

Il melanoma

Evoluzione della terapia medica in attesa dei vaccini

L'incidenza di melanoma è in aumento in tutti i Paesi occidentali. Al momento, la prevenzione primaria e secondaria gioca un ruolo fondamentale nel consentire interventi radicali e risolutivi. Dopo la chirurgia il rischio di ripresa di malattia può essere elevato negli stadi IIB e III e ciò giustifica l'impiego della terapia adiuvante. Nelle forme avanzate, la recente introduzione dei trattamenti combinati chemio-immunoterapici ha consentito di aumentare la sopravvivenza mediana da 6-9 mesi a 11-12 mesi. Alcuni farmaci si sono resi da poco disponibili e numerosi studi ne stanno verificando le potenzialità anche nei confronti della malattia metastatica cerebrale. Per le sue particolari caratteristiche, il melanoma si presta inoltre ad approcci di tipo immunologico. Le potenzialità e le modalità di vaccinazione attualmente in sperimentazione sono molteplici e con molte di esse si può ottenere già oggi una discreta immunizzazione *in vivo*. Nel prossimo futuro da queste tecniche ci si attendono risposte cliniche altrettanto soddisfacenti. *Trends Med 2002; 2(4):259-269.*

© 2002 Pharma Project Group srl

Key words:
melanoma
dacarbazine
fotemustine
temozolomide
IFN-alfa
IL-2
polyvalent vaccines

Il melanoma costituisce la neoplasia cutanea letale più frequente nella maggior parte delle popolazioni occidentali e, per ridurne l'incidenza e favorirne la diagnosi precoce, sono state adottate vaste campagne di sensibilizzazione. Vi sono osservazioni epidemiologiche che sembrano correlare l'insorgenza del melanoma con intense e saltuarie esposizioni alla luce solare, cosa che avviene frequentemente come abitudine voluttuaria nelle popolazioni di pelle chiara. Anche l'esposizione a radiazioni UV artificiali per l'abbronzatura, se non usata in maniera corretta, può essere considerata un'abitudine a rischio. Sicuramente i modelli estetici predominanti nel mondo occidentale dovrebbero esse-

sere rivisti e corretti sulla base delle conoscenze epidemiologiche ed eziologiche.

In questo contesto, il ruolo del medico di medicina generale è essenziale, essendo la diagnosi clinica di melanoma principalmente ispettiva. E' quindi fondamentale che il medico di famiglia acquisisca maggiore familiarità con questa patologia, poiché la sua diagnosi non è agevole soprattutto nelle fasi più precoci, proprio quando sarebbe più utile, facendo diventare ruotinario l'esame obiettivo della cute ed ispezionando con cura le lesioni pigmentarie nuove o preesistenti. E' importante, infatti, consentire un ricorso più mirato allo specialista, sul quale ricade, la responsabilità di formulare diagnosi. Un intervento



Ruggero Ridolfi

Dipartimento di Oncologia
 Ospedale "Morgagni-Pierantoni"
 47100 Vecchianzano -FC-

precoce può infatti eradicare con successo ben oltre il 50% dei casi osservati.

Epidemiologia e dimensioni del problema

L'incidenza di melanoma è aumentata di circa 10 volte negli ultimi 50 anni, anche se dati recenti mostrano un consistente rallentamento di tale tendenza. Attualmente negli Stati Uniti d'America il rischio di contrarre melanoma è di 1/75 individui ed in Australia tale rapporto sale a 1/25. In Italia, il rischio di sviluppare melanoma entro i 75 anni d'età è di circa lo 0,5% e nel quinquennio 1990-94 il numero di casi registrati è stato di 3.842, con prevalenza delle donne (2.080) rispetto ai maschi (1.741). La distribuzione dei casi sul territorio nazionale evidenzia differenze significative, con valori minimi rilevati a Sassari (49), Ragusa (64) e Latina (80) e massimi nell'area di Firenze-Prato (531). Un'incidenza rilevante è stata anche registrata nel Veneto, con 1.066 casi rilevati. E' probabile che nella determinazione di questi dati abbiano giocato un ruolo importante le campagne di prevenzione primaria e diagnosi precoce, molto attive nell'Italia centro-settentrionale: confermano l'efficacia della pre-

venzione l'aumentato numero di casi diagnosticati in stadi precoci e, soprattutto, l'aumento della sopravvivenza. Confrontando i dati della sopravvivenza ad 1, 3 e 5 anni nei periodi 1985-1989 e 1990-1994 si registrano percentuali rispettivamente dell'89% contro il 94%, del 74% contro l'83% e del 69% contro il 78%. Resta confermato il dato di una sopravvivenza a 5 anni migliore nelle donne (83%) rispetto agli uomini (72%)¹.

Ben diversi sono i dati di sopravvivenza dei pazienti affetti da melanoma in fase avanzata: le probabilità di sopravvivenza di questi pazienti a 5 anni è pari al 5-10%. La durata media di vita per i pazienti in stadio IV è tuttora stimata in 6-9 mesi, pur con qualche margine di miglioramento, con la recente introduzione di trattamenti integrati chemio-immunoterapici².

Solo la ristretta percentuale di pazienti che può usufruire della resezione chirurgica completa delle lesioni metastatiche, ha la possibilità di raggiungere sopravvivenze superiori (11-19 mesi); per contro una piccolissima frazione di pazienti che ha risposto all'immunoterapia può sopravvivere per periodi anche molto più lunghi. Nella tabella 1 è riportata la correlazione fra stadio e sopravvivenza.

Stadiazione e sopravvivenza

Un corretto approccio chirurgico alla lesione primitiva e l'introduzione delle tecniche di ricerca del linfonodo sentinella nei casi con lesioni di spessore superiore al millimetro, hanno contribuito a migliorare la stadiazione di base, con maggior sicurezza e minori sacrifici di inutili e devastanti linfoadenectomie per il paziente. A partire dall'anno in corso è divenuta operativa la nuova stadiazione proposta dall'American Joint Committee on Cancer Staging System for Cutaneous Melanoma (AJCC), che semplifica le categorie legate allo spessore del melanoma primitivo, precisa quelle legate all'invasione linfonodale, enfatizza il ruolo dell'ulcerazione nel peggiorare la prognosi ed infine, nelle forme avanzate, assegna un valore prognostico importante ai livelli sierici di lattico-deidrogenasi (LDH) (tabella 2)³. Le migliori condizioni diagnostiche e la precisazione delle categorie di stadiazione consentono di essere sempre più realistici riguardo alla prognosi dei pazienti, evidenziando fin dalla diagnosi il rischio teorico di ripresa di malattia dopo trattamento chirurgico.

Tabella 1. Correlazione fra stadio e sopravvivenza (S): percentuale di sopravvivenza a 5 anni secondo la classificazione convenzionale nel periodo 1990-1994 in Italia. E' interessante notare che nel periodo 1985-89 la sopravvivenza media a 10 anni era del 69% per lo stadio I e del 62% per lo stadio IIA.

Stadio	Caratteristiche	S (%)
I	Superficiale (<1,5mm); localizzato; non interessamento linfonodale	78
IIA	Spessore 1,5-4,0 mm; non interessamento linfonodale	72,5
IIB	Spessore >4,0 mm; non interessamento linfonodale	<50
III	Spessore >4,0 mm; interessamento linfonodale; assenza metastasi	28-40
IV	Spessore >4,0 mm; interessamento linfonodale e/o presenza di metastasi	5-10

Tabella 2. Stadiazione del melanoma cutaneo secondo la recente classificazione AJCC. Rispetto alla classificazione precedente viene posta enfasi sull'ulcerazione, sui parametri linfonodali e sulle metastasi.

Lesione cutanea (T)		Linfonodi (N)		Metastasi (M)	
Clas	Caratteristiche	Clas	Caratteristiche	Clas	Caratteristiche
T1a	Lesione ≤1mm senza ulcerazione	N1a	Micrometastasi di 1 linfonodo	M1	Localizzazioni cutanee e/o linfonodali a distanza; valori LDH normali
T1b	Lesione ≤1mm con ulcerazione	N1b	Macrometastasi di 1 linfonodo	M2	Metastasi polmonari; valori LDH normali
T2a	Lesione di 1-2mm senza ulcerazioni	N2a	Micrometastasi di 2-3 linfonodi	M3	Metastasi viscerali o in altri siti; valori LDH elevati
T2b	Lesione di 1-2 mm con ulcerazione	N2b	Macrometastasi di 2-3 linfonodi		
T3a	Lesione di 2-4 mm senza ulcerazione	N2c	Metastasi in transit e/o satellitosi senza linfonodi metastatici		
T3b	Lesione di 2-4 mm con ulcerazione	N3	Almeno 4 linfonodi metastatici o la combinazione di metastasi in transit/satellitosi o melanoma ulcerato più linfonodo/i metastatico/i		
T4a	Lesione >4 mm senza ulcerazione				
T4b	Lesione >4 mm con ulcerazione				

L'impatto dei trattamenti adiuvanti postchirurgici sulla sopravvivenza, in particolare l'uso di interferone-alfa, è tuttora oggetto di discussione, ma sembra ormai essere dimostrato un aumento della sopravvivenza libera da malattia (Disease Free Survival: DFS) e, nelle forme a maggior rischio, anche della sopravvivenza globale (Overall Survival: OS). Nelle forme avanzate, la monochimioterapia con dacarbazina (DTIC) resta tuttora il modesto riferimento base, con il 15-20% di risposte globali ed il 2% di sopravvivenza a 5 anni. Più recentemente, i trattamenti polichimioterapici sembrano incrementare questi risultati, sia in termini di percentuali di risposta che di sopravvivenza⁴. Le terapie biologiche, soprattutto l'interleuchina-2 (IL-2) nelle forme avanzate, consentono forti aumenti di sopravvivenza, al limite della "guarigione", ma solo in ristrettissimi sottogruppi di pazienti⁵.

Tecniche e modalità particolari di somministrazione dei farma-

ci, quale la perfusione ipertermico-antiblastica nel caso di malattia a sede distrettuale, offrono elevate percentuali di risposte obiettive; tuttavia, la malattia sfugge successivamente a livello sistemico ed in definitiva non si hanno consistenti miglioramenti per quanto riguarda la sopravvivenza. Risultati importanti sono attesi con l'impiego di vaccini di prossima introduzione⁶. In questa rassegna ci concentreremo sulle terapie mediche attualmente più in uso.

Terapia adiuvante

La necessità di ricercare una efficace terapia adiuvante si basa sulla drammatica osservazione dei tassi di sopravvivenza dopo chirurgia. La sopravvivenza a 5 anni dei pazienti sottoposti ad exeresi chirurgica con metastasi linfonodali (stadio III) è del 28-40%, con un rischio di ricaduta dell'85%. La sopravvivenza dei pazienti in stadio IIA (con spessore della lesione primitiva compresa fra 1,5 e 4 mm e linfonodi

negativi) è del 72,5% e 62% rispettivamente a 5 e 10 anni. I pazienti con stadio IIB (spessore >4 mm e linfonodi negativi) hanno probabilità di sopravvivenza intermedie, stimate <50% a 5 anni.

In questo quadro, da molti anni si sono succeduti vari tentativi di mettere a punto strategie adiuvanti efficaci. I numerosi studi condotti con chemioterapia, prevalentemente basati sull'uso della dacarbazina, non hanno registrato successi, neppure quando sono stati associati immunostimolanti aspecifici, quali BCG, levamisolo, *Corynebacterium parvum*, etc.

Le terapie biologiche del melanoma mirano ad ottimizzare o a ripristinare una più efficace risposta immunitaria, al fine di ottenere un'azione citotossica più specifica e completa.

Terapie biologiche

Negli ultimi 15-20 anni l'attenzione si è focalizzata sull'uso dell'interferone (IFN) che, pur non avendo efficacia straordinaria nei confronti delle forme avanzate (15-20% di risposte globali), presenta attività biologiche multiple oltre ad attività citotossica diretta. L'IFN-alfa induce l'espressione di antigeni tumore associati, la produzione di Heat Shock Proteins (HSP) e l'esposizione del Complesso Maggiore di Istocompatibilità (MHC) di classe I e II. Si tratta di meccanismi che rendono la cellula tumorale più facilmente riconoscibile ed aggredibile dal sistema immunitario. L'IFN è inoltre in grado di attivare i linfociti-T citotossici ed i Natural Killer (NK); più di recente è stata anche descritta un'attività antiangiogenetica a dosi bassissime e continuative. Le forme più usate in terapia sono l'IFN- α -2a e l'IFN- α -2b e qualche sporadico tentativo terapeutico è stato condotto con IFN- γ .

Gli studi di terapia adiuvante con IFN- α sono numerosi, hanno riguardato differenti tipologie di pazienti e sono stati condotti con differenti modalità di somministrazione e di dosaggio⁷. Si tende a suddividere i trat-

tamenti sulla base della dose: si parla di "basse dosi" (generalmente 3.000.000 U sottocute x 3 volte/settimana per 12-36 mesi) oppure di "alte dosi" (20.000.000 U/m² endovena x 5 giorni x 4 settimane; 10.000.000 U/m² sottocute x 3 volte/settimana x 11 mesi). Vi sono infine dosaggi considerati "intermedi" che prevedono dosi variabili da 10 a 20 MU per alcuni mesi. Gli studi con "basse dosi" non hanno mostrato efficacia nel prolungare la sopravvivenza globale in termini di significatività statistica: un ultimo esempio di studio negativo è quello inglese presentato all'ASCO 2001 con 654 pazienti arruolati⁸ (tabella 3).

Risultati simili erano stati ottenuti precedentemente da Cascinelli, mentre Grob e Pehamberger hanno dimostrato un prolungamento della sopravvivenza libera da malattia (DFS) ma non della sopravvivenza globale (OS) trattando solo pazienti in stadio IIA⁹⁻¹¹.

Le alte dosi, invece, sperimentate dal Gruppo americano dell'ECOG sono indicate come terapia adiuvante per le forme a più alto rischio. La tossicità è consistente ed i costi del trattamento sono elevati, tuttavia anche l'ultimo studio di Kirkwo-

od (E-1694) ha mostrato un vantaggio significativo a favore delle alte dosi nei confronti di un vaccino basato sull'uso del Ganglioside, che, nella peggiore delle ipotesi, se inefficace, vale come controllo senza terapia¹²⁻¹⁴. Complessivamente l'uso dell'IFN ad alte dosi si caratterizza per costi elevati, effetti collaterali consistenti ed indicazioni da valutare in pazienti ad alto rischio di ripresa di malattia^{13,14}. In Italia sono in corso due studi coordinati dall'Intergruppo Melanoma Italiano (IMI): uno prevede il confronto fra lo schema ad alte dosi di Kirkwood *versus* una intensificazione che eroga una dose analoga in circa metà tempo in pazienti con alto rischio (stadio III), l'altro, studia l'uso di bassissime dosi di IFN a scopo antiangiogenetico in pazienti con rischio intermedio. E' in corso inoltre uno studio dell'EORTC con Peg-IFN (IFN a rilascio lento). Segnalazioni sporadiche riguardano approcci terapeutici adiuvanti con altre citochine, quali IL-2 e GM-CSF¹⁵. La speranza è che in un prossimo futuro possano essere meglio conosciuti i predittori di risposta o di sopravvivenza alle varie terapie, per meglio mirare i trattamenti ed evitare terapie inutili.

Tabella 3. Studi clinici con IFN-alfa a differenti dosaggi e modalità di somministrazione.

Autore/Anno	Stadio	N° paz.	Dose IFN	DFS (%)			OS (%)		
				IFN	Controlli	p	IFN	Controlli	p
Cascinelli 1994 ⁹	III	444	Bassa	46	27	NS	-	-	NS
Grob 1998 ¹⁰	IIA	499	Bassa	-	-	0,035	-	-	NS
Pehamberger 1998 ¹¹	IIA	311	Bassa	36	24	0,02	-	-	NS
Hancock 2001 ⁸	IIB-III	654	Bassa	52	50	NS	33	29	NS
Kirkwood 1996 ¹²	IIB-III	287	Alta	37	26	0,0023	46	37	0,0237
Kirkwood 2000 ¹³	IIB-III	642	Alta	-	-	0,05	-	-	NS
Kirkwood 2001 ¹⁴	IIB-III	880	Alta	-	-*	0,001	-	-	0,009

*Il confronto è stato eseguito vs. vaccinazione con GM2 ganglioside
DFS: Disease Free Survival; OS: Overall Survival

Vaccini

Attualmente vi è molto fervore sul possibile ruolo dei vaccini, soprattutto perchè nel prossimo futuro troverebbero indicazione prevalente nei residui minimi di malattia e quindi in pazienti a rischio di ricaduta dopo chirurgia. Il gruppo di Morton ha in corso due studi di terapia adiuvante con un vaccino derivato da colture cellulari di melanoma (CancerVax): uno in aggiunta al bacillo di Calmette-Guerin (BCG) *versus* BCG da solo in pazienti in stadio III, l'altro con il solo vaccino *versus* controllo in pazienti in stadio IV dopo chirurgia radicale. Questa ipotesi si basa su dati molto incoraggianti ottenuti dallo stesso gruppo in uno studio preliminare di fase II¹⁶.

L'EORTC è in procinto di avviare uno studio con GMK, un vaccino costituito dal complesso di un ganglioside (GM2), di una emocianina (Keyhole Limpet Hemocyanin-KLH) ed una saponina (QS21) *versus* controllo in pazienti in stadio II. Il razionale è basato sul fatto che il GM2 è una componente della membrana cellulare presente nella quasi totalità dei melanomi, ma che solo un 5-10% dei pazienti ha anticorpi verso di essa. Si è osservato che i pazienti nei quali sia stata indotta la presenza di tali anticorpi, hanno una sopravvivenza maggiore rispetto agli altri. La somministrazione del complesso formato dal legame GM2-KLH-QS21 fa sì che nella quasi totalità dei pazienti si abbia l'induzione di anticorpi anti-GM2¹⁷.

Terapia delle forme metastatiche

La terapia delle forme metastatiche si avvale, in rapporto al tipo di metastasi, sia del tratta-

mento chirurgico sia della terapia medica. In presenza di coinvolgimento dei linfonodi loco-regionali e di metastasi *in transit* di numero e dimensioni limitate, si impone l'asportazione chirurgica. Viceversa le metastasi a distanza, fatta eccezione per quelle suscettibili di exeresi completa, devono essere sottoposte a trattamento medico. Oggi la terapia medica prevede l'impiego di vari farmaci, appartenenti a diverse classi, da soli o in associazione, in relazione alla sede della metastasi, alla progressione della malattia ed alla tipizzazione istologica.

Chemioterapia

La dacarbazina (DTIC) è tuttora considerata la molecola di riferimento, essendo l'agente singolo con maggiore attività. Ciononostante, la dacarbazina è in grado di determinare solo il 15-20% di risposte globali ed il 3% di risposte complete, con una durata della risposta di 4-6 mesi¹⁸. Diversi altri chemioterapici sono stati usati singolarmente: le nitrosouree, gli alcaloidi della Vinca, il cisplatino (CDDP) e, più recentemente i tassani; tuttavia, le percentuali di risposta globale continuano ad essere modeste (15-20%) e gravate da tossicità non trascurabile.

Fotemustina

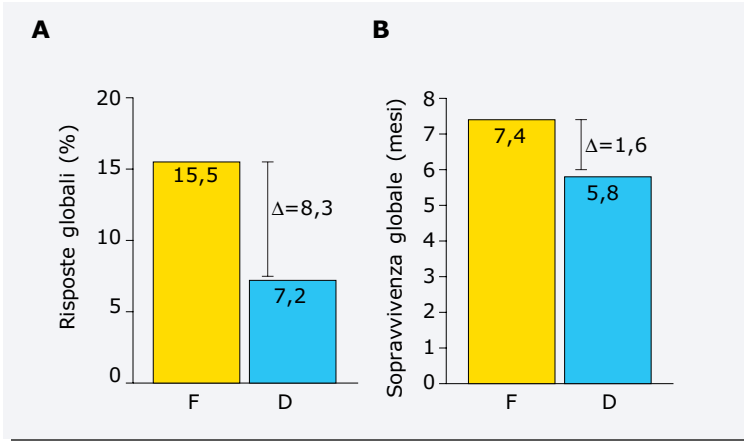
Uno dei limiti della terapia con dacarbazina è la scarsa diffusibilità tissutale della molecola e la incapacità di attraversare la barriera ematoencefalica, lasciando le metastasi cerebrali prive di qualsiasi copertura. Recentemente è stata introdotta una nuova nitrosourea, la fotemustina (FTMS). Questa molecola contiene un residuo amminico fosforilato (fosfoalanina) che la rende altamente lipofila ed adatta al superamento

Fotemustina costituisce una ulteriore opportunità nel trattamento della malattia metastatica, sia per la possibilità di raggiungere sedi non raggiunte da altri congeneri, sia per il buon profilo di efficacia e sicurezza.

delle membrane, compresa la barriera emato-encefalica. La molecola raggiunge inoltre elevate concentrazioni a livello epatico. L'elevato indice di distribuzione fra plasma e tessuti target è dimostrato dalla rapida clearance plasmatica, con un'emivita di circa 20 minuti. Trattandosi di un alchilante, fotemustina agisce modificando la struttura del DNA cellulare.

Gli studi di monochemioterapia con FTMS, recentemente approvata per il trattamento del melanoma metastatico, hanno riportato risposte del 20-25%, con un 25% di risposte anche sulle metastasi cerebrali. I primi studi di associazione di fase II con altri farmaci sono stati eseguiti per lo più con DTIC ed IFN-alfa, con percentuali di risposta globale del 44% e del 38% rispettivamente¹⁹. Al recentissimo congresso dell'American Society of Clinical Oncology (ASCO) del 2002 è stato presentato uno studio di fase III volto a confrontare i risultati del trattamento con fotemustina (112 pazienti) contro dacarbazina (117 pazienti). Come si osserva in figura 1 è stata ottenuta una risposta globale pressoché doppia con fotemustina (15,5%) rispetto a dacarbazina (7,2%). Risultati soddisfacenti, pur ai limiti della significatività ($p=0,053$) sono stati anche osservati sulla sopravvivenza²⁰. Un dato estre-

Figura 1. Fotemustina (F) vs dacarbazina (D) in pazienti con malattia metastatica: percentuali di risposta globale (A) e sopravvivenza globale (B). (Adattata da Aamdal S et al 2002²⁰).



mamente interessante di questo studio è la mediana di insorgenza delle metastasi cerebrali, che è stata di 22,7 mesi con fotemustina e di 7,2 mesi con dacarbazina ($p=0,059$).

In questo studio la tossicità non ematologica è risultata simile nei due bracci, mentre quella ematologica è risultata più frequente con FTMS, pur senza raggiungere gradi importanti di severità. Probabilmente la molecola merita di essere testata in associazioni chemio(immuno)terapiche per ulteriori valutazioni. L'IMI inizia a tal proposito uno studio di fase II con l'associazione FTMS, CDDP, alfa-IFN ed IL-2 in pazienti con melanoma avanzato, metastasi cerebrali comprese. Un'ultima considerazione riguardante la FTMS è il suo possibile impiego per via locoregionale intraarteriosa nei confronti delle metastasi epatiche: sempre all'ASCO di quest'anno è stato presentato uno studio con fotemustina nel trattamento delle metastasi epatiche da melanoma uveale²¹. Sono stati studiati 66 pazienti e si sono osservate 7 risposte complete e 15 parziali (RR 35,5%) della durata mediana di 10,3 mesi. La mediana di

sopravvivenza è stata di 14,8 mesi.

Temozolomide

E' attualmente in avanzata fase di sperimentazione la temozolomide (TMZ), molecola che *in vivo* viene ridotta ad un metabolita del DTIC e che quindi può essere considerata un suo analogo. Questo farmaco viene somministrato per os ed è caratterizzato da ridotta tossicità. Temozolomide è stata confrontata con dacarbazina in uno studio di fase III su 305 pazienti, dimostrando efficacia pressoché sovrapponibile: sono stati infatti registrati tassi di risposta globale pari al 13,5% per temozolomide ed al 12,1% per dacarbazina, con un tempo mediano di sopravvivenza di 7,7 mesi e 6,4 mesi rispettivamente; in compenso è stata osservata minore tossicità ed una migliore compliance²². Anche temozolomide ha capacità di superare la barriera ematoencefalica e quindi può risultare utile nel trattamento e/o nella prevenzione delle metastasi cerebrali. A tal proposito Summers riporta una minor incidenza di metastasi cerebrali in una analisi retrospettiva in cui ha confrontato i risultati del trat-

tamento con temozolomide e dacarbazina²³. L'IMI sta iniziando uno studio di fase III che comparerà il regime chemioimmunoterapico comprendente cisplatino (CDDP) più DTIC più IL-2 ± GM-CSF contro lo stesso schema con temozolomide al posto della dacarbazina: l'end-point primario dello studio è l'incidenza di metastasi cerebrali.

Terapia combinata

Le diverse combinazioni polichemioterapiche hanno portato negli studi di fase II ad un incremento della percentuale di risposte globali a valori che talora raggiungono il 30-50%. Una delle associazioni più interessanti sembra essere quella in cui sono presenti dacarbazina più cisplatino più un alcaloide della Vinca: vinblastina, oppure vindesina, secondo lo schema del Gruppo italiano BREMIM, che riporta un 35% di risposte globali²⁴.

Molto usato è stato lo schema descritto per la prima volta da Del Prete nel 1984, costituito dalla combinazione cisplatino + dacarbazina + carmustina + tamoxifene (TAM), generalmente noto come protocollo Dartmouth. A tale protocollo sono state attribuite percentuali di risposta globale pari al 46%, con il 16% di risposte complete²⁵. Si è discusso a lungo circa l'utilità dell'aggiunta ai chemioterapici del tamoxifene, restando tuttora oscuri i motivi per cui dovrebbe verificarsi un'aumentata efficacia terapeutica con questo farmaco, non essendo mai stata dimostrata la presenza di recettori per gli estrogeni nelle cellule di melanoma. La recente pubblicazione dei dati di uno studio di fase III sembra togliere ogni dubbio circa l'efficacia dell'aggiunta di TAM alla

chemioterapia, non essendo state ottenute differenze in 184 pazienti randomizzati a ricevere la terapia secondo lo schema Dartmouth con o senza TAM²⁶.

La reale utilità della polichemioterapia secondo lo schema Dartmouth è stata recentemente rimessa in discussione da Chapman: in 226 pazienti valutabili, lo schema è stato confrontato con la sola dacarbazina, senza osservare differenze significative²⁷.

Terapia biologica

Gli studi clinici che hanno usato l'IFN in pazienti affetti da melanoma in fase avanzata sono iniziati negli anni '80 e sono poi proseguiti con estrema varietà di dosaggio e modalità di somministrazione, determinando percentuali medie di risposta del 16%, con meno del 5% di risposte complete ed una durata di risposta di circa 4 mesi²⁸.

Anche l'IL-2 è largamente usata in questa patologia; questa citochina, prodotta dai linfociti-T attivati, costituisce il segnale di attivazione per i linfociti T e NK. Questi ultimi si trasformano in Lymphokine Activated

Killer (LAK) e sono in grado di riconoscere ed opsonizzare le cellule tumorali *in vitro* risparmiando quelle sane. I primi studi sono stati pubblicati alla fine degli anni '80 e gran parte delle prime esperienze cliniche con IL-2 furono accompagnate dalla contemporanea reinfusione di LAK o di Tumor Infiltrating Lymphocytes (TIL) autologhi. Le procedure, complesse e costose, si accompagnavano al trattamento con alte dosi di IL-2²⁹. I risultati ottenuti, pur interessanti dal punto di vista speculativo, non sono stati tali da imporre tali regimi su larga scala. L'IL-2, usata in infusione venosa a dosi medio-alte è pirogena, induce ipotensione severa con conseguente tachicardia, tachiaritmia, oliguria, sonnolenza, edemi diffusi, rash cutanei e prurito³⁰. Soprattutto in Europa si è diffusa la metodica della somministrazione per via sottocutanea, descritta per primo da Atzpodien nel 1990³¹. L'uso di IL-2 comporta percentuali di risposta globale variabili fra il 15 e il 20%, con il 6-8% di risposte complete. L'associazione IL-2+IFN- α è stata accreditata di

un 23% di risposte globali³².

Più recentemente, Bajetta e collaboratori hanno impiegato IL-12 in uno studio pilota su 10 pazienti, registrando 3 risposte miste, con effetti terapeutici e tossici dose-dipendenti³³.

Associazioni chemioimmunoterapiche

Dai primi anni '90 ad oggi numerosissimi studi di fase II riguardanti associazioni di chemioterapici con IL-2 ed alfa-IFN sono stati pubblicati, con il raggiungimento di percentuali di risposte globali anche superiori al 60%, indicando la necessità di confermare il dato con studi di fase III³⁴. La tabella 4 riporta il confronto dei dati relativi alla sopravvivenza in due metanalisi condotte da Allen e da Keilholz^{35,36}. Vi è un indiscutibile trend di miglior sopravvivenza con la chemioimmunoterapia, con una mediana che raggiunge i 12 mesi. Nella stessa tabella sono riportati gli studi di fase III, in cui la chemioterapia è confrontata con la biochemioterapia. Lo studio di Rosenberg è stato chiuso anzitempo per una sopravvivenza mi-

Tabella 4. Sopravvivenza globale (OS): confronto fra chemioterapia (CT) e chemioimmunoterapia (BioCT).

Autore	N° paz.	Trattamento	OS (mesi)
Allen 1998 ³⁵ (metanalisi)	7000	CT	7
		solo IL-2	8
		bioCT	10
Keilholz 1998 ³⁶ (banca dati EORTC)	117 49 153 312	solo IL-2	7,5
		IL-2 + CT	9,9
		IL-2 + IFN	10,5
		bioCT	11,4
Rosenberg 1999 ³⁷	102	CT	15,6
		bioCT (Hd IL-2 in bolus)	10,7
Eton-Legha 2002 ³⁸	183	CT	9,2
		bioCT (Hd IL-2 in infusione continua)	11,9
Ridolfi-IMI 2002 ⁴⁰	178	CT	9,5
		bioCT (Low-D IL-2 sottocute)	11

gliore nel braccio della chemioterapia probabilmente correlato all'uso delle alte dosi "bolus" di IL-2³⁷. Lo studio di Eton ha mostrato per la prima volta un netto miglioramento di risposte con la biochemioterapia ed una sopravvivenza di 11,9 mesi (contro i 9,2 della sola chemioterapia: $p=0,06$)³⁸. Il risultato è ottenuto con l'infusione continua di IL-2 (secondo lo schema di West), che comporta comunque tossicità rilevante e la necessità di ospedalizzazione³⁹.

L'ultimo dato è quello di uno studio italiano dell'IMI, in cui non si sono registrati risultati statisticamente superiori con la biochemioterapia: la sopravvivenza raggiunta è stata di 11 mesi, con trattamento ben tollerato ed eseguito interamente in regime di *day hospital* con IL-2 usata per via sottocutanea⁴⁰.

Il trend a favore della chemioimmunoterapia potrebbe essere confermato da un altro studio italiano in corso, condotto dall'Istituto Nazionale per lo Studio e la Cura dei Tumori di Milano.

Vaccinoterapia

Per vaccinazione si intende l'attuazione di una tecnica immunoterapica capace di indurre nell'ospite una risposta specifica che porti il sistema immunitario a riconoscere ed eliminare le cellule tumorali. A supporto di questo approccio, soprattutto nel caso del melanoma, sono stati riconosciuti numerosi antigeni tumore-specifici e l'evidenza sperimentale, *in vitro* e nell'animale, della capacità del sistema immunitario di attivarsi, procedendo alla distruzione delle cellule che li esprimono. Esistono tuttavia meccanismi di "immunoescape" che ogni tumore ha insiti nelle proprie caratteristiche di accrescimento e

di invasione indisturbata dei tessuti contigui⁴¹. Come un tessuto immunoprivilegiato, la neoplasia è in grado di mascherare gli antigeni ed esprimere con scarsa evidenza le molecole HLA, indispensabili per il loro riconoscimento. Oltre alle capacità di sottrarsi all'identificazione immunitaria, un tessuto immunoprivilegiato sembra attuare un vero e proprio contrattacco contro il sistema immune dell'ospite. Le Antigen Presenting Cells (APC) presenti nel sito tumorale sono private delle molecole costimolatorie (B_7) indispensabili per la trasmissione del segnale di riconoscimento antigenico linfocitario; questa carenza, può comportare addirittura una selezione linfocitaria tollerogena nei confronti di quegli stessi antigeni⁴². La produzione tumorale di citochine inibitorie (IL-10 e TGF- β) e di sostanze dotate di attività multiple, come il Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), che oltre alla funzione di avviare l'angiogenesi ha anche quella di inibire le APC, contribuisce a completare lo scenario dell'immunosoppressione⁴³. Pur tenendo conto di tutti questi fattori, esistono tuttavia le premesse biologiche per attuare una vaccinoterapia. Le modalità attraverso le quali è teoricamente possibile giungere all'immunizzazione antitumorale sono molteplici.

Linee cellulari inattivate o loro derivati

Vengono utilizzate linee cellulari autologhe o allogeniche di melanoma, inattivate generalmente con irradiazione. Queste possono venire inoculate direttamente o usate per estrarre lisati cellulari, a loro volta somministrati con adiuvanti. Il maggiore vantaggio di questo approccio

è che l'intero patrimonio antigenico del tumore viene esposto al sistema immunitario. Sussistono tuttavia alcune perplessità legate alla necessità di reinoculare cellule tumorali inerte anche se inattivate, di non conoscere gli antigeni con cui si immunizza e, soprattutto, resta la difficoltà tecnica di poter disporre delle linee cellulari necessarie.

Peptidi associati ad HLA

Si basa sulla possibilità di usare peptidi noti, quali antigeni specifici, da soli o in combinazioni più o meno numerose. Vi è la necessità di conoscere l'HLA del paziente, per poter coniugare il peptide in questione con il proprio HLA. Le prime segnalazioni in letteratura risalgono al 1995 e a tutt'oggi sono state effettuate diverse sperimentazioni cliniche con dimostrazione di effettiva immunizzazione e risposte obiettive parziali. In definitiva, la vaccinazione con peptidi assicura il vantaggio di conoscere con precisione l'antigene verso cui si attiva il sistema immunitario e la possibilità di costituire un insieme predefinito di antigeni da selezionare.

La debolezza dell'attivazione immunitaria ottenibile con uno o pochi peptidi può impedire di raggiungere una soddisfacente attività clinica. Altri aspetti di preoccupazione riguardano: la necessità di aiutare la stimolazione con procedure adiuvanti o con l'uso di citochine; la possibilità di immunoselezione nei confronti dei peptidi non compresi nella vaccinazione; la possibilità di avere forme tumorali mutanti in grado di sfuggire al riconoscimento; la difficoltà di conoscere ed avere a disposizione peptidi validi; la necessità di legare questi peptidi all'HLA dei singoli pazienti.

Heat Shock Protein (HSP)

Le HSP sono proteine indotte dallo stress in tutti i tipi cellulari, comprese le cellule tumorali. La loro particolarità è quella di trascinare al proprio interno una grande quantità di peptidi, compresi quelli di derivazione tumorale aventi proprietà antigenica. Uno dei vantaggi che potrebbe derivare dal loro uso nell'uomo è dovuto al fatto che, immunizzando contro un complesso quanto mai vario di peptidi antigenici si possa fornire una sorta di identikit della cellula tumorale al sistema immunitario. In questo caso la vaccinazione sarebbe personalizzata; l'aspetto limitante di questa tecnica è rappresentato dal fatto che occorrono diversi grammi di tumore autologo per ottenere una quantità di HSP sufficiente per la vaccinazione. Una importante segnalazione di vaccinazione con HSP nell'uomo è stata anticipata da Parmiani all'ASCO 2001, con 2 risposte complete e 3 stabilizzazioni su 34 pazienti affetti da melanoma avanzato⁴⁴.

Cellule dendritiche (DC)

Le DC sono le Antigen Presenting Cells (APC) professionali, indispensabili per far scattare il riconoscimento antigenico da parte dei linfociti-T. Solo attraverso questo processo essi sono in grado di memorizzare gli antigeni e di attivarsi per distruggere le cellule che li espongono⁴⁵. Recenti segnalazioni in letteratura dimostrano che, nell'ambito del tessuto tumorale, le DC sono prive delle necessarie molecole costimolatorie e sono incapaci di trasmettere alcun segnale. Le DC possono essere coltivate e fatte maturare nell'arco di una settimana con GM-CSF e IL-4, partendo da precursori del midollo osseo o da sangue periferico: si ottengono, in tal modo, DC perfettamente funzionanti in grado di trasmettere segnali di attivazione ai linfociti. Occorre naturalmente "caricare" o "pulsare" le DC con gli antigeni che si vogliono far riconoscere. I potenziali antigeni con cui le DC possono venire pulstate per istruire opportunamente i T-linfociti sono molteplici: si possono usare singoli peptidi, lisato o derivati tumo-

rali, corpi apoptotici ecc. E' difficile allo stato attuale ipotizzare quale sia la scelta migliore. La prima segnalazione dell'uso di questo tipo di vaccinazione nel melanoma è di Nestle che ha ottenuto su 16 pazienti trattati 5 risposte cliniche di cui 2 complete⁴⁶.

Manipolazioni genetiche

Gli approcci relativi alle possibili manipolazioni geniche rappresentano un settore di grande interesse, sia per quanto concerne i possibili vettori sia per le enormi potenzialità teoriche⁴⁷. L'inserimento di geni nelle cellule tumorali può essere utilizzato per indurre l'espressione di molecole costimolatorie o per la secrezione di determinate citochine, quali IL-2, IL-4, IL-12, GM-CSF, etc. Nel primo caso si cerca di rendere le cellule tumorali più "visibili" al sistema immunitario, nel secondo si cerca di richiamare effettori immunitari e/o di ripristinare le alterazioni locali da immunosoppressione tumorale. E' evidente che in questo campo della ricerca le possibilità teoriche possono superare ogni previsione. **T.M.**

Melanomas

Developments in medical treatment while awaiting future vaccines

Summary

The incidence of melanoma is increasing throughout the Western world. At present, primary and secondary prevention play a fundamental role in allowing radical resolving operations. The risk of relapse after surgery can be high (stages IIB and III) and this justifies the use of adjuvant treatment. In advanced stages of the disease, the recent introduction of combined chemotherapy and immunotherapy has led to median survival increasing from 6-9 months to 11-12 months. A few new drugs have recently become available and several trials are under way to test their potential, also in the case of brain metastases. Due to their particular characteristics, melanomas also lend themselves to immunologic approaches. The potential of the vaccines and methods of vaccination presently being experimented are manifold, and good *in vivo* immunization can already be achieved with several of them. Equally satisfactory clinical results are expected from these techniques in the near future.

Ridolfi R. Melanomas. Developments in medical treatment while awaiting future vaccines. *Trends Med* 2002; 2(4):259-269.

Bibliografia

1. **Rosso S, Casella C, Crocetti E, et al.** La sopravvivenza dei casi di tumore in Italia negli anni novanta: i dati dei registri tumori. *Epidemiologia e Prevenzione* 2001; 25 (suppl 3):174.
2. **Nathan FE, Mastrangelo MJ.** Systemic therapy in melanoma. *Seminars in Surg. Oncol.* 1998; 14:319-327.
3. **Balch CM, Buzaid AC, Atkins MB, et al.** A new American Joint Committee on Cancer staging system for cutaneous melanoma. *Cancer* 2000; 88:1484-1491.
4. **Lee SM, Betticher DC, Thatcher N, et al.** Melanoma: chemotherapy. *Br Med Bull* 1995; 51:609-613
5. **Atkins MB, Lotze MT, Dutcher JP, et al.** High-dose recombinant Interleukin-2 therapy for patients with metastatic melanoma: Analysis of 270 patients treated between 1985 and 1993. *J Clin Oncol* 1999; 17:2105-2116.
6. **Greten TF, Jaffee EM.** Cancer vaccines. *J Clin Oncol* 1999; 17: 1047-1060.
7. **Nathanson L.** Interferon adjuvant therapy of melanoma. *Cancer* 1996; 78:944-947.
8. **Hancock BW, Wheatley K, Harrison G, et al.** AIM High-Adjuvant Interferon in Melanoma (High Risk). A United Kingdom Co-ordinating Committee On Cancer Research (UKCCCR). Randomised Study of Observation versus Adjuvant Low Dose Extended Duration Interferon Alpha-2a in High Risk Resected Malignant Melanoma. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2001; 20:2393A.
9. **Cascinelli N, Bufalino R, Morabito a, et al.** Results of adjuvant interferon study in WHO melanoma program. *Lancet* 1994; 343: 913-916
10. **Grob JJ, Dreno B, de la Salmonière P, et al.** Randomised trial of interferon alfa-2a as adjuvant therapy in resected primary melanoma thicker than 1.5 mm without clinically node metastases. *Lancet* 1998; 351:1905-1910.
11. **Pehamberger H, Soyer HP, Steiner A, et al.** Adjuvant interferon alpha-2a treatment in resected primary stage II cutaneous melanoma. *J Clin Oncol* 1998; 16:1425-1429.
12. **Kirkwood JM, Strawdermann MH, Ernstoff MS, et al.** Interferon alfa-2b adjuvant therapy of high-risk resected cutaneous melanoma: the Eastern Cooperative Oncology Group Trial EST 1684. *J Clin Oncol* 1996; 14:7-17.
13. **Kirkwood JM, Ibrahim JG, Sondak VK, et al.** High- and low-dose interferon alfa-2b in high-risk melanoma: first analysis of intergroup trial E1690/S 9111/C 9190. *J Clin Oncol* 2000; 18:2444-2458.
14. **Kirkwood JM, Ibrahim JG, Sosman JA, et al.** High-Dose Interferon Alfa-2b Significantly Prolongs Relapse-Free and Overall Survival Compared With the GM2-KLH-QS-21 Vaccine in Patients With Resected Stage IIB-III Melanoma: Results of Intergroup Trial E1694/S9512/C509801. *J Clin Oncol* 2001; 19:2370-2380.
15. **Spitler LE, Grossbard ML, Ernstoff MS, et al.** Adjuvant therapy of stage III and IV malignant melanoma using granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *J Clin Oncol* 2000; 18:1614-1621.
16. **Morton DL, Foshag LJ, Hoon DSB, et al.** Prolongation of survival in metastatic melanoma after specific immunotherapy with a new polyvalent melanoma vaccine. *Ann Surg* 1992; 216:463-482
17. **Helling F, Zhang S, Shang A, et al.** GM2-KLH conjugate vaccine: increased immunogenicity in melanoma patients after administration with immunological adjuvant QS-21. *Cancer Res* 1995; 55:2783-2788.
18. **Green RJ, Schuchster LM.** Systemic treatment of metastatic melanoma with chemotherapy. *Hematol Oncol Clin North Am* 1998; 12:863-875.
19. **Avril MF, Bonnetterre J, Cupissol D, et al.** Fotemustine plus dacarbazine for malignant melanoma. *Eur J Cancer* 1997; 11:1807-1811.
20. **Aamdal S, Avril MF, Grob JJ, et al.** A phase III randomized trial of fotemustine (F) versus dacarbazine (DTIC) in patients with disseminated malignant melanoma with or without brain-metastases. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2002; A1361.
21. **Leyvraz S, Bosshard W, Salmon G, et al.** Prolonged survival of patients with liver metastases from ocular melanoma: multicentric experience with fotemustine hepatic arterial infusion. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2002; A1360.
22. **Middleton MR, Grob JJ, Aaronson N, et al.** Randomized phase III study of temozolomide versus dacarbazine in the treatment of patients with advanced metastatic malignant melanoma. *J Clin Oncol* 2000; 18:158-166.
23. **Summers Y, Calvert H, Lee SM, et al.** Effect of temozolomide (TMZ) on central nervous system (CNS) relapse in patients with advanced melanoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 18:53.
24. **Sertoli MR, Queirolo P, Bajetta E, et al.** Multi-institutional phase II randomized trial of integrated chemoimmunohormonal therapy with cisplatin, dacarbazine, vindesine, subcutaneous interleukin-2, interferon a2a and tamoxifen in metastatic melanoma. *Melanoma Res* 1999; 9:503-509.
25. **Del Prete SA, Maurer LH, O'Donnell J, et al.** Combination chemotherapy with cisplatin, BCNU, dacarbazine and tamoxifen in metastatic melanoma. *Cancer Treat Rep* 1984; 68:1403-1405.
26. **Creagan ET, Suman VJ, Dalton RJ, et al.** Phase III clinical trial of the combination of cisplatin, dacarbazine, and carmustine with or without tamoxifen in patients with advanced malignant melanoma. *J Clin Oncol* 1999; 17:1884-1890.
27. **Chapman PB, Einhorn LH, Meyers ML, et al.** Phase III multicenter randomized trial of the Dartmouth regimen versus dacarbazine in patients with metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 1999; 17:2745-2751.
28. **Atkins MB.** The treatment of metastatic melanoma with chemotherapy and biologics. *Curr Opin Oncol* 1997; 9:205-213.
29. **Rosenberg SA, Lotze TL, Yang JC, et al.** Experience with the use of high-dose interleukin-2 in the treatment of 652 cancer patients. *Ann Surg* 1989; 210:474-485.
30. **Janssen RAJ, Mulder NH, The**

- TH, et al.** The immunobiological effects of interleukin-2 in vivo. *Cancer Immunol Immunother* 1994; 39:207-216.
31. **Atzpodien J, Lopez Hanninen E, Kirchner H, et al.** Chemoimmunotherapy of advanced malignant melanoma: Sequential administration of subcutaneous interleukin-2 and interferon-alpha after intravenous dacarbazine and carboplatin or intravenous dacarbazine, cisplatin, carmustine and tamoxifen. *Eur J Cancer* 1995; 31:876-881.
 32. **Whitehead RP, Figlin R, Citron ML, et al.** A phase II trial of recombinant human interleukin-2 and interferon alpha-2a in patients with disseminated malignant melanoma. *J Immunother* 1993; 13:117-121.
 33. **Bajetta E, Del Vecchio M, Mortarini R, et al.** Pilot study of subcutaneous recombinant human interleukin-12 in metastatic melanoma. *Clin. Cancer Res* 1998; 4:75-85.
 34. **Legha SS, Ring S, Eton O, et al.** Development of a biochemotherapy regimen with concurrent administration of cisplatin, vinblastine, dacarbazine, interferon-alfa and interleukin-2 for patients with metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 1998; 16: 1752-1757
 35. **Allen IE, Kupelnick B, Kumashiro M.** Efficacy of interleukin-2 in the treatment of metastatic melanoma. Systemic review and meta-analysis. *Cancer Ther* 1998; 1:168-173.
 36. **Keilholz U, Conrath C, Legha SS, et al.** Results of interleukin-2-based treatment in advanced melanoma: A case record-base analysis of 631 patients. *J Clin Oncol* 1998; 16:2921-2929.
 37. **Rosenberg SA, Yang JC, Schwartzentruber DJ, et al.** Prospective randomized trial of the treatment of patients with metastatic melanoma using chemotherapy with cisplatin, dacarbazine, and tamoxifen alone or in a combination with interleukin-2 and interferon alfa-2b. *J Clin Oncol* 1999; 17:968-975.
 38. **Eton O, Legha S, Bedikian A, et al.** Sequential Biochemotherapy versus Chemotherapy for Metastatic Melanoma: Results from a Phase III Randomized Trial. *J Clin Oncol* 2002; 20:2045-2052.
 39. **West WH, Tauer KW, Yannelli JR, et al** Constant-infusion recombinant interleukin-2 in adoptive immunotherapy of advanced cancer. *N Engl J Med* 1987; 316: 898-903.
 40. **Ridolfi R, Chiarion-Sileni V, Guida M, et al.** Cisplatin, Dacarbazine with or without subcutaneous Interleukin-2 and Interferon Alfa in advanced Melanoma Outpatients: Results from an Italian Multicenter phase III Randomized Clinical Trial. *J Clin Oncol* 2002; 20:1600-1607.
 41. **Geertsens R, Hofbauer G, Kamarashen J, et al.** Immune escape mechanisms in malignant melanoma. *Int J Mol Med* 1999; 3:49-57.
 42. **Banchereau J, Steinman RM.** Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 1998; 392:245-252.
 43. **Steinbrink K, Jonuleit H, Muller G, et al.** Interleukin-10 treated human dendritic cells induce a melanoma-antigen-specific anergy in CD8⁺ T cells resulting in a failure to lyse tumor cells. *Blood* 1999; 93:1634-1642.
 44. **Parmiani G, Belli F, Testori A, et al.** Clinical and Immunological Results of vaccination with Autologous Heat-Shock Protein Peptide Complex-96 (HSPPC-96) in Metastatic Melanoma. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2001; 20:1006A.
 45. **Hart DNJ.** Dendritic cells: unique leukocyte population which control the primary immune response. *Blood* 1997; 90:3245-3287.
 46. **Nestle FO, Aljagid S, Gilliet M, et al.** Vaccination of melanoma patients with peptide or tumor lysate-pulsed dendritic cells. *Nat Med* 1998; 4:328-332.
 47. **Lattime EC, Gerson SL.** Introduction: genes, oncogenes, and gene therapy strategies for cancer. *Semin Oncol* 1996; 23:1-3.