koh et.al. 1996, Parkin et al. 2011). Erityinen riskiryhmä ihokasvainten kehittymiselle ovat vaaleaihoiset ja henkilöt, joilla on kuormittunut immuunijärjestelmä (esim. lääkityksen seurauksena). Useimmat ihosityövät syntyvät UVB-säteilyn (290-400nm) aiheuttamista DNA vaurioista. Tässä DNA absorboi UVB-säteilyä tulevan fotonin, joka aiheuttaa DNA:n rakenteellisia muutoksia, kuten pyrimidiini- ja tymiini dimeerien muodostumista. Dimeerit häiritsevät DNA:n replikoitumista ja sen korjausmekanismeja (Parrish et al. 1982). Myös UVA -säteily (320-400nm) vaikuttaa epäsuorasti ihokasvaimien syntyyn tuottamalla vapaita happiradikaaleja (ROS). Nämä vapaat radikaalit vaikuttavat DNA:n rakenteeseen luoden mahdollisesti syöpään johtavia mutaatioita (Narayanan et. al 2010).

## 2. MELANOOMA

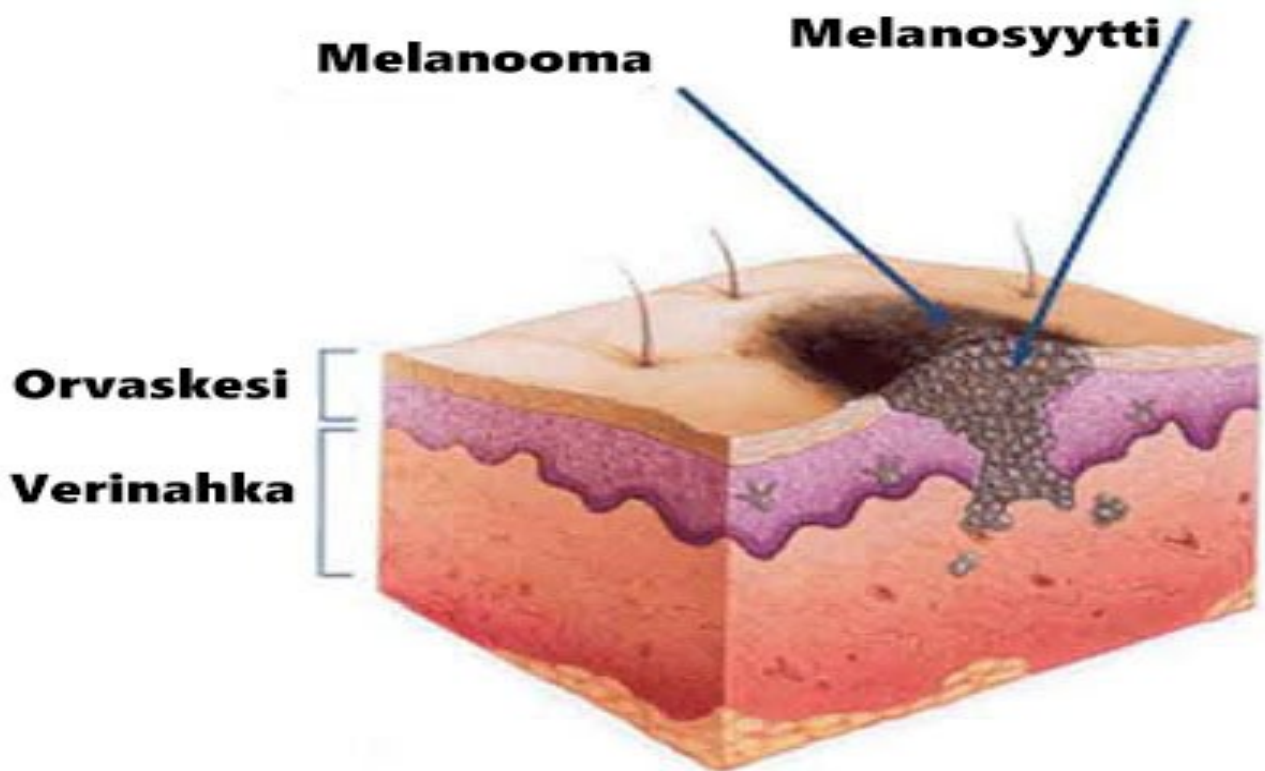
Melanooma, eli tummasolusyöpä kehittyy ihon melaniinia tuottavista melanosyytti-soluista (ks. Kuva 2). Melanosyyttejä löytyy muun muassa ihon orvaskeden tyvikerroksista, pupilleista ja hiusfollikkeleista (Solunetti, 2006, News Medical, 2014). Niiden tuottama pigmentti, melaniini, aiheuttaa esimerkiksi ihon, hiusten ja silmien tumman tai ruskean värin. Melaniinin biosynteesi tapahtuu monen välivaiheen kautta melanosyyteissä olevissa pigmenttivesikkeleissä, melanosomeissa. Melaniini siirtyy muihin soluihin melanosomien välittämänä. Värin tuottamisen lisäksi melaniini absorboi UV-säteilyä, joka vähentää auringon tuottamia ihovaurioita (News Medical, 2014). Melanoomaa pidetään vaarallisimpana kasvaintyyppinä kaikista ihon karsinoomista (epiteelisyöpä) sen leviämispotentiaalin vuoksi. Vaikka melanooma tapaukset kattavat vain 1 % kaikista ihosyövistä, se aiheuttaa suurimman osan ihosyövistä johtuvista kuolemista. Melanooman levitessä sen hoito vaikeutuu ja selviytymismahdollisuudet taudista pienenevät huomattavasti (American Cancer Society, 2016). Melanooman on yleistynyt Yhdysvalloissa yli 30 % viimeisen 30-vuoden aikana ja on kuudenneksi yleisin syöpätyyppi Yhdysvalloissa (National Health Institute, 2016).



Kuva 2. Melanosyyttien sijoittuminen iholle suhteessa muihin ihosoluihin.

Lähde: Muokattu Public Domain kuva.

Melanooma voi syntyä kaikkialle, mistä löytyy melanosyyttejä, kuten iholle, limakalvoille, aivokalvolle tai silmän pigmentoituneeseen värikalvoon (iiris) (ks. Kuva 3). Sen tavanomainen leviämistie johtaa useimmiten ensimmäisenä lähikudoksiin tai lähi-imusolmukkeisiin, jonka kautta se voi leviää muualle elimistöön verenkiertoelimistön tai imusuoniston välityksellä (American Cancer Society, 2016). Verrattuna muihin pahanlaatuisiin kasvaimiin, melanoomalla on havaittu olevan aivospesifistä tropismia, eli yleistä metastasointia aivoihin. Tämän yleisen aivometastasoinnin tarkkaa taustaa tai syytä ei vielä tiedetä, mutta muutaman tutkitun melanoomasolulinjan on huomattu kasvavan paremmin aivojen olosuhteissa. Hiirissä kultivoiduilla solulinjoilla 131/4-5B1 ja 131/4-5B2 oli korostunut adheesio aivojen- sekä keuhkojen soluihin. Kuitenkin aivoja yleisemmät sekundaarikasvainsijainnit melanoomalle ovat keuhkot ja maksa (Cruz-Munoz et al. 2008).



Kuva 3. Orvasketen kehittynyt melanooma.

Lähde: Muokattu Public Domain kuva.



## 2.1 MELANOOMAN PÄÄTYYPIT

Melanooma voidaan jakaa kolmeen eri kategoriaan sen kehitymissijainnin mukaan: iho-, limakalvo- ja silmämelanoomaan (Melanoma Research Foundation, 2016). Iholle kehittyvä melanooma vuorostaan voidaan luokitella neljään eri päätyyppiin sen ulkonäön ja leviämistaipumuksen mukaan: pinnallisesti leviävään (Superficial Spreading Melanoma), *lentigo malignaan* (LG), acral lentiginous melanoomaan (ALM) ja nodulaariseen melanoomaan. Pinnallisesti leviävä melanooma on yleisin kaikista tyypeistä kattaen noin 70 % kaikista tapauksista ja esiintyy yleisimmin nuorilla ihmisillä. Niimensä mukaisesti tämä melanoomatyyppi leviää ihon pinnalla ennen sen tunkeutumista ihon syvempiin kudoksiin. Sen ulkonäkö ilmestyessään näyttää epäsymmetriseltä ja kirjavalta, mahdollisesti koholla olevalta läiskältä. Väri voi vaihdella mustasta punertavaan ja usein se lähtee liikkeelle jo olemassa olevasta luomesta (*nevus*). Luomet ovat hyvänlaatuisia kasvaimia, jotka koostuvat tavallista suuremmasta määrästä melanosyyttejä. Tämä tyyppi kehittyy todennäköisimmin miehillä yläruumiiseen, naisilla jalkoihin ja molemmilla sukupuolilla yläselkään (The Skin Cancer Foundation, 2016, American Cancer Society, 2016).

*Lentigo maligna* on yksi *in situ* (paikallaan) tyyppisistä, eli mahdollisesti leviävistä melanoomista ja se on useimmiten havaittavissa ikääntyneillä ihmisillä auringolle altistuneessa, vaurioituneessa ihossa kasvoilla, korvissa, käsissä ja yläruumiissa. LG leviää myös ihon pinnalla ennen syvemmälle tunkeutumista. Sen ulkonäkö on lähellä pinnallisesti leviävää tyyppiä, mutta se esiintyy aina kohottuneena ja sen väri on rusehtavan täplikäs. ALM aloittaa muiden tyyppien tapaan kasvamisen ihon pinnalla. Se kuitenkin kehittyy kämmenelle, kynsien alle tai jalkapohjiin ja on havaittavissa ihon tai kynsien alla näyttävältä mustalta tai tummanruskealta täplältä. ALM on yleisimmin tavattavissa tummaihoisilla ja aasialaisilla ihmisillä. Se myös leviää nopeammin, kuin pinnallisesti leviävä ja *lentigo maligna* -melanoomat. Nodulaarinen melanooma on aggressiivisin tyyppi, koska se on usein jo levinnyt diagnoosiin mennessä. Tämän kasvaimen pahanlaatuisuus on havaittavissa sen muhkuraisen mustan ulkonäön perusteella ja sen yleiset syntymisalueet ovat yläruumis, jalat, kädet sekä miehillä päänahka (The Skin Cancer Foundation, 2016). Näiden neljän ihomelanooman lisäksi on olemassa useita harvinaisempia melanooma tyyppisiä. Esimerkkinä desmoplastinen melanooma, joka on vaikeasti diagnosoitava sen pigmentin tuottamattomuuden takia.

## 2.2 MELANOOMAN KLIININEN LUOKITTELU

Melanooma luokitellaan sen vakavuuden tai leviämisen mukaan asteisiin (ks. Taulukko 1). Vuonna 2010 American Joint Commission on Cancer (AJCC) päivitti luokittelun TMN-järjestelmään, joka perustuu kolmeen tärkeään melanooman avainmuuttujaan. Tässä melanooman luokitukseen vaikuttaa primäärikasvaimen koko (T), lähi-imusolmukkeisiin levinneisyys (N) ja mahdollinen metastasointi muihin elimiin (M). Ennen tätä päivitettyä luokittelusysteemiä, T:tä määrittäessä ohuet kasvaimet luokiteltiin ”Clark’s level of invasion” -metodilla, eli kuinka monen ihokerroksen läpi kasvain on tunkeutunut. Nykyään käytetään Breslow’s thickness -metodia luokittelussa, jossa tarkoitetaan yksinkertaisesti kasvaimen paksuutta. Lisäksi T-luokittelussa tarkastellaan haavaumien esiintyvyyttä, kasvainsolujen jakautumisnopeutta ja sillä hetkellä jakautuvia soluja, eli mittoittista tahtia. Pitkälle edenneissä melanoomissa Breslowin luokitus menettää kuitenkin merkityksensä, sillä näissä vaiheissa kasvain on jo levinnyt ainakin lähi-imusolmukkeisiin ja/tai lähikudoksiin. Nykypäivänä harvoin enää käytetään Clarkin metodia ja tällöinkin vain hankalissa tapauksissa, joista kasvainsolujen mittoittista aktiivisuutta ei saada selville (American Cancer Society, 2016).

Imusolmukkeisiin levinneisyyttä (N) luokitellaan sen mukaan, onko kasvain levinnyt imusolmukkeisiin, kuinka moneen imusolmukkeeseen se on levinnyt ja onko kasvainsoluja havaittavissa läheisillä ihoalueilla (*satelliitti kasvain*) tai lähellä imusolmukkeita (*in-transit kasvain*). Mahdollisen leviämisen selvittämiseksi kaikissa melanooma tapauksissa, joissa kasvain on yli 1 mm paksuinen, tehdään biopsia lähi-imusolmukkeista oikeiden toimenpiteiden ja luokituksen saamiseksi. Näytepalan oton jälkeen saadaan kasvaimen ”patologinen taso” selville, joka täsmentää levinneisyyden vakavuutta. Esimerkiksi imusolmukkeesta löydetyn melanooma kasvinkudoksen ollessa mikroskooppisen pieni, merkitään N-luokituksen perään ”a”. Metastaasiluokituksessa (M), kuvataan melanooman mahdollisen metastaasin sijaintia ja laktaatti dehydrogenaasi (LDH) -entsyymin määrää veressä. LDH:n konsentraatio veressä on normaalisti suhteellisen pieni, mutta LDH:n lisääntynyt määrä veressä voi osoittaa mahdollisesta vauriosta muun muassa maksan-, aivojen- sekä keuhkojen kudoksissa, jotka ovat yleisiä etäpesäkesijainteja melanoomalle (Egberts et al. 2009). Näiden kolmen avainmuuttujan analysoinnin jälkeen voidaan melanooman kokonaisuus luokitella, minkä perusteella saadaan selkeä kuva melanooman vakavuudesta ja todennäköisyydestä selviytymisestä (American Cancer Society, 2016). Melanooman luokitteluun käytetään

yleisiä lääketieteellisiä analysointeja, kuten kehon kuvantamislaitteita (PET, CT, MRI ja PET) ja laboratorioanalyysyjä esimerkiksi verestä tai virtsasta (The Regents of the University of California, 2015).

Taulukko 1. Melanoomien luokittelu.

Luokka	Luokka-ryhmittely	Luokan kuvaus
<b>0</b>	<b>Tis, N0, M0</b>	Kasvain on <i>in situ</i> eli se ei tunkeudu ympäröivään kudokseen ja pysyy orvaskedessä.
<b>IA</b>	<b>T1a, N0, M0</b>	Kasvain on leviävä ilman haavaumaa, mutta $\geq 1$ mm paksuinen Breslow'in asteikolla ja mitoottinen nopeus $>1/\text{mm}^2$ .
<b>IB</b>	<b>T1b tai T2a, N0, M0</b>	Kasvain on $\geq 1$ mm paksuinen, haavautunut ja/tai mitoottinen tahti on $\leq 1/\text{mm}^2$ tai paksuus on 1,01–2,0 mm ilman haavaumaa.
<b>IIA</b>	<b>T2b tai T3a, N0, M0</b>	Kasvain on 1,01-2,0 mm paksu haavaumalla tai 2,01-4,0 mm paksu ilman haavaumaa.
<b>IIB</b>	<b>T3b tai T4a, N0, M0</b>	Kasvain on 2,01-4,0 mm paksu haavaumalla tai paksumpi kuin 4,0 mm ilman haavaumaa.
<b>IIC</b>	<b>T4b, N0, M0</b>	Kasvain on paksumpi kuin 4,00 mm haavaumalla.
<b>IIIA</b>	<b>T1a - T4a, N1a tai N2a, M0</b>	Kasvain voi olla kuinka paksu tahansa, mutta ilman haavaumaa ja se on levinnyt 1-3 primäärialueen läheiseen imusolmukkeeseen. Imusolmukkeet eivät ole laajentuneet ja siellä olevat kasvain solut nähtävissä vain mikroskoopilla.
<b>IIIB</b>	<b>T1b - T4b, N1a tai N2a, M0</b>	Kasvain voi olla kuinka paksu tahansa haavaumalla ja se on levinnyt 1-3 primäärialueen läheiseen imusolmukkeeseen. Imusolmukkeet eivät ole laajentuneet ja siellä olevat kasvain solut nähtävissä vain mikroskoopilla.
	<b>TAI</b>	
	<b>T1a - T4a, N1b tai N2b, M0</b>	Kasvain voi olla kuinka paksu tahansa, mutta ilman haavaumaa ja se on levinnyt 1-3 primäärialueen läheiseen imusolmukkeeseen. Imusolmukkeet ovat laajentuneet siellä olevien kasvain solujen johdosta.
	<b>TAI</b>	

- T1a - T4a, N2c, M0** Kasvain voi olla kuinka paksu tahansa, mutta ilman haavaumaa. Se on levinnyt läheisille ihoalueille (*satellite tumor*) tai imusolmukkeiden läheisiin imusuoniin (*in-transit*), mutta kasvain soluja ei ole havaittavissa imusolmukkeissa.
- IIIC** **T1b - T4b, N1b tai N2b, M0** Kasvain voi olla kuinka paksu tahansa haavaumalla ja se on levinnyt 1-3 primäärialueen läheiseen imusolmukkeeseen. Imusolmukkeet ovat laajentuneet siellä olevien kasvain solujen johdosta.
- TAI**
- T1b - T4b, N2c, M0** Kasvain voi olla kuinka paksu tahansa haavaumalla, sekä on levinnyt läheisille ihoalueille (*satellite tumor*) tai imusolmukkeiden läheisiin imusuoniin (*in-transit*), mutta kasvain soluja ei ole havaittavissa imusolmukkeissa.
- TAI**
- Mikä tahansa T, N3, M0** Kasvain voi olla kuinka paksu tahansa haavaumalla tai ilman. Se on levinnyt ainakin neljään läheiseen imusolmukkeeseen tai läheiset imusolmukkeet ovat kasaantuneet yhteen kasvaimen johdosta tai on levinnyt läheisille ihoalueille (*satellite tumor*) tai imusolmukkeiden läheisiin imusuoniin (*in-transit*) ja imusolmukkeet ovat laajentuneet kasvain solujen johdosta.
- IV** **Mikä tahansa T ja N, M1(a, b, tai c)** Kasvain on levinnyt sen primäärialueelta lähi-imusolmukkeiden kautta toisiin elimiin, kuten keuhkoihin, aivoihin, maksaan tai kaukaisiin imusolmukkeisiin. Levinneisyyttä lähi-imusolmukkeisiin tai kasvaimen paksuutta ei oteta huomioon, sillä kasvainta pidetään tässä vaiheessa paksuna ja se on jo levinnyt lähi-imusolmukkeisiin.

Muokattu sivulta: <http://www.cancer.org/cancer/skincancer-melanoma/detailedguide/melanoma-skin-cancer-stages>.

## 2.3 MELANOOMAN GENEETTINEN TAUSTA

Ras-Raf-MEK-ERK-MAP tai "Mitogen Activated Protein Kinase" (MAPK) on kinaasisynteesireitti, joka on osallisena solujen kasvun säätelyssä ja sen virheellinen toiminta mutaatioiden seurauksena on osana monien syöpien kehittymistä. MAPK on vuorovaikutuksessa Ras-PI3K-PTEN-Akt (RPPA) synteesireitin kanssa ja yhdessä vaikuttavat muun muassa solun kasvuun ja joissain tapauksissa tuumorigeneesiin. RPPA-reitti vaikuttaa myös P53 synteesireitin toimintaan, jonka tiedetään toimivan kasvaimen synnyn estämisessä. Tämän takia MAPK vaikuttaa suoraan ja välillisesti moniin syövän synnyn kriittisiin toimintoihin, kuten solusyklin ja apoptoosin hallintaan (McCubrey et al. 2007). BRAF-

geeni, joka koodaa MAPK-reitissä B-Raf-proteiinia, luokitellaan proto-onkogeeniksi. Missense-mutaatiot tämän geenin aminohappo 600:n kohdalla (V600), joka vaihtaa valiinin glutaamaatiksi (V600E), on osallisena 66 % kaikista melanoomista. MAPK-reitin MEK-geeni on huomattu myös olevan osallisena melanooman synnyssä, mutta vain 3-8 % tapauksista (Murugan et al. 2009, Nikolaev et al. 2011). Tämä mutaatio aiheuttaa jatkuvan kinaasi tuotannon MAPK-reitissä, mikä johtaa solujen hallitsemattomaan jakautumiseen ja kasvuun (Davies et al. 2002). BRAF -geenin muitakin mutaatioita on löydetty, kuten BRAF<sup>V599E</sup> tyyppin mutaatio, jota pidetään karvasoluleukemian driver-mutaationa 100 % tapauksista (Tiacci et al. 2011).

### 3. HOITOMENETLMÄT JA NIIDEN KEHITYS

Melanooman hoidot ovat kehittyneet viime vuosina valtavasti. MAPK-reitin ja tarkemmin BRAF-geenin tunnistus ovat keskittäneet tutkimukset näiden hyödyntämiseen kohdistetun terapioiden kehittämisessä. Immunoterapian saralla on tehty muun muassa läpimurtoja vasta-aineiden kehityksessä, jotka kohdistuvat CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4) ja PD-1 (Programmed cell Death protein 1) immuunitarkastuspisteproteiinien toimintaan. Lisäksi edistystä on tapahtunut immunoterapisessa soluistutuksessa, jossa T- ja NK-solujen istutetaan kasvainkudoksen tuhoamiseksi. Tätä aikaisemmat, ennen vuotta 2010, laajasti käytetyt systemaattiset hoidot olivat olleet soluille haitallisia sytotoksisia solusalpaushoitoja ja perinteisiä immunoterapiahoitoja. Kliinisissä kokeissa testattiin muun muassa solusalpaajia dakarbatsiinia ja temotsolomidia, mutta näiden vasteet olivat lyhytaikaisia ja eivätkä ne osoittaneet selvää etua melanooman hoidossa (Middleton et al. 2000, Danson et al. 2001). Immunoterapian kohdalla sallittiin interleukiini-2 (IL-2) korkeaa annostusta, joka oli kliinisten kokeiden perusteella estänyt metastoittaisen melanooman uudelleen syntymisen 5-10 % potilaista (Atkins et al. 1999) ja sitä käytetään edelleen vaihtoisena hoitona pienelle määrälle valikoituja potilaita (Atkins et al. 2000).

Vähän tai paikallisesti levinneiden melanoomien hoitoon käytetään myös kirurgisia toimenpiteitä ja yksi tällaisista menetelmistä on Mohsin mikroskooppinen kirurgia. Tässä kirurgiassa poistetaan yksi ohut ihonkudoskerros kerrallaan, jonka jälkeen poistettu kudos tutkitaan mikroskooppisesti mahdollisten kasvainsolujen havaitsemiseksi. Ihokerroksia poistetaan niin kauan kunnes kasvainsoluja ei ole enää havaittavissa poistetuissa kudoksissa. Mohsin kirurgia mahdollistaa

kasvainkudoksen poistamisen ilman suurempaa normaalikudoksen vahingoittamista. Tämä on iso etu poistattaessa kasvainkudosta esteettisesti herkiltä alueilta kuten kasvoilta. Viime vuosina on myös alettu värjäämään poistettuja kudoksenäytteitä immunohistokemiallisilla aineilla, jotka auttavat kasvainsolujen havaitsemisessa. Tällainen värjäävä aine on esimerkiksi MART-1, joka koostuu melanosyyttien antigeenejä tunnistavista T-soluista. Liittyessään näihin antigeeneihin, T-solut merkkäavat kudoksenäytteessä olevat melanosyytit helpommin havaittaviksi (The Skin Cancer Foundation, 2016). Mohsin kirurgiaa kuitenkin suositellaan ei-pitkälle edenneisiin ja yhtenäisesti kasvaviin melanoomien poistoon. Tällöin minimoidaan paikallisen uusiutumisen riski, sillä Mohsin kirurgia saattaa jättää ei-yhtenäisesti kasvavissa kasvaintapauksissa pieniä määriä pääkasvainmassasta erillään olevia kasvainsoluja. Tällöin kasvaimen kirurgiseen poistoon suositellaan perinteistä laajanviillon kirurgista toimenpidettä, joka on tuhoisampaa terveelle iholle verrattuna Mohsin kirurgiaan (Zitelli et al. 1989). Myös säteilyhoitoa käytetään joissain tapauksissa melanooman metastaasien hoitoon (The Regents of the University of California, 2015).

### 3.1 MALLIELÄIMET

Kasvainsolujen syntymisprosessin tutkiminen on haasteellista ”kasvainalkusolujen” väliaikaisuuden, harvinaisuuden ja vaikeasti havaittavuuden vuoksi. Ennen kasvaimen syntyä, täytyy solussa tapahtua kasvaimen syntyyn johtavia mutaatioita, jotka lopulta summautuvat solun jakautuessa synnyttämään lopullisen kasvainsolun. Näiden ”pre-kasvainsolujen” ja kasvaimen syntymisprosessin tutkimiseen on kehitetty metodeja käyttäen apuna mallieläimiä. Tämän kaltaisella tutkimuksella on mahdollisuus tuoda lisätietoa syöpien hoitoon, mikä mahdollistaa muun muassa parempien havaitsemistekniikoiden ja uusien lääkkeiden kehittämisen.

Seeprakala (*Danio rerio*) on monessa syöpätutkimuksessa yleisesti käytetty koe-eläin sen hyvien mallieläinominaisuuksien, kuten helppohoitoisuuden ja nopean alkiokehityksen vuoksi. Melanooman syntymisprosessin tutkimiseen seeprakaloja jalostettiin P53-mutanttitaustaisiksi ja niihin indusoiitiin ihmisillä usein melanoomaan johtava, BRAF<sup>V600E</sup>-mutaatio melanosyytti-spesifisellä *mifta*-promootorilla. Melanosyytit kehittyvät kraniaalisesta hermostopienasta, joten melanooman kehityksen etenemistä seurattiin *crestin*:EGFP-reportterilla. Seeprakalalla *crestin* geeni ilmenee hermostopienan kehityksessä alkiovaiheessa ja tämän geenin on huomattu ekspressoituvan

tämän ulkopuolella vain melanoomakasvaimissa. Tämän perusteella melanoomakasvainsolujen kehitystä on voitu seurata sen initiaatiosta ja yksisolusteelta eteenpäin, minkä perusteella huomattiin ”hermostopienatilan” uudelleen ilmaantumisen olevan avainasemassa melanosyyttien muuttumisessa kasvainmaiseksi (Kaufman et al. 2016).

## 3.2 KOHDISTETTU TERAPIA

Kohdistettu terapia on käytännössä samankaltainen hoitomenetelmä kuin solusalpaajahoito, siinä mielessä että tässäkin käytetään lääkkeitä syövän parantamiseksi. Erona kuitenkin tavanomaiseen kemoterapiahoitoon on itse lääkkeitä, joiden vaikutus ei ole koko kehonlaajuista. Ne kohdistuvat tiettyihin kasvainsolujen toimintoihin, kuten kasvua edistäviin synteeseireitteihin. Näillä lääkkeitä on erilaiset, usein paljon miedommat sivuvaikutukset verrattuna solusalpaajalääkkeisiin (American Cancer Society, 2016).

Nykyaikaiset kohdistetut terapiat suuntautuvat eri MAPK-reitin vaiheiden estämiseen. BRAF<sup>V600</sup>-mutaation toimintaan vaikuttavat inhibiittorit vemurafenib ja dabrafenib ovat FDA:n (Yhdysvaltojen elintarvike- ja lääkevirasto) hyväksymiä lääkkeitä. Ne läpäisivät FDA:n kliiniset kokeet vuosina 2011 (vemuranfenib) ja 2013 (dabrafenib) ja niitä käytetään tänä päivänä vakavien, BRAF<sup>V600</sup>-mutaation omaavien melanoomien hoitoon. Kliinisissä soikkokokeissa vemuraneibin toimivuusvaste oli 43 % tehokkaampi verrattuna aikaisemmin kokeiltuun solusalpaaja dakarbatsiiniin ja mediaani kokonaiselvytymisen oli myös noin 4 kuukautta pidempi (Chapman et al. 2011). Dabrafenibin kliinisen kokeiden tulokset olivat myös huomattavasti parempia verrattuna dakarbatsiiniin. Kolmannen asteen kliinisissä soikkokokeissa dabrafenibin progresson free survival (PFS), eli selvytymisen ilman että kasvain levisi, oli yli 2 kuukautta pidempi verrattuna dakarbatsiiniin. Ongelmana näiden lääkkeiden käytössä on kuitenkin resistenssi, joka kehittyy suurimmalle osalle potilaista. Tämän resistenssin kehittymiseen vaikuttavat monet tekijät ja etenkin MAPK-reitin uudelleen käynnistymisellä on luultavasti iso merkittävä vaikutus tähän (Chapman et al. 2013).

MAPK-reitin MEK-geenin toiminnan estämiseen kehitetyt lääkkeet olivat alussa laajasti rajoittuneet soluille myrkyllisiin aineisiin, joilla oli rajoittunutta toimivuutta melanooman hoidossa (Salama et al. 2013). Kuitenkin uuden sukupolven MEK-geeniin kohdistuvat inhibiittorit, kuten trametinib ja binimetinib ovat vaikuttaneet lupaavilta BRAF-mutantti-melanoomien kohdalla. Näitä

lääkeaineita on pääosin kokeiltu kombinaatiohoitoina BRAF-inhibiittorien kanssa, mutta trametinibin yksinään huomattiin silti toimivan tehokkaammin verrattuna perinteisiin kemoterapiahoitoihin. Trametinibin mediaani PFS oli yli 3 kuukautta pidempi ja kuuden kuukauden kokonaiselviytyminen oli 14 % korkeampi verrattuna kemoterapiaryhmään, joita hoidettiin yleisesti käytetyillä dakarbatasiini sekä paklitakseli solusalpaajalääkkeillä (Flaherty et al. 2012). Lisäksi muun muassa binimetinib on ollut lupaava toisen asteen kliinisissä kokeissa BRAF- sekä NRAS-mutanttien hoidossa (Ascierto et al. 2013). Kokonaisuudessaan MEK- vaiheeseen kohdistuvat lääkkeet eivät kuitenkaan ole yhtä tehokkaita verrattuna BRAF-kohdistettuihin hoitoihin, joten niitä käytetään pääosin BRAF-inhibiittorien ohella.

KIT-geenin estäminen MAPK-reitissä on myös ollut kohteena pitkälle edenneiden melanoomien hoidoissa. Tämän geenin mutaatiot on huomattu olevan pienellä osalla potilaita, joilla pääosin melanooma on ALM tai limakalvoihin kehittyvää tyyppiä. Yleisimmät KIT-geenin mutaatiot ovat eksoneissa 11 (L576P) ja 13 (K642E) (Beadling et al. 2008). KIT-mutaation omaavien melanoomien hoitoon on kokeiltu muun muassa nilotinibi- ja imatinibi-lääkeaineita useissa kliinisissä kokeissa. Imatinibiä kokeiltiin potilailla, joilla oli yksi KIT-mutaatio eksonissa 11 tai 13 ja potilailla joiden melanooman taustalla oli monia KIT-mutaatioita. Kokeiden perusteella huomattiin, että imatinibilla on potentiaalia yksittäisen KIT-mutaatio taustaisten melanoomien hoidossa. Nilotinibi vuorostaan aiheutti osittaisen vasteen vain kahdella potilaalla yhdeksästätoista testatuista. Tulosten perusteella todettiin, että nilotinibillä voidaan ehkäistä kasvaimen leviämistä potilailla, joilla oli KIT-mutaatio ja jos tauti eteni imatinibi-hoidosta huolimatta (Carvajal et al. 2015) Kokonaisuudessaan KIT-mutaatioon kohdistetun terapian uskotaan olevan potentiaalinen hoitokohde muiden hoitojen toimivuuden lakaessa tai muiden hoitojen, kuten BRAF:iin kohdistetun hoidon ohella.

### 3.3 IMMUNOTERAPIA

Immunoterapisessa hoidossa pyritään aktivoida potilaan omaa immuunijärjestelmää tunnistamaan ja tuhoamaan kasvainsoluja. Näissä hoidoissa pyritään vaikuttamaan immuunijärjestelmän säätelijäproteiineihin, joita inhiboimalla saadaan kasvaimen vastainen immuunivaste aikaiseksi. Immuunijärjestelmän toimintaa voidaan myös yrittää tehostaa sytokiineillä, kuten interleukiini-2:lla, mutta usein tämä on usein erittäin rasittavaa keholle (American Cancer Society, 2016).



Ipilimumab on FDA:n hyväksymä lääkeaine, jota käytetään nykypäivänä pitkälle edenneiden melanoomien hoitoon, joiden kirurginen poisto ei ole mahdollista (United States Food and Drug Administration, 2011). Se oli ensimmäinen hyväksytty lääkeaine immuunitarkastuspisteisiin kohdistuvassa immunoterapiassa (Pardoll et al. 2012). Ipilimumab on IgG1 monoklonaalinen vasta-aine, joka estää CTLA-4:n toiminnan. CTLA-4 on koinhiboiva reseptori ja toimii immuunitarkastuspisteenä heikentäen immuunivastetta. Ipilimumab osoitti tehokkuutensa useassa kokeessa, jossa sen toimivuutta verrattiin muun muassa dakarbatsiiniin. Tässä kokeessa ipilimumab kohortilla oli viiden vuoden selviytisprosentti n. 10 % korkeampi verrattuna potilaisiin joille oli annettu dakarbatsiinia ja plaseboa (Maio et al. 2015). Tätä aikaisemmatkin kokeet olivat osoittaneet ipilimumabilla pitkäaikaista etua ja kokeiden kootun datan perusteella potentiaalista hyötyä osajoukolle vakavasta melanoomasta kärsivistä potilaita.

Toinen immuunitarkastuspiste proteiini, jonka estämisestä havaittiin olevan hyötyä syöpien hoidossa, on PD-1. Tämä proteiini löytyy T-solujen ja pro-B solujen pinnalta ja sen toiminta perustuu apoptoosin edistämiseen imusolmukkeissa sijaitsevissa antigeeni spesifisissä T-soluissa, sekä samalla apoptoosin inhibointiin supressio T-soluissa (Francisco et al. 2010). PD-1 proteiinin estämiseen toimivimmat lääkeaineet, jotka saivat myös FDA:n hyväksynnän, ovat nivolumab ja pembrolizumab. Ne osoittivat tehokkuutensa useissa kliinisissä kokeissa, joissa niitä käytettiin ipilimumab hoitoa saaneille refraktorisesta melanoomasta kärsiville potilaille, sekä aikaisemmin hoitamattomille melanoomapotilaille. Nivolumabilla havaittiin 26,1 % korkeampi toimivuusaste dakarbatsiiniin verrattuna (Robert et al. 2015) ja aikaisemmin ipilimumabilla hoidetuilla potilailla huomattiin 26 % korkeampi toimivuusaste verrattuna solusalpaajahoittoon (Weber et al. 2015). Pembrolizumabilla huomattiin aikaisemmin ipilimumabilla hoidetuilla melanoomapotilailla korkea 38 % toimivuusaste sekä suuremmalla annostuksella toimivuusaste oli niinkin korkea kuin 52 % (Hamid et al. 2013). Pembrolizumabia verrattiin myös ipilimumabiin, jossa potilaille annettiin joko 10mg/kg kahden tai kolmen viikon välein tai ipilimumabia 3mg/kg neljä kertaa. Pembrolizumabia saaneilla potilailla toimivuusaste oli 21,2 % (2vk) ja 20,6 % (3vk) korkeampi kuin ipilimumabilla. Vastaavat kuuden kuukauden PFS arvot olivat 20,7 % ja 19,8 % korkeampia verrattuna ipilimumabiin (Robert et al. 2015). Kokonaisuudessaan nämä lääkeaineet tuottavat vain lieviä sivuvaikutuksia (Hamid et al. 2013) ja saavuttivat korkean toimivuusvasteen (Robert et al. 2015, Daud et al. 2015). Myös PD-1:sen ligandin (PD-L1) toimintaan on kohdistettu klinisiä tutkimuksia melanooman ja muiden syöpätyyp-

pien hoidoissa. Monet näistä PD-L1:seen vaikuttavat lääkeaineet ovat kuitenkin vielä kliinisen kehityksen eri vaiheissa ja ovat tuottaneet monenlaisia tuloksia. Näistä mainittakoon MPDL3280A eli atezolizumab, joka tuotti ensimmäisen asteen kliinisissä kokeissa 28 % toimivuusvasteen metastastaattisten melanoomapotilaiden hoidossa (Hodi et al. 2014).

Istutusimmunoterapiassa (Adoptive cell therapy, ACT) käytetään autoloogisia tai allogeenisia lymfosyytti T- tai NK-soluja kasvainsolujen tuhoamiseksi. Tässä potilaan omia kasvain reaktiivisia lymfosyytteja eristetään ja kasvatetaan *ex vivo*-olosuhteissa, jonka jälkeen niitä istutetaan kasvainmassan alueelle (Johnson et al. 2009). Poistetuissa melanoomakasvaimissa on huomattu olevan paljon kasvain antigeenispesifisiä T-soluja, joita voidaan eristää (Restifo et al. 2012). Yksi tällainen valkosolutyyppejä on kasvaimeen tunkeutuvat lymfosyytti (tumor infiltrating lymphocyte, TIL). Tätä kyseistä lymfosyyttiä on kokeiltu yksinään ja korkean IL-2 annostuksen kanssa, saavuttaen lähes 50 % toimivuusasteen (Dudley et al. 2005, Besser et al. 2010, Rosenberg et al. 2011, Wu et al. 2012). Haasteena kuitenkin tämän tyyppisessä hoidossa on kasvaimen resektion, sopivien potilaiden seurantaa ja sopivan solumäärän kultivoinnin onnistuminen (Rosenberg et al. 2011). Tällä hetkellä näiden haasteiden ylipääsemiseksi kokeillaan muun muassa TIL-solujen geneettistä manipulaatiota (Rosenberg 2011). Viime aikoina on myös tunnistettu uusia melanoomakasvainliitteisiä antigeenejä, joita T-solut 1 (MART-1) ja testiksessä olevat kasvaintigeenit (NY-ESO-1) tunnistavat (Lu et al. 2014, Kim et al. 2015). NY-ESO-1 on normaalisti ituradassa ekspressoituva geeni, mutta sen on huomattu usein ekspressoituvan kasvainkudoksissa (Chen et al. 1997). ACT on vaikuttanut lupaavalta hoitomuodolta metastastaattisen melanooman hoidossa muun muassa hiirikokeiden perusteella (Johnson et al. 2009).

### 3.4 KOMBINAATIOHOIDOT

Yhdistämällä kohdistetun terapian tai immunoterapian eri muotoja on saavutettu lupaavia tuloksia mahdollisen kehittyvän lääkeresistenssin ylipääsemiseksi. Esimerkiksi samanaikaisen BRAF- ja MEK-geenien inhibiointi on lisännyt kasvainsolujen apoptoosia ja hidastanut resistenssin kehittymistä verrattuna pelkästään BRAF- inhibiittorien käyttöön (Flaherty et al. 2012). Yksi ilmaantuminen BRAF-resistenssistä on MAPK-reitin uudelleen aktivoituminen ja tutkimusten perusteella epäillä, että samanaikainen MEK-inhibiointi saattaisi estää tämän tapahtumisen (Abdel-Rahman et al. 2015).

Useiden kliinisten kokeiden tulokset tästä hoitostrategiasta ovat olleet lupaavia, kun niitä on verrattu yksittäisen lääkeaineen käyttöön. Esimerkiksi dabrafenibin ja trametinibin samanaikainen käyttö johti useassa kokeessa parempiin tuloksiin verrattuna pelkästään dabrafenibin käyttöön (Flaherty et al. 2012, Long et al. 2015). Näiden kohdistetun terapian kombinaatiohoitojen toksisuus on ollut huolen aiheena. Kuitenkin trametinibin ja dabrafenibin yhdistelmähoidossa havaittiin, BRAF-inhibitiolle tyypillisten ihovaurioiden vähentymistä (King et al. 2013).

Immunoterapiahoitojen kombinaatiossa on saatu todisteita sen toimivuudesta muun muassa hiirikokeista, joissa CTLA-4 ja PD-1 samanaikainen inhibitio on osoittautunut hyvin toimivaksi, aiheuttaen ei-päällekkäisen immuunivasteen (Curran et al. 2010, Das et al. 2015). Ipilimumab ja nivolumab lääkeaineiden samanaikaisesta käytöllä saatiin muun muassa kolmannen asteen kliinissä kokeessa korkeampi 25 % toimivuusvaste verrattuna yksittäisen lääkkeen käyttöön. Vastavasti kombinaatiohoidolla oli 4,6 kuukautta pidempi PFS verrattuna pelkän nivolumabin käyttöön ja 8,6 kuukautta pidempi verrattuna pelkän ipilimumabin käyttöön (Larkin et al. 2015).

Kombinaatiohoitoihin on jatkuvasti kehitteillä uusia lähestymistapoja. Yksi pinnalla olevista on *Talimogene laherparepvec* (T-VEC), herpes simplex virus-1 pohjainen onkolyttinen rokotus, joka on osoittanut kestävästä vastetta erityisesti pehmytkudos- ja nodulaarityyppisen melanoomien hoidossa (Andtbacka et al. 2015). Lisäksi kombinaatiohoidot, kuten yhdistettäessä T-VEC ja ipilimumab lääkeainetta, vaikuttivat turvallisilta sekä tuottivat lupaavia tuloksia (Puzanov et al. 2015).

- Abdel-Rahman, O., ElHalawani, H. & Ahmed, H. (2015). Doublet BRAF/MEK inhibition versus single-agent BRAF inhibition in the management of BRAF-mutant advanced melanoma, biological rationale and meta-analysis of published data. *Clinical & Translational Oncology* DOI 10.1007/s12094-015-1438-0: Official Publication of the Federation of Spanish Oncology Societies and of the National Cancer Institute of Mexico.
- American Cancer Society (2014). Genes and Cancer. <http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/002550-pdf.pdf> Viitattu 30.05.2016.
- American Cancer Society (2016). Key statistics for melanoma skin cancer. <http://www.cancer.org/cancer/skincancer-melanoma/detailedguide/melanoma-skin-cancer-key-statistics> Viitattu 30.05.2016.
- American Cancer Society (2015). Known and Portable Human Carcinogens. <http://www.cancer.org/cancer/cancer-causes/othercarcinogens/generalinformationaboutcarcinogens/known-and-probable-human-carcinogens> Viitattu 30.05.2016
- American Cancer Society (2016). Melanoma skin cancer stages. <http://www.cancer.org/cancer/skincancer-melanoma/detailedguide/melanoma-skin-cancer-stages> Viitattu 21.05.2016.
- American Cancer Society (2016). Immunotherapy for melanoma skin cancer. <http://www.cancer.org/cancer/skincancer-melanoma/detailedguide/melanoma-skin-cancer-treating-immunotherapy> Viitattu 28.05.2016.
- American Cancer Society (2016). Targeted therapy for melanoma skin cancer. <http://www.cancer.org/cancer/skincancer-melanoma/detailedguide/melanoma-skin-cancer-treating-targeted-therapy> Viitattu 28.05.2016.
- American Cancer Society (2016). Risk factors for melanoma skin cancer. <http://www.cancer.org/cancer/skincancer-melanoma/detailedguide/melanoma-skin-cancer-risk-factors> Viitattu 30.05.2016.
- Andtbacka, R. H., Kaufman, H. L., Collichio, F., Amatruda, T., Senzer, N. et al. Coffin, R. S. (2015). Talimogene laherparepvec improves durable response rate in patients with advanced melanoma. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 33(25), 2780–2788.
- Ascierto, P. A., Schadendorf, D., Berking, C., Agarwala, S. S., van Herpen, C. M. et al. Dummer, R. (2013). MEK162 for patients with advanced melanoma harbouring NRAS or Val600 BRAF mutations: A non-randomised, open-label phase 2 study. *Lancet Oncology*, 14(3), 249–256.
- Atkins, M. B., Kunkel, L., Sznol, M. & Rosenberg, S. A. (2000). High-dose recombinant interleukin-2 therapy in patients with metastatic melanoma: Long-term survival update. *Cancer Journal from Scientific American*, 6(1), 11–14.
- Atkins, M. B., Lotze, M. T., Dutcher, J. P., Fisher, R. I., Weiss, G. et al. Rosenberg, S. A. (1999). High-dose recombinant interleukin 2 therapy for patients with metastatic melanoma: Analysis of 270 patients treated between 1985 and 1993. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 17(7), 2105–2116.
- Beadling, C., Jacobson-Dunlop, E., Hodi, F. S., Le, C., Warrick, A. et al. Corless, C. L. (2008). KIT gene mutations and copy number in melanoma subtypes. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 14(21), 6821–6828.
- Besser, M. J., Shapira-Frommer, R., Treves, A. J., Zippel, D., Itzhaki, O. et al. Schachter, J. (2010). Clinical responses in a phase II study using adoptive transfer of short-term cultured tumor infiltration lymphocytes in metastatic melanoma patients. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 16(9), 2646–2655.

- Carvajal, R. D., Lawrence, D. P., Weber, J. S., Gajewski, T. F., Gonzalez, R. et al. Hodi, F. S. (2015). Phase II study of nilotinib in melanoma harboring KIT alterations following progression to prior KIT inhibition. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 21(10), 2289–2296.
- Chapman P.B. (2013) Mechanisms of resistance to RAF inhibition in melanomas harboring a BRAF mutation. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*.
- Chapman, P. B., Hauschild, A., Robert, C., Haanen, J. B., Ascierto, P. et al. BRIM-3 Study Grp (2011). Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation. *New England Journal of Medicine*, 364(26), 2507–2516.
- Chen, Y.-T., Scanlan, M. J., Sahin, U., Türeci, Ö., Gure, A. O., Tsang, S. et al. Old, L. J. (1997). A testicular antigen aberrantly expressed in human cancers detected by autologous antibody screening. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(5), 1914–1918.
- Cruz-Munoz, W., Man, S., Xu, P. & Kerbel, R. S. (2008). Development of a preclinical model of spontaneous human melanoma central nervous system metastasis. *Cancer Research*, 68(12), 4500–4505.
- Curran, M. A., Montalvo, W., Yagita, H. & Allison, J. P. (2010). PD-1 and CTLA-4 combination blockade expands infiltrating T cells and reduces regulatory T and myeloid cells within B16 melanoma tumors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(9), 4275–4280.
- Danson, S. J. & Middleton, M. R. (2001). Temozolomide: A novel oral alkylating agent. *Expert Review of Anticancer Therapy*, 1(1), 13–19.
- Das, R., Verma, R., Sznol, M., Boddupalli, C. S., Gettinger, S. N. et al. Dhodapkar, K. M. (2015). Combination therapy with anti-CTLA-4 and anti-PD-1 leads to distinct immunologic changes in vivo. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 194(3), 950–959.
- Dudley, M. E., Wunderlich, J. R., Yang, J. C., Sherry, R. M., Topalian, S. L. et al. Rosenberg, S. A. (2005). Adoptive cell transfer therapy following non-myeloablative but lymphodepleting chemotherapy for the treatment of patients with refractory metastatic melanoma. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 23(10), 2346–2357.
- Daud, A., Ribas, A., Robert, C., Hodi, F. S., Wolchok, J. D., Joshua, A. M., & Dronca, R. S. (2015) Long-term efficacy of pembrolizumab (pembro; MK-3475) in a pooled analysis of 655 patients (pts) with advanced melanoma (MEL) enrolled in KEYNOTE-001. *ASCO Annual Meeting Proceedings. Journal of Clinical Oncology* 33 (Suppl 15):9005.
- Egberts, F., W. N. Hitschler, et al. (2009). Prospective monitoring of adjuvant treatment in high-risk melanoma patients: lactate dehydrogenase and protein S-100B as indicators of relapse. *Melanoma Research* 19(1), 31–35.
- Flaherty, K. T., Infante, J. R., Daud, A., Gonzalez, R., Kefford, R. F. et al. Weber, J. (2012). Combined BRAF and MEK inhibition in melanoma with BRAF V600 mutations. *New England Journal of Medicine*, 367(18), 1694–1703.
- Flaherty, K. T., Robert, C., Hersey, P., Nathan, P., Garbe, C. et al. METRIC Study Group (2012). Improved survival with MEK inhibition in BRAF-mutated melanoma. *New England Journal of Medicine*, 367(2), 107–114.
- Francisco, L. M., Sage, P. T. & Sharpe, A. H. (2010). The PD-1 pathway in tolerance and autoimmunity. *Immunological Reviews*, 236, 219–242.
- Hamid, O., Robert, C., Daud, A., Hodi, F. S., Hwu, W. J. et al. Ribas, A. (2013). Safety and tumor responses with lambrizumab (anti-PD-1) in melanoma. *New England Journal of Medicine*, 369(2), 134–144.
- Hodi F., Kluger H., Sullivan R.J., Flaherty K.T., Soria J.C., Xiao Y., Chappay C., Kowanetz M., Ballinger M., Sosman J.A. (2014). Clinical activity of the PD-L1 inhibitor MPDL3280A in patients with metastatic melanoma: updated phase I data. *Pigment Cell Melanoma Res*, 27, 1169.

- Johnson, L. A., Morgan, R. A., Dudley, M. E., Cassard, L., Yang, J. C. et al. Rosenberg, S. A. (2009). Gene therapy with human and mouse T-cell receptors mediates cancer regression and targets normal tissues expressing cognate antigen. *Blood*, 114(3), 535–546.
- Kaufman, C. K., Mosimann, C., Fan, Z. P., Yang, S., Thomas, A. J. et al. Zon, L. I. (2016). A zebrafish melanoma model reveals emergence of neural crest identity during melanoma initiation. *Science*, 351(6272).
- Kim JS, Kim YG, Pyo M, Lee HK, Hong JT, Kim Y & Han SB (2015) Adoptive Cell Therapy of Melanoma with Cytokine-induced Killer Cells. *Immune Network* 15(2), 58–65.
- King, A. J., Arnone, M. R., Bleam, M. R., Moss, K. G., Yang, J., Fedorowicz, K. E. et al. Smitheman, K. N. (2013) Dabrafenib; preclinical characterization, increased efficacy when combined with trametinib, while BRAF/MEK tool combination reduced skin lesions. *PLoS One* 8(7), e67583.
- Koh, H. K., Geller, A. C., Miller, D. R., Grossbart, T. A., Lew. R.A. (1996). Prevention and early detection strategies for melanoma and skin cancer: Current status. *Archives of Dermatology*, 132(4), 436–442.
- Larkin, J., Chiarion-Sileni, V., Gonzalez, R., Grob, J. J., Cowey, C. L., Lao, C. D. et al. Wolchok JD (2015) Combined Nivolumab and Ipilimumab or Monotherapy in Untreated Melanoma. *New England Journal of Medicine* 373(1), 23–34.
- Leiter, U., Garbe, C. (2008). Epidemiology of melanoma and nonmelanoma skin cancer--the role of sunlight. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 624, 89-103.
- Long, G. V., Stroyakoskiy, D., Gogas, H., Levchenko, E., De Braud, F. G., Larkin, J. M. G., & Garbe, G. (2015). COMBI-d: A randomized, double-blinded, Phase III study comparing the combination of dabrafenib and trametinib to dabrafenib and trametinib placebo as first-line therapy in patients (pts) with unresectable or metastatic BRAFV600E/K mutation-positive cutaneous melanoma. *ASCO Annual Meeting Proceedings. Journal of Clinical Oncology* 32 (Suppl 5):9011.
- Lu, Y., Yao, X., Crystal, J. S., Li, Y. F., El-Gamil, M. et al. Robbins, P. F. (2014). Efficient identification of mutated cancer antigens recognized by T cells associated with durable tumor regressions. *Clinical Cancer Research*, 20(13), 3401–3410.
- Maio, M., Grob, J. J., Aamdal, S., Bondarenko, I., Robert, C. et al. Wolchok, J. D. (2015). Five-year survival rates for treatment-naïve patients with advanced melanoma who received ipilimumab plus dacarbazine in a phase III trial. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 33(10), 1191–1196.
- McCubrey, J. A., Steelman, L. S., Chappell, W. H., Abrams, S. L., Wong, E. W. T. et al. Franklin, R. A. (2007). Roles of the Raf/mek/erk pathway in cell growth, malignant transformation and drug resistance. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1773(8), 1263–1284.
- Melanoma Research Foundation (2016). What is melanoma? <https://www.melanoma.org/understand-melanoma/what-is-melanoma> Viitattu 27.05.2016.
- Middleton, M. R., Grob, J. J., Aaronson, N., Fierlbeck, G., Tilgen, W. et al. Thatcher, N. (2000). Randomized phase III study of temozolomide versus dacarbazine in the treatment of patients with advanced metastatic malignant melanoma. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 18(1), 158–166.
- Murugan AK, Dong J, Xie J & Xing M (2009) MEK1 mutations, but not ERK2 mutations, occur in melanomas and colon carcinomas, but none in thyroid carcinomas. *Cell Cycle* 8(13), 2122–2124.
- Narayanan, D. L., Saladi, R. N. & Fox, J. L. (2010). Review: Ultraviolet radiation and skin cancer. *International Journal of Dermatology*, 49(9), 978–986.
- National Cancer Institute (2016). SEER Stat Fact Sheets: Melanoma of the Skin. <http://seer.cancer.gov/stat-facts/html/melan.html> Viitattu 28.05.2016.

- News Medical (2014). What is Melanin? <http://www.news-medical.net/health/What-is-Melanin.aspx> Viitattu 30.05.2016
- Nikolaev, S. I., Rimoldi, D., Iseli, C., Valsesia, A., Robyr, D., Gehrig, C., et al. Antonarakis, S. E. (2011). Exome sequencing identifies recurrent somatic MAP2K1 and MAP2K2 mutations in melanoma. *Nat Genet* 44(2), 133–139.
- Pardoll, D. M. (2012). The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nature Reviews.Cancer*, 12(4), 252–264.
- Parkin, D. M., Mesher, D. & Sasieni, P. (2011). 13. Cancers attributable to solar (ultraviolet) radiation exposure in the UK in 2010. *British Journal of Cancer*, 105, 66–S69.
- Parrish, J. A., Jaenicke, K. F. & Anderson, R. R. (1982). Erythema and melanogenesis action spectra of normal human skin. *Photochemistry and Photobiology*, 36(2), 187–192.
- Puzanov, I., Milhem, M. M., Antbacka, R. H. I., Minor, D. R., Hamid, O., Chou, A. L. J., & Kaufman, H. (2015). Survival, safety, and response patterns in a phase 1b multicenter trial of talimogene laherparepvec (T-VEC) and ipilimumab (ipi) in previously untreated, unresected stage IIIB-IV melanoma. *ASCO Annual Meeting Proceedings. Journal of Clinical Oncology* 33 (Suppl 15):9005.
- Rajpar, S. (2008) ABC series. ABC of Skin Cancer. Blackwell Publishing. <http://famona.sezampro.rs/medifiles/abc/abc%20of%20skin%20cancer.pdf>
- Restifo, N. P., Dudley, M. P., Rosenberg, S. A. (2012). Adoptive immunotherapy for cancer: harnessing the T cell response. *Nature Reviews Immunology*, 12(4), 269–81.
- Robert, C., Long, G. V., Brady, B., Dutriaux, C., Maio, M. et al. Ascierto, P. A. (2015). Nivolumab in previously untreated melanoma without BRAF mutation. *New England Journal of Medicine*, 372(4), 320–330.
- Robert, C., Schachter, J., Long, G. V., Arance, A., Grob, J. J. et al. KEYNOTE-006 investigators (2015). Pembrolizumab versus ipilimumab in advanced melanoma. *New England Journal of Medicine*, 372(26), 2521–2532.
- Rosenberg, S. A. (2011). Cell transfer immunotherapy for metastatic solid cancer--what clinicians need to know. *Nature Reviews.Clinical Oncology*, 8(10), 577–585.
- Rosenberg, S. A., Yang, J. C., Sherry, R. M., Kammula, U. S., Hughes, M. S. et al. Dudley, M. E. (2011). Durable complete responses in heavily pretreated patients with metastatic melanoma using T-cell transfer immunotherapy. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 17(13), 4550–4557.
- Rosenberg, S. A., Yang, J. C., Sherry, R. M., Kammula, U. S., Hughes, M. S. et al. Dudley, M. E. (2011). Durable complete responses in heavily pretreated patients with metastatic melanoma using T-cell transfer immunotherapy. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 17(13), 4550–4557.
- Salama, A. K. & Kim, K. B. (2013). MEK inhibition in the treatment of advanced melanoma. *Current Oncology Reports*, 15(5), 473–482.
- Skin Cancer Foundation (2016). Melanoma – Treatments. <http://www.skincancer.org/skin-cancer-information/melanoma/melanoma-treatments> Viitattu 22.05.2016.
- Skin Cancer Foundation (2016). Types of Melanoma. <http://www.skincancer.org/skin-cancer-information/melanoma/types-of-melanoma> Viitattu 23.05.2016
- Stern, R. S. (2010). Prevalence of a history of skin cancer in 2007: results of an incidence-based model. *Archives of Dermatology*, 146(3), 279–82.
- Solunetti (2006). Ihon solut. [http://www.solunetti.fi/fi/histologia/ihon\\_solut/](http://www.solunetti.fi/fi/histologia/ihon_solut/) Viitattu 30.05.2016

- The Regents of the University of California (2015). Melanoma. <http://melanoma.surgery.ucsf.edu/conditions--procedures/melanoma.aspx> Viitattu 27.05.2016.
- Tiacci, E., Trifonov, V., Schiavoni, G., Holmes, A., Kern, W. et al. Falini, B. (2011). BRAF mutations in hairy-cell leukemia. *New England Journal of Medicine*, 364(24), 2305–2315.
- United States Food and Drug Administration (2011). FDA approves new treatment for a type of late-stage skin cancer. <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm1193237.htm> Viitattu 28.05.2016
- Weber, J. S., D'Angelo, S. P., Minor, D., Hodi, F. S., Gutzmer, R. et al. Larkin, J. (2015). Nivolumab versus chemotherapy in patients with advanced melanoma who progressed after anti-CTLA-4 treatment (CheckMate 037): A randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncology*, 16(4), 375–384.
- Wu, R., Forget, M. A., Chacon, J., Bernatchez, C., Haymaker, C. et al. Radvanyi, L. G. (2012). Adoptive T-cell therapy using autologous tumor-infiltrating lymphocytes for metastatic melanoma: Current status and future outlook. *Cancer Journal* 18(2), 160–175.
- Zitelli, J. A., Mohs, F. E., Larson, P. & Snow, S. (1989). Mohs micrographic surgery for melanoma. *Dermatologic Clinics*, 7(4), 833–843.