



## **HISTOSEMINAIRE CARREFOUR PATHOLOGIE 2015**

**« TUMEURS MELANOCYTAIRES CUTANÉES »**

**3 NOVEMBRE 2015**

**Coordination :** Arnaud de la Fouchardière

Avec la participation de : Christine Castillo, Béatrice Vergier

## Sommaire

### Introduction

<b>Outils moléculaires</b>	<b>4</b>
<b>Cas N°01 : Nævus composé avec perte d'expression de BAP1</b> Arnaud de la Fouchardière	<b>7</b>
<b>Cas N°02 : Mélanome nævoïde (sur nævus)</b> Christine Castillo	<b>11</b>
<b>Cas N°03 : Mélanome en «nids» ou «thécal-» (<i>nested-melanoma</i>)</b> Béatrice Vergier	<b>15</b>
<b>Cas N°04 : Mélanome inclassable développé sur nævus bleu : «nævus bleu malin»</b> Arnaud de la Fouchardière	<b>19</b>
<b>Cas N°05 : Nævus composite (nævus commun avec contingent de type Deep Penetrating Nevus)</b> Christine Castillo	<b>23</b>
<b>Cas N°06 : Mélanome spitzoïde sur nævus de Spitz préexistant (transformation maligne d'un nævus de Spitz)</b> Béatrice Vergier	<b>27</b>
<b>Cas N°07 : Mélanocytome épithélioïde pigmenté (PEM)</b> Arnaud de la Fouchardière	<b>32</b>

**Introduction**

Ce séminaire a été conçu pour illustrer les développements récents de la pathologie moléculaire dans le diagnostic des tumeurs mélanocytaires cutanées au travers d'exemples variés tant au niveau des diagnostics que des techniques impliquées.

Un bref chapitre présentera les différentes techniques mises en œuvre et leurs indications. Les limites de ces techniques seront également indiquées.

## Outils moléculaires

Ces outils sont variés et ne seront pas tous utilisés simultanément. Il est important avant tout de bien comprendre qu'ils doivent être utilisés dans le cadre d'une stratégie diagnostique réfléchie. La plupart des lésions mélanocytaires cutanées analysées ne feront pas l'objet de techniques complémentaires et le diagnostic sera purement morphologique. C'est seulement sur un petit nombre des cas qu'une étude d'abord immunohistochimique sera réalisée en complément et servira de *screening* pour les cas qui nécessiteront une analyse plus coûteuse.

## Immunohistochimie (IHC)

L'analyse de l'expression de diverses protéines par IHC est un apport rapide dans de nombreux cas. L'intérêt majeur est la visualisation de la localisation des marquages notamment si plusieurs zones différentes sont présentes. Leur interprétation est souvent délicate et nécessite un certain apprentissage. Contrairement à d'autres tumeurs, il y a souvent une différence de marquage entre la zone jonctionnelle et le contingent dermique. On distingue différentes catégories d'anticorps :

- *Anticorps de différenciation mélanocytaire* : ils servent à prouver que la tumeur est bien de nature mélanique. Ce sont : l'anti-protéine S100, l'anti-MelanA (A103/MART1), l'HMB45, le PNL2, l'anti-MiTF, l'anti-SOX10. Ils sont tous plus ou moins sensibles et/ou spécifiques. Une combinaison de plusieurs anticorps est donc recommandée.
- *Anticorps à visée diagnostique bénin vs malin* : anti-p16 (recherche d'une perte d'expression), Ki67, anti-cycline D1, anti-bcl-2, etc...
- *Anticorps d'anomalies moléculaires spécifiques* : anticorps dirigés contre BAP1, ALK, ROS1, NTRK1, RET, MET.
- *Anticorps spécifiques de mutations* : anti-BRAFV600E, anti-NRASQ61R. Ils seront négatifs en cas d'autre mutation du même gène (V600K de *BRAF* par exemple).

## Technique de FISH (Hybridation *in situ* fluorescente)

Il s'agit d'hybrider une sonde fluorescente sur des coupes blanches ce qui permet une visualisation de la topographie des anomalies (qui devront être restreintes aux populations mélanocytaires). Cette technique est rapide et spécifique (mais on ne trouve que ce que l'on cherche).

Une sonde 4 couleurs dans une problématique bénin *versus* malin est disponible : elle cible le bras court (rouge) et le bras long (jaune) ainsi le centromère du chromosome 6 (bleu) à la recherche d'un isochromosome 6p (gain du rouge et perte du jaune en proportion du signal bleu) et cycline D1 (vert) sur le chromosome 11 (à la recherche d'une amplification =

augmentation du nombre de signaux). Sa sensibilité a été augmentée par l'utilisation en complément d'une sonde 9p21 (*CDKN2A*) qui est utilisée quand la p16 est négative pour mettre en évidence une délétion homozygote du gène *P16*.

### **Séquençage**

Il permet d'identifier des mutations (variation d'un nucléotide, insertion ou délétion de nucléotides) sur des gènes impliqués dans l'histogenèse des mélanomes («*melanomagenesis*»). Ces gènes sont dits «*driver*» lorsqu'ils sont présents dès le stade initial de la maladie (y compris dans les nævus) et qu'ils «*pilotent*» la transformation maligne avec l'acquisition d'autres anomalies. Ils sont alors conservés dans toutes les cellules «*filles*» en raison de leur avantage en termes de survie/croissance. Il s'agit principalement des gènes *BRAF*, *NRAS*, *CKIT*, *GNAQ* et *GNA11*. D'autres anomalies dites «*passagères* » sont associées à un stade plus avancé de la transformation.

Les techniques de séquençage sont variées soit par le nombre de gènes analysés (un par un ou jusqu'à plusieurs centaines, voire pan-génomique) soit par leur sensibilité (capacité à détecter une mutation présente dans de rares cellules).

Certaines mutations sont dites «*hotspot*». Ce sont celles qui surviennent toujours sur les mêmes codons et avec un faible nombre de variation (Exemple : *BRAF* avec des mutations V600E ou V600K). Il s'agit souvent d'une mutation activatrice du gène de type tyrosine kinase qui est alors activé en permanence.

D'autres mutations sont dites inactivatrices, car elles rendent la protéine non fonctionnelle. Elles touchent des gènes dits «*suppresseurs de tumeur*». Elles sont rarement «*hotspot*» nécessitant une recherche plus étendue.

Certaines mutations sont germinales, c'est-à-dire présentes dans toutes les cellules de l'organisme car transmises par les gamètes. Elles peuvent donner alors lieu à un syndrome de prédisposition à faire des mélanomes (*CDKN2A*, *CDK4*, *BAP1*).

### **CGH-array (Hybridation génomique comparative)**

Cette technique étudie les variations du nombre de copies (gains, pertes, amplifications et translocations déséquilibrées) sur l'ensemble des 23 paires de chromosomes. Elle donne une vision d'ensemble du nombre d'anomalies (aspect quantitatif) et également des spécificités (gain de certains gènes, perte homozygote, combinaisons d'anomalies non-aléatoire). Elle est réservée aux cas difficiles, pour lesquels la prise en charge thérapeutique sera différente entre tumeur bénigne et maligne. Elle nécessite un volume tumoral minimal et ne peut donc pas être réalisée sur de petites tumeurs très superficielles.

## Schématisation de l'utilisation de la pathologie moléculaire dans les tumeurs mélaniques cutanées

- **Niveau 1** : analyse morphologique avec la connaissance des renseignements cliniques fondamentaux : âge du patient, taille de la lésion, localisation et évolutivité de la lésion (modification récente par exemple).
- **Niveau 2** : screening immunohistochimique : en cas de doute «bénin vs malin» : utilisation d'une batterie standard de 4 anticorps (anti-MelanA, HMB45, anti-p16 et Ki67) avec un chromogène rouge pour des lésions épaisses (>1mm).
- **Niveau 3** : complément immunohistochimique à la recherche d'une anomalie diagnostique guidée par la batterie standard des 4 anticorps et la morphologie (anti-BAP1, anti-ALK, etc.)
- **Niveau 4** : analyse moléculaire approfondie dans la perspective d'une chirurgie délabrante (amputation digitale, etc.), en cas de forme pédiatrique de mélanome ou de forme rare de tumeur mélanique. Combinaison de techniques variable selon la problématique :
  - Technique de FISH : sonde 4 couleurs, sonde *CDKN2A (P16)*, sonde spécifique de fusions (*ALK, ROS1*, etc.).
  - Séquençage de gènes à la recherche de mutations somatiques (*BRAF, NRAS, GNAQ, GNA11, HRAS*, etc.).
  - Analyse en CGH-array.

## Cas N°01 Arnaud de la Fouchardière

### Département de Biopathologie, CLCC Léon Bérard, Lyon

#### Renseignements cliniques

Fillette de 11 ans. Résection d'une lésion cutanée du tronc récemment modifiée (dépigmentation et augmentation de volume, en relief).

#### Diagnostic

Nævus composé avec perte d'expression de BAP1.

#### Description histologique

La lésion est discrètement en relief, bombée. La prolifération mélanocytaire est épidermo-dermique (composée) mais de siège principalement dermique. La composante jonctionnelle, minoritaire, est d'architecture lentigineuse et thécale associée focalement à une discrète hyperplasie épidermique. Il n'y a pas d'ascension intra-épidermique. Les mélanocytes sont de grande taille avec un cytoplasme éosinophile étendu et un noyau ovalaire, nucléolé. Le contingent dermique forme une plage cellulaire centrale avec des amas et des cellules dispersés en périphérie. La cytologie associe des aspects nævocytoïdes (mélanocytes de taille petite à moyenne, peu atypiques, rappelant les populations des nævus communs) et des grands mélanocytes épithélioïdes, achromiques. Un certain degré de pléomorphisme cellulaire et nucléaire est visible, mais il n'y a pas de maturation en profondeur. De rares mitoses dispersées sont visibles. Un infiltrat inflammatoire dense de nature lymphocytaire est présent avec des lymphocytes venant directement au contact des mélanocytes. Un fond œdémateux est visible.

L'étude en immunohistochimie confirme une perte d'expression de BAP1 dans les noyaux des grands mélanocytes épithélioïdes et des petits mélanocytes nævocytoïdes. Des témoins internes positifs sont présents (marquage des noyaux des lymphocytes, des cellules endothéliales et des structures épithéliales).

#### Commentaires

##### *Caractéristiques cliniques*

Les lésions mélaniques cutanées avec perte de BAP1 ont une prédominance féminine et surviennent à tout âge mais avec un pic à l'adolescence. Elles siègent souvent dans les régions photoexposées (visage et cuir chevelu). Le tableau clinique stéréotypé est celui de l'apparition sur un nævus préexistant, pouvant être présent depuis la naissance (congénital), d'un petit nodule dépigmenté, en relief, mesurant environ 5 mm en moyenne. Des modifications inflammatoires associées à type d'érythème ou de prurit ont été décrites.

### ***Aspects histopathologiques***

Les modifications morphologiques sont surtout intradermiques avec des plages et ou des amas denses de grands mélanocytes achromiques sans maturation en profondeur, avec parfois quelques mitoses. Un infiltrat lymphocytaire est souvent surajouté avec des images de contact étroit entre les lymphocytes et les mélanocytes («*kissing-figures*»). On note souvent une population mélanocytaire de taille intermédiaire «*nævoïde*» associée, mais certains cas sont purement épithélioïdes. Un aspect composite avec un *nævus* commun composé latéral est très fréquent.

L'étude immunohistochimique montre une absence de marquage nucléaire avec l'anticorps dirigé contre BAP1 des mélanocytes épithélioïdes et ou *nævoïdes*. Ce marquage est en revanche ubiquitaire dans le reste du prélèvement (épiderme, vaisseaux, annexes, *nævus* commun adjacent). Dans les cellules BAP1-négatives un marquage cytoplasmique faible ou en granule («*dot*») golgien est parfois visible

Une mutation V600E de *BRAF* est associée de manière quasi constante. Dans les lésions composites, cette mutation est présente dans la totalité de la lésion (*nævus* commun et zone BAP1 négative).

Une technique de *CGH-array* montrera fréquemment une perte située dans la zone 3p21 correspondant à la localisation de *BAP1* (inactivation bi-allélique selon le modèle de Knudson des gènes suppresseurs de tumeur) ou une perte de tout le chromosome 3 (monosomie 3).

### ***Diagnostic différentiel***

La cytologie épithélioïde est classique dans les lésions spitzoïdes qui représentent le principal diagnostic différentiel d'autant que ces dernières surviennent aussi dans le même groupe d'âge. Dans les lésions spitzoïdes, il y a fréquemment une population jonctionnelle thécale spitzoïde associée ainsi qu'une hyperplasie de l'épiderme avec des corps de Kamino. Les formes composites de *nævus* de Spitz sont exceptionnelles. En cas de doute, l'immunohistochimie pour BAP1 permet de trancher car cette anomalie n'est jamais retrouvée dans les lésions spitzoïdes.

Des tumeurs mélaniques composites avec population dermique épithélioïde sans perte d'expression de BAP1 sont possibles. Cette entité est en cours de description (tumeur *BAP-like*). Elles entrent aussi dans le groupe des tumeurs mélanocytaires ambiguës (équivalent de «*MELTUMP : melanocytic tumors of uncertain malignant potential*»).

### ***Anomalies génétiques et caractéristiques moléculaires***

La découverte d'une lésion de ce type doit déclencher une enquête clinique pour savoir si on se situe dans un contexte de perte somatique de BAP1 limitée à la seule lésion cutanée ou

dans le cadre du syndrome BAP1. Les formes somatiques sont les plus fréquentes mais il n'y a pas de statistique officielle. Le syndrome BAP1 correspond à un syndrome de prédisposition au cancer et doit être identifié dans le cadre règlementé d'une consultation d'oncogénétique. Ce syndrome est lié à la mutation germinale de *BAP1* et prédispose à la survenue à un âge précoce de divers cancers dans une même famille. Les cancers les plus fréquemment décrits sont des mélanomes (cutanés, oculaires ou méningés), des mésothéliomes, des cancers du rein à cellules claires. Cependant, un nombre croissant de cancers semble aussi faire partie du phénotype syndromique. La découverte du syndrome se fait le plus souvent à partir de la découverte d'un nævus atypique en raison soit de la présence de plusieurs d'entre eux (simultanés ou successifs) soit de l'association nævus atypique / antécédents familiaux. La mise en évidence d'une mutation germinale (test effectué sur les leucocytes) impose un suivi clinique à vie des patients (qui sont parfois des enfants) dans l'optique d'un dépistage précoce des cancers associés (en particulier le mélanome oculaire).

Il existe des mutations sporadiques dans l'ensemble des tumeurs du spectre tumoral. Elles ne prédisposent pas à d'autres tumeurs, mais constituent souvent un facteur de mauvais pronostic (mélanome uvéal, cancer du rein). Une étude a montré que 10% des mélanomes avaient une mutation somatique de *BAP1*.

### ***Evolution et pronostic***

Le pronostic de ces lésions reste mal connu. Il est possible qu'il soit différent dans les formes germinales et somatiques. Des transformations malignes sont possibles avec les critères habituels de mélanome : plages denses de grands mélanocytes atypiques et mitoses.

### ***Conduite à tenir en cas de découverte d'une lésion mélanocytaire avec perte d'expression immunochimique de BAP1***

Cette lésion est à considérer comme de pronostic incertain (MELTUMP) et une reprise d'exérèse locale ainsi qu'une surveillance clinique sont recommandées.

La conduite à tenir sera au mieux décidée dans le cadre d'une RCP spécialisée. Les formes avec des critères de malignité doivent être prises en charge comme un mélanome classique avec les mêmes paramètres histopronostiques.

Il est ensuite recommandé de vérifier l'ensemble des antécédents personnels et familiaux du patient. En cas d'antécédents personnels de lésion mélanocytaire inhabituelle, une étude immunohistochimique de l'expression de BAP1 dans cette dernière est conseillée. La détection de deux lésions cutanées est un argument majeur pour une forme syndromique. Le clinicien doit être informé de l'anomalie dans le compte rendu. Si l'on soupçonne une forme germinale, il faut orienter le patient vers une consultation d'oncogénétique. L'oncogénéticien

décidera en accord avec le patient de la réalisation du test sanguin permettant de confirmer et d'identifier la mutation (grande variété des sites de mutation). La réalisation d'un fond d'œil est aussi conseillée à la recherche d'un mélanome choroïdien. Cet examen peu invasif pourrait détecter une lésion précoce et curable (le processus clinique et biologique de recherche et d'identification des formes germinales est long : c'est-à-dire, au moins 6 à 9 mois).

### **Points importants à retenir**

- Le diagnostic de nævus BAP1 négatif peut déboucher sur identification précoce d'un syndrome oncogénétique de prédisposition aux cancers, en particulier mélaniques.
- Les formes somatiques isolées sont cependant les plus fréquentes.
- L'aspect *morphologique* le plus fréquent est celui de plages dermiques de grands mélanocytes épithélioïdes non pigmentés associées à un nævus banal adjacent.
- L'immunohistochimie est une excellente technique pour mettre en évidence une perte de fonction de BAP1.

### **REFERENCES**

- Wiesner T, Obenaus AC, Murali R, Fried I, Griewank KG, Ulz P, Windpassinger C, Wackernagel W, Loy S, Wolf I, Viale A, Lash AE, Pirun M, Socci ND, Rütten A, Palmedo G, Abramson D, Offit K, Ott A, Becker JC, Cerroni L, Kutzner H, Bastian BC, Speicher MR. Germline mutations in BAP1 predispose to melanocytic tumors. *Nat Genet* 2011;43:1018-21.
- Murali R, Wiesner T, Scolyer RA. Tumours associated with BAP1 mutations. *Pathology* 2013;45:116-26.
- Busam KJ, Sung J, Wiesner T, von Deimling A, Jungbluth A. Combined BRAF(V600E)-positive melanocytic lesions with large epithelioid cells lacking BAP1 expression and conventional nevomelanocytes. *Am J Surg Pathol* 2013;3:193-9.

## Cas N°02 Christine Castillo

### Département de Biopathologie, CLCC Léon Bérard, Lyon

#### Renseignements cliniques

Jeune fille de 16 ans. Lésion cutanée dorsale, récemment modifiée.

#### Diagnostic

Mélanome nævoïde (sur nævus).

#### Description histologique

La prolifération mélanocytaire est épidermo-dermique à prédominance dermique, de grande taille et discrètement asymétrique. Le contingent jonctionnel présente des atypies architecturales et cytologiques nettes avec des migrations pagétoïdes transépidermiques latérales, une irrégularité de répartition et des cellules volumineuses et atypiques. Le contingent dermique est densément cellulaire avec un comblement de la *grenz zone*. Les cellules sont analogues à celles observées au sein de la jonction, atypiques, sans nette maturation cytologique ou pigmentaire. Les noyaux sont volumineux, irréguliers, avec des nucléoles bien visibles. On compte une mitose dermique par mm<sup>2</sup>. Focalement, en profondeur, on observe un second contingent mélanocytaire différent du premier. Il est formé de plages et de travées de petites cellules d'allure nævocytaire, dépourvues d'atypies cyto-nucléaires.

L'étude immunohistochimique met en évidence un marquage d'intensité discrètement hétérogène avec l'anti-Melan A, hétérogène avec l'HMB45, une absence de marquage clonal du contingent atypique et un marquage en mosaïque du contingent d'allure nævique avec l'anti-p16, un index de prolifération Ki67 en gradient, atteignant en surface 10 à 20% de manière très focale.

#### Commentaires

Par définition, un mélanome nævoïde est un mélanome ressemblant très fortement à un nævus de type commun. Le plus souvent, les auteurs excluent de cette définition les mélanomes simulant des nævus de Spitz (mélanomes spitzoïdes) ou d'autres types de nævus : nævus bleu malin *de novo* simulant un nævus bleu (à l'opposé de ceux développés sur nævus bleu cellulaire préexistant), mélanomes plexiformes simulant un DPN (*Deep Penetrating Nevus*), .. Certains mélanomes nævoïdes ont été rapportés sous le nom de «mélanome à déviation minimale» (sous-entendant un meilleur pronostic que les mélanomes conventionnels). Ce terme est à bannir. On lui préférera celui de mélanome nævoïde ou de mélanome simulant un nævus.

#### Caractéristiques cliniques

Cliniquement, les mélanomes nævoïdes se voient à tout âge avec un âge moyen de 45 ans, dans les 2 sexes. Comme tous les mélanomes, ils siègent préférentiellement sur le dos des

hommes et les jambes des femmes, mais peuvent également se voir en toute topographie. Ils peuvent revêtir des aspects cliniques très différents. Ils se présentent tantôt sous forme de papules ou de nodules, tantôt sous forme de lésions verruqueuses. Certains sont noirs ou bruns, d'autres sont rosés ou achromiques.

Le diagnostic clinique n'est pratiquement jamais fait.

### ***Aspects macroscopiques et histopathologiques***

On distingue 2 types principaux de mélanomes nœvoïdes : le type verruqueux (lésion verruqueuse épidermo-dermique de grande taille) et le type nodulaire (souvent dermique). Les 2 présentent un contingent dermique d'aspect nœvoïde, densément cellulaire, avec au faible grandissement une pseudomaturation architecturale. A plus fort grandissement, la densité est tellement importante qu'il existe habituellement des images de chevauchement cellulaire. Les cellules présentent un pléomorphisme nucléaire discret avec des atypies cyto-nucléaires (rapport nucléo-cytoplasmique augmenté, contours nucléaires irréguliers, hyperchromatisme ou nucléoles bien visibles, parfois nucléoles en flaque). Il n'y a pas de véritable maturation cytologique (attention à une impression de maturation profonde à la jonction entre le derme papillaire et le derme réticulaire, secondaire à un effet «pression»). Des *hiatus* cellulaires (présence d'un mélanocyte d'aspect différent au sein d'une population) sont parfois visibles. Des mitoses sont souvent observées, parfois en profondeur. Le contingent jonctionnel, parfois absent, est souvent peu abondant et peu atypique. Quelques mélanomes nœvoïdes présentent des contingents jonctionnels très atypiques avec un aspect de mélanome *in situ*.

L'étude immunohistochimique peut parfois aider au diagnostic en montrant une hétérogénéité de marquage avec les anticorps anti-Melan A et/ou HMB45, une absence complète ou clonale d'expression de la p16, un index de prolifération Ki67 élevé au sein du contingent dermique. Beaucoup d'autres marqueurs ont été étudiés (cyclines A, B, D1/D3, métallothionéines, WT-1, récepteur à la leptine, etc...) sans consensus quant à leur utilisation. Dans notre expérience, une batterie d'anticorps incluant l'anti-Melan A, l'HMB45, l'anti-p16 et le Ki67 est suffisante et doit toujours être corrélée aux éléments morphologiques et aux données cliniques.

L'étude par FISH (si elle est positive) peut également permettre le diagnostic.

### ***Diagnostic différentiel***

Par définition, le principal diagnostic différentiel est le nœvus (commun acquis ou congénital). Les mélanomes nœvoïdes peuvent également être confondus avec des mélanomes développés sur nœvus préexistant, des métastases de mélanomes ou des lésions non mélaniques.

- **Nævus** : Les mélanomes nævoïdes sont le plus souvent pris pour des nævus congénitaux. L'inverse est également vrai, un nævus congénital peut être pris pour un mélanome nævoïde en raison de sa grande taille, d'une composante jonctionnelle souvent discrètement atypique, d'une *grenz zone* parfois comblée, d'une densité cellulaire dermique importante et d'un discret pléomorphisme cellulaire. La présence de quelques rares mitoses dermiques au sein d'un nævus congénital n'est pas inquiétante. Il faut alors rechercher les éléments cliniques, bien étudier la lésion, s'aider d'une étude immunohistochimique (expression homogène du MelanA, en gradient de l'HMB45, en mosaïque de p16). Le diagnostic de mélanome nævoïde repose sur un faisceau d'arguments. D'autres nævus peuvent également être pris pour des mélanomes nævoïdes en raison de leur absence de maturation : les nævus composites (voir cas n°05) et clonaux. Cependant, ils ne présentent pas d'atypies cyto-nucléaires, de mitose dermique et au besoin l'étude immunohistochimique peut se révéler utile (marquage par l'HMB45 d'un contingent de type bleu ou DPN au sein d'un nævus composite par exemple).
- **Mélanomes développés sur nævus préexistant** : La présence d'un mélanome intra-épidermique ne signifie pas obligatoirement que toute la lésion est maligne. Le contingent dermique, s'il ressemble à un nævus, est le plus souvent bénin. Si les cellules mélanocytaires jonctionnelles et dermiques sont d'aspect très différents, le diagnostic de mélanome nævoïde est encore moins probable. Là aussi, la recherche de mitoses dermiques et l'étude immunohistochimique peuvent se révéler utiles.
- **Métastases de mélanomes** : Si le contingent jonctionnel est minime ou absent, l'hypothèse d'une métastase nævoïde de mélanome doit être envisagée. C'est le contexte clinique (antécédent de mélanome, lésions multiples, nodules satellites) qui permettront de rectifier le diagnostic.
- **Lésions non mélaniques** : D'autres diagnostics différentiels cliniques (kératose séborrhéique, ...) ou histologiques (carcinomes, sarcomes, lymphomes) peuvent être discutés mais sont aisément distingués d'un mélanome nævoïde.

#### ***Anomalies génétiques et caractéristiques moléculaires***

Aucune étude recherchant les mutations génétiques (par PCR) n'a été réalisée spécifiquement sur les mélanomes nævoïdes. De même, il n'y a pas de données dans la littérature concernant les résultats de la CGH dans ces mélanomes.

En revanche, plusieurs études ont été réalisées sur l'intérêt de la FISH dans les mélanomes nævoïdes. Dans une étude très récente, l'équipe de Gerami a mis en évidence une FISH positive dans 74% des cas (fréquents gains de 8p24).

### ***Evolution et pronostic***

Le pronostic est mal connu. Certaines études anciennes ont rapportés des taux de récurrence de 50%, de métastases de 24% et une mortalité de 24%. Il est possible que ces études aient été biaisées : comme le diagnostic de mélanome nœvoïde est difficile et souvent fait *a posteriori* devant une évolution péjorative, la fréquence réelle des mélanomes nœvoïdes reste un mystère.

Malgré son aspect histologique rassurant, le mélanome nœvoïde doit être pris en charge comme un mélanome conventionnel (reposant sur les critères histopronostiques habituels).

### **Points importants à retenir**

- Les mélanomes nœvoïdes ressemblent aux nævus communs.
- S'il existe un contingent mélanocytaire atypique de type *in situ*, il faut rechercher un éventuel mélanome nœvoïde dermique.
- La densité cellulaire dermique est généralement importante.
- La *grenz zone* est souvent comblée.
- Même si les cellules dermiques sont nœvoïdes, elles présentent un certain degré de pléomorphisme (N/P augmenté, nucléoles en flaque) sans véritable maturation cytologique.
- Les mitoses dermiques doivent être recherchées, les mitoses profondes sont particulièrement inquiétantes.
- L'étude immunohistochimique peut parfois apporter une aide.

### **REFERENCES**

- Diwan AH, Lazar AJ. Nevoid Melanoma. *Clin Lab Med* 2011;31:243-53.
- Yélamos O, Busam KJ, Lee C, Sholl LM, Amin SM, Merkel EA, Obregon R, Guitart J, Gerami P. Morphologic clues and utility of fluorescence in situ hybridization for the diagnosis of nevoid melanoma. *J Cutan Pathol* 2015 (*in press*).

## Cas N°03 Béatrice Vergier

### Service de Pathologie, Hôpital du Haut Lévêque, Bordeaux

#### Renseignements cliniques

Homme de 74 ans. Lésion cutanée pigmentée de l'épaule, cliniquement atypique mais d'ancienneté et d'évolutivité inconnues.

#### Diagnostic

Mélanome en «nids» ou «thécal-» (*nested-melanoma*), de niveau 3, de 0,6 mm d'épaisseur (Breslow). Absence d'ulcération ou de signes de régression.

#### Description histologique

La lésion examinée est d'assez grande taille (7 mm de diamètre sur coupe). Elle correspond à une prolifération mélanocytaire composée. La composante intra-épidermique déborde largement de part et d'autre de la composante dermique. L'architecture de la composante jonctionnelle est thécale prédominante plus discrètement lentigineuse (entre les thèques et latéralement). Il n'existe pas d'images d'ascension monocellulaire transépidermique. Les thèques correspondent à des nids confluents de grands mélanocytes fusiformes denses plus ou moins pigmentés. Les atypies cytologiques sont discrètes : les mélanocytes sont nucléolés mais dépourvus de mitose. La composante dermique centrale occupe l'ensemble du derme papillaire avec une limite inférieure relativement nette. Elle est faite d'amas de mélanocytes cohésifs de cytologie nævocytoïde, plus ou moins pigmentés avec un nucléole bien visible mais sans mitose.

L'étude immunohistochimique montre un marquage en gradient de l'HMB45 et un faible taux de prolifération avec le Ki67 (l'anti-p16 n'a pas été réalisée).

#### Commentaires

En matière de tumeur mélanique chez les sujets «âgés» (plus de 50 ans), le tronc (en particulier le dos mais aussi l'épaule) et moins souvent les membres sont siège de tumeurs mélaniques fréquentes, cliniquement atypiques et histologiquement trompeuses car elles simulent un nævus comme dans le cas présenté ici.

Ce type de mélanome simulant ici un nævus jonctionnel «thécal» (ou un nævus de Reed) a été décrit récemment (2012) par Kutzner *et al.* ainsi que par Pennacchia *et al.* sous le terme de «mélanome en nids du sujet âgé» comme une variante de SSM. La preuve de la malignité de ces lésions a été apportée par ces auteurs grâce à la FISH montrant la présence d'anomalies cytogénétiques dans ces nids. Cette entité a été décrite pour des lésions situées sur le tronc, les membres mais aussi (dans la description initiale) pour des lésions de la tête et du cou. Nous pensons que dans cette localisation, il s'agit le plus souvent de mélanomes de Dubreuilh qui

ont une architecture thécale quand ils commencent à devenir invasifs («*Lentigo Maligna Melanoma : LMM*»). La présence de dommages actiniques sévères et l'architecture lentigineuse se prolongeant dans les follicules pileux sont la clé du diagnostic.

### ***Caractéristiques cliniques***

Ces mélanomes «en nids» / thécaux sont enlevés car ils sont cliniquement suspects (de grande taille et de couleur hétérogène) dans un contexte de sujet âgé. La question posée par le clinicien est celle d'un mélanome mais le pathologiste a du mal à affirmer un tel diagnostic et pense en premier à un nævus.

### ***Aspects histopathologiques***

Dans ce contexte clinique (âge et tronc), les formes classiques de mélanome (par exemple de type SSM) sont plus rares et il ne faut pas attendre une architecture pagétoïde pour porter le diagnostic de mélanome. Par contre, on rencontre très fréquemment ces mélanomes à prédominance intra-épidermique ou invasif (mais peu épais) dont le diagnostic est difficile car leur architecture jonctionnelle mime celle d'un nævus. Il existe 2 types d'architecture intra-épidermique parfois retrouvées dans la même lésion car il s'agit d'un spectre lésionnel : celui des mélanomes «indolents» du tronc (et des membres) du sujet âgé.

L'architecture jonctionnelle est :

- soit thécale prédominante : il s'agit du mélanome dit «en nids» ou thécal (ou «*nested-melanoma*») comme dans notre cas,
- soit lentigineuse prédominante : ce mélanome est appelé «mélanome lentigineux du sujet âgé».

Dans les 2 cas, les atypies cytologiques sont souvent discrètes : noyau hyperchromatique avec un nucléole proéminent, cytoplasme à peine visible ou de grande taille, membrane nucléaire épaisse et chromatine mottée. Parfois, ces atypies sont plus nettes. La présence de mitoses dermiques peut être une clé diagnostique appréciable. L'utilisation d'un marqueur de prolifération Ki67 peut être très utile car, dans ce contexte, un taux de prolifération (dermique) élevé peut aider à franchir le pas du mélanome. De même, la négativité de la p16 peut aider au diagnostic de malignité mais est exceptionnelle.

Dans le mélanome lentigineux du sujet âgé, les clés diagnostiques sont souvent plus évidentes : présence d'une architecture lentigineuse profuse qui aboutit parfois à des décollements épidermo-dermiques avec un aspect pseudo-cicatriciel du derme en regard. Le derme est par ailleurs souvent inflammatoire, riche en lymphocytes (ce qui n'est pas le cas du mélanome en nids). Contrairement au «nævus hyperpigmenté» du tronc, l'épiderme est aminci (absence d'hyperplasie psoriasiforme).

### ***Diagnostic différentiel***

Dans les 2 formes, le principal diagnostic différentiel est le nævus jonctionnel thécal (pour le mélanome en nids) ou le nævus lentigineux (voire hyperpigmenté) pour le mélanome lentigineux du sujet âgé.

Les éléments qui permettent de porter ce diagnostic de mélanome sont :

- Essentiellement le contexte clinique : patient > 50 ans, lésion de grande taille (> 7 mm), cliniquement atypique (lésion asymétrique).
- La localisation sur le dos (à moindre degré les membres).
- La présence d'aspects histopathologiques variés sur toute la lésion (spectre) : aspect de nævus hyperpigmenté du tronc par endroits, de mélanome en nids sur d'autres niveaux ou de mélanome lentigineux.
- La densité cellulaire de la composante dermique si elle existe.
- La présence de mitoses dermiques.
- La présence d'un infiltrat lymphocytaire dermique sans stigmates d'irritation ou d'un aspect pseudo-cicatriciel du derme.
- Les stigmates de régression (rares mais utiles s'ils existent).

### ***Anomalies génétiques et caractéristiques moléculaires***

La présence d'anomalies cytogénétiques mises en évidence par la FISH 4 couleurs a apporté la preuve de la malignité de cette entité, mais nous ne recommandons pas de recourir à cette technique (coûteuse) pour ces lésions souvent peu épaisses, indolentes, survenant chez des sujets âgés qui sont «guéris» si l'exérèse est complète.

### ***Evolution et pronostic***

Ces mélanomes en nids (ou lentigineux) sont des mélanomes indolents à évolution lente qui doivent faire l'objet d'un traitement classique de mélanome avec reprise d'exérèse adaptée à leur épaisseur (souvent faible).

### **Points importants à retenir**

- Se méfier des grandes lésions mélaniques cliniquement atypiques du dos (mais aussi des membres) chez le sujet de plus de 50 ans !
- Ne pas évoquer un mélanome *in situ* devant un nævus hyperpigmenté du dos (épiderme psoriasiforme avec crêtes épidermiques allongées).
- Mais *a contrario*, ne pas méconnaître ces formes atypiques de mélanome du dos chez un sujet de plus de 50 ans : forme en thèques (mélanome thécal ou «en nids») ou forme lentigineuse (mélanome lentigineux).

- Peu d'utilité pour cette entité des techniques moléculaires (FISH, CGH, ...)
- Ces mélanomes correspondent à un spectre lésionnel et sont à considérer comme des variantes de SSM du sujet âgé, d'évolution lente, à prendre en charge comme des SSM de même épaisseur (Breslow).

## REFERENCES

- Kossard S. Atypical lentiginous junctional naevi of the elderly and melanoma. *Australas J Dermatol* 2002;43:93-101.
- King R, Page RN, Googe PB, Mihm MC Jr. Lentiginous melanoma: a histologic pattern of melanoma to be distinguished from lentiginous nevus. *Mod Pathol* 2005;18:1397-401.
- King R. Lentiginous melanoma. *Arch Pathol Lab Med* 2011;135:337-41.
- Kutzner H, Metzger G, Argenyi Z, Requena L, Palmedo G, Mentzel T, Rütten A, Hantschke M, Paredes BE, Schärer L, Hesse B, El-Shabrawi-Caelen L, Fried I, Kerl H, Lorenzo C, Murali R, Wiesner T. Histological and genetic evidence for a variant of superficial spreading melanoma composed predominantly of large nests. *Mod Pathol* 2012;25:838-45.
- Pennacchia I, Garcovich S, Gasbarra R, Leone A, Arena V, Massi G. Morphological and molecular characteristics of nested melanoma of the elderly (evolved lentiginous melanoma). *Virchows Arch* 2012;461:433-9.
- Longo C, Zalaudek I, Piana S, Pellacani G, Lallas A, Reggiani C, Argenziano G. Dermoscopy and confocal microscopy of the elderly recognizing a newly defined entity. *JAMA Dermatol* 2013;149:941-5.

## Cas N°04 Arnaud de la Fouchardière

### Département de Biopathologie, CLCC Léon Bérard, Lyon

#### Renseignements cliniques

Homme, 22 ans. Lésion cutanée pigmentée du cuir chevelu (pariétale), récemment modifiée.

#### Diagnostic

Mélanome inclassable développé sur nævus bleu : «nævus bleu malin».

#### Description histologique

La prolifération mélanocytaire, principalement dermique, est formée d'amas denses s'étendant sur toute la hauteur du derme réticulaire sans net comblement de la *grenz zone*, avec expansion profonde en battant de cloche. Il n'y a pas de réel contingent jonctionnel. La cytologie est principalement épithélioïde, parfois nævocytoïde, avec grands mélanocytes aux noyaux ovalaires, nucléolés et au cytoplasme faiblement pigmenté. Une expansion latérale mal délimitée est visible de chaque côté. L'activité mitotique est augmentée, atteignant 5 mitoses/mm<sup>2</sup> dans les zones les plus actives. Il n'y a pas de plage de nécrose ou de phénomènes inflammatoires associés. On observe très focalement un deuxième contingent moins atypique, évocateur d'une composante dermique de type nævus bleu commun (aspect biphasique habituel d'un nævus bleu cellulaire).

#### Commentaires

##### *Caractéristiques cliniques*

Les mélanomes sur nævus bleu surviennent principalement à l'âge adulte (après la cinquantaine) mais peuvent se voir chez l'adulte jeune. Ces transformations malignes se développent sur des lésions anciennes, parfois congénitales avec une prédilection pour le cuir chevelu. D'autres localisations classiques des nævus bleus en particulier cellulaires peuvent être concernées avec une fréquence moindre (région sacrée, dos des mains ou des pieds). Leur croissance est souvent rapide et brutale avec possible ulcération. Les tumeurs sont le plus souvent pigmentées.

##### *Aspects macroscopiques et histopathologiques*

Il s'agit de lésions souvent de grande taille (dépassant 1 cm de diamètre). Au plan histologique, les critères habituels de malignité des mélanomes sont souvent évidents. Comme les autres tumeurs mélanocytaires du groupe «bleu», elles sont purement dermiques ou dermo-hypodermiques. Elles forment le plus souvent une vaste plage cellulaire confluyente, extrêmement dense, destructrice vis-à-vis des structures annexielles dermiques, en particulier les follicules pileux. Il n'est pas rare d'observer différents clones plus ou moins pigmentés adjacents. Des foyers de nécrose tumorale sont possibles. A fort grandissement, les

mélanocytes sont souvent de grande taille, aux noyaux pléomorphes et hyperchromatiques. Un volumineux nucléole est fréquemment visible. Les mitoses sont aisément visualisées et nombreuses rendant le diagnostic de malignité évident. On observe parfois latéralement une zone cellulaire moins atypique, rappelant les nævus bleus cellulaires atypiques ou encore un foyer de nævus bleu commun ou cellulaire. Les formes sans reliquat identifiable de nævus bleu cellulaire sont dénommées «mélanomes simulant un nævus bleu atypique» ou nævus bleus malins «*de novo*». On considère que dans un certain nombre de ces cas le nævus a été détruit par le processus tumoral dont il est issu. Les critères biologiques, en particulier génétiques sont importants pour le diagnostic.

### ***Diagnostic différentiel***

Le diagnostic de «nævus bleu malin» devra être prudent dans ces formes dermiques pures, notamment en l'absence de reliquat de contingent bénin de type bleu. La présence d'une cicatrice dermique sera importante à reconnaître pour ne pas se tromper avec une récurrence dermique de mélanome classique. Il faudra aussi savoir identifier les remaniements pseudocicatriciels sous-épidermiques d'un mélanome primitif partiellement régressif. Les renseignements cliniques sont capitaux (comme toujours), notamment dans l'hypothèse d'une métastase dermique de mélanome. D'autres entités plus rares sont également à envisager : mélanome primitif dermique, mélanome plexiforme (ils sont généralement porteurs de mutations différentes). La présence du contingent bénin sera dans ces cas un élément clé du diagnostic du lien avec les nævus bleus.

### ***Anomalies génétiques et caractéristiques moléculaires***

Dans le groupe des lésions mélanocytaires «bleues», la biologie est identique dans leurs trois localisations principales : l'uvéa, les méninges et la peau. On observe des mutations des protéines G (gènes *GNAQ* et *GNAI1*). Ces mutations sont mutuellement exclusives et sont de type «*hotspot*», situées sur l'exon 5 (la plus fréquente) ou l'exon 4. Ces mutations sont en lien avec l'embryogenèse et sont à l'origine d'une migration en trop grand nombre de mélanoblastes de la crête neurale aboutissant à un dépôt anormal dans le derme de ces derniers, parfois visible à la naissance. Ces mutations sont donc présentes dès le stade de nævus bleu. Les anomalies génétiques des formes transformées (malignes) ont été bien étudiées dans les mélanomes de la choroïde. L'analyse par CGH permet de classer les lésions en formes bon pronostic (groupe I) sans monosomie 3 ou en formes de mauvais pronostic avec une monosomie 3. Le gène en lien sur le chromosome 3 est *BAP1*. Il s'agit d'un évènement tardif dans la transformation maligne. Il peut être évalué par immunohistochimie avec une perte de l'expression nucléaire de BAP1 en cas d'anomalie génétique. La perte est

cantonnée aux amas malins avec un marquage positif dans le nævus adjacent quand celui-ci est présent. Une étude récente a montré dans les formes cutanées, une similitude des profils génétiques en CGH-*array* (et de l'évolution) avec ceux décrits dans la choroïde.

### ***Evolution et pronostic***

Il s'agit d'une forme grave de mélanome. La perte de l'expression de BAP1 pourrait représenter un argument supplémentaire de mauvais pronostic avec un risque d'évolution métastatique ganglionnaire et viscérale accru.

### **Points importants à retenir**

- Le diagnostic de malignité est aisé mais la classification de la lésion est difficile.
- La présence d'un contingent bénin ou atypique latéral de type bleu cellulaire ou commun est une clé majeure du diagnostic.
- Une analyse moléculaire (mutation des protéines G / profil particulier en CGH-*array*) peut aider à classer ces lésions et l'immunohistochimie BAP1 pourrait constituer un élément de pronostic péjoratif sur un modèle identique à celui des mélanomes choroïdiens (uvéaux).

### **REFERENCES**

- Costa S, Byrne M, *et al.* Melanomas associated with blue nevi or mimicking cellular blue nevi: clinical, pathological and molecular study of 11 cases displaying a high frequency of GNA11 mutations, BAP1 expression-loss and a predilection for the scalp. *Am J Surg Pathol (in press)*.
- Granter SR, McKee PH, Calonje E, Mihm MC Jr, Busam K. Melanoma associated with blue nevus and melanoma mimicking cellular blue nevus: a clinicopathologic study of 10 cases on the spectrum of so-called "malignant blue nevus." *Am J Surg Pathol* 2001;25:316-23.
- Birch-Johansen FH, Sjøstrand H, Lock-Andersen J. Malignant melanoma in association with or mimicking blue naevus. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 2010;44:118-20.
- Van Raamsdonk CD, Griewank KG, Crosby MB, Garrido MC, Vemula S, Wiesner T, Obenaus AC, Wackernagel W, Green G, Bouvier N, Sozen MM, Baimukanova G, Roy R, Heguy A, Dolgalev I, Khanin R, Busam K, Speicher MR, O'Brien J, Bastian BC. Mutations in GNA11 in Uveal Melanoma. *N Engl J Med* 2010;363:2191-9.
- Harbour JW. The genetics of uveal melanoma: an emerging framework for targeted therapy. *Pigment Cell Melanoma Res* 2012;25:171-81.

- Loghavi S, Curry JL, Torres-Cabala CA, Ivan D, Patel KP, Mehrotra M, Bassett R, Prieto VG, Tetzlaff MT. Melanoma arising in association with blue nevus: a clinical and pathologic study of 24 cases and comprehensive review of the literature. *Mod Pathol* 2014;27:1468-78.
- Maize JC, McCalmont TH, Carlson JA, Busam KJ, Kutzner H, Bastian BC. Genomic analysis of blue nevi and related dermal melanocytic proliferations. *Am J Surg Pathol* 2005;29:1214-20.
- Harbour JW, Onken MD, Roberson ED, Duan S, Cao L, Worley LA, Council ML, Matatall KA, Helms C, Bowcock AM. Frequent mutation of BAP1 in metastasizing uveal melanomas. *Science* 2010;330:1410-3.

## Cas N°05 Christine Castillo

### Département de Biopathologie, CLCC Léon Bérard, Lyon

#### Renseignements cliniques

Femme de 53 ans. Lésion cutanée bicolore du dos, de modification récente, suspecte de malignité.

#### Diagnostic

Nævus composite (nævus commun avec contingent de type Deep Penetrating Nevus).

#### Description histologique

La prolifération épidermo-dermique à prédominance dermique est asymétrique avec une silhouette lésionnelle montrant une extension plexiforme et péri-annexielle en profondeur. A plus fort grossissement, on observe 2 populations mélanocytaires différentes. La première population, majoritaire et située en périphérie, évoque un nævus congénital avec une extension péri-annexielle, une bonne maturation architecturale et cytologique et une jonction d'architecture lentigineuse et un peu active. Des files indiennes de petits nævocytes communs sont visibles en profondeur, s'insinuant entre les fibres collagènes du derme réticulaire. Les cellules ne présentent pas d'atypie cyto-nucléaire ni de mitose. La seconde population, minoritaire et de siège paracentral, évoque un DPN. Elle est épidermo-dermique avec une architecture plexiforme. Les cellules sont volumineuses, d'allure ballonnisée avec un cytoplasme abondant chargé d'un pigment mélanique poussiéreux, sans maturation cytologique visible. Leurs noyaux sont ovalaires, souvent discrètement nucléolés. Il n'y a pas de mitose. De nombreux mélanophages sont mêlés à ces cellules. Le stroma ne comporte pas d'inflammation lymphocytaire.

L'étude immunohistochimique montre une expression un peu plus intense du MelanA par le contingent de type DPN. L'HMB45 met en évidence la double population tumorale avec un gradient de marquage dans le contingent nævocyttaire de type commun et un marquage diffus dans le contingent de type DPN. L'index de prolifération Ki67 est faible. Avec l'anticorps anti-BRAF, on observe un marquage diffus des cellules tumorales dans les 2 populations.

#### Commentaires

Le nævus composite est une lésion mélanique bénigne définie par la coexistence de plusieurs populations mélanocytaires au sein d'un nævus (en général 2, rarement 3). Lorsque la cytologie et/ou l'architecture de la population mélanocytaire du contingent surajouté n'est évocatrice d'aucun type de nævus connu, on parle de nævus «clonal».

Il s'agit en général d'une intrication (ou collision) ou parfois d'une juxtaposition ou d'une superposition des différentes populations mélanocytaires.

Les nævus composites sont constitués en général d'un nævus commun (acquis ou congénital) associé à un nævus bleu commun ou à un DPN (le plus souvent), à un nævus de Spitz, moins fréquemment à un autre type de nævus (nævus clonal, mélanocytome épithélioïde pigmenté/PEM, ...).

### ***Caractéristiques cliniques***

Ces lésions s'observent en général avant 40 ans (âge moyen : 28-29 ans), avec une très légère prédominance féminine (1,1), principalement au niveau du tronc, de la tête et du cou et de la racine des membres.

L'aspect clinique est en général inquiétant car la lésion est souvent asymétrique et de pigmentation hétérogène. Le diagnostic d'envoi le plus fréquent est celui de mélanome sur nævus préexistant ou de mélanome sans autre précision.

### ***Aspects macroscopiques et histopathologiques***

La lésion est souvent de petite taille (sauf en cas de lésion congénitale), bien limitée mais très souvent asymétrique.

Le plus souvent, la lésion est formée d'un contingent superficiel et latéral de type nævus commun dermique ou composé et d'un contingent dermique plus ou moins profond de type DPN ou nævus bleu d'où une absence de gradient de maturation ou un aspect de gradient de maturation inversé. Il existe une certaine interpénétration entre les mélanocytes du clone et les nævocytes d'allure commune, avec une cohabitation «pacifique» des 2 populations. L'architecture reste habituellement «organoïde». Les nævocytes communs ne présentent pas d'atypies cytologiques, les mélanocytes du clone présentent les caractéristiques du nævus auquel elles appartiennent : volumineuses cellules éosinophiles et aux noyaux fortement nucléolés du nævus de Spitz, cellules ballonnées faussement inquiétantes du DPN, cellules fusiformes pigmentées du nævus bleu, ... On peut observer d'exceptionnelles mitoses superficielles. L'inflammation est inconstante, peu abondante, essentiellement péri-vasculaire (sauf dans les nævus composites de type halo-Spitz). Des mélanophages sont présents lorsqu'un des contingents est de type bleu ou DPN.

L'étude immunohistochimique peut mettre en évidence la double population tumorale en particulier l'HMB45 qui montrera un gradient de marquage dans le contingent de type commun et un marquage diffus dans les contingents de type bleu et DPN. L'expression du MelanA est le plus souvent intense et diffuse. Il n'y a pas de perte clonale (ou totale) de l'expression de p16. L'index de prolifération est peu élevé.

### ***Diagnostic différentiel***

Il s'agit essentiellement des mélanomes développés sur nævus préexistant ou du mélanome *de novo* avec un clone nævoïde. Le diagnostic peut être particulièrement difficile, surtout en cas de clone nævoïde. Il faut rechercher des mitoses en profondeur, des migrations pagétoïdes transépidermiques latérales et tenir compte de la clinique. L'étude immunohistochimique peut également se révéler utile (voir cas N°0 2) ainsi que la FISH.

D'exceptionnels cas de mélanomes sur nævus composite existent !

Dans les nævus congénitaux, les diagnostics différentiels sont ceux d'un nodule de prolifération bénin (clonal ne correspondant pas à un type de nævus particulier et qui se voit chez le très jeune enfant), d'un nodule dermique plus atypique ou d'un foyer de dégénérescence dermique (mitoses).

Les nævus avec perte d'expression de BAP1 (très souvent composite) sont à individualiser en raison du risque de syndrome BAP1. Ils ont été traités précédemment (voir cas N°01).

Certains nævus ont des aspects «hybrides» entre 2 types de nævus (par exemple les DPN proche à la fois des nævus de Spitz et des nævus bleus). Ils ne doivent pas être qualifiés de nævus composite.

Les nævus de Reed composés présentent parfois une population dermique nævocyttaire commune (maturation). Ce ne sont pas non plus des nævus composites *stricto sensu*.

### ***Anomalies génétiques et caractéristiques moléculaires***

Deux théories s'affrontent concernant la pathogénie de ces tumeurs. Pour la plupart des auteurs, il s'agirait d'une différenciation terminale d'un clone cellulaire au sein d'une lésion mélanique préexistante. L'autre hypothèse, plus controversée, est celle de la collision lésionnelle de 2 tumeurs mélaniques différentes, ayant chacune une origine embryologique distincte.

Il n'y a pas eu d'étude moléculaire réalisée sur les nævus composites. Cependant, on peut supposer que chaque clone présente les caractéristiques du type de nævus auquel il appartient : mutations de *BRAF* et *NRAS* pour certains nævus communs, mutations des protéines G pour les nævus bleus, mutations de *HRAS-BRAF-NRAS* pour les DPN, réarrangement des protéines de fusion (*ALK, ROS1, MET, NTRK1 et RET*) et mutation de *HRAS* pour les nævus de Spitz, etc ...

### ***Evolution et pronostic***

Quelques récurrences næviques ont été décrites (exérèse incomplète). Un cas de diagnostic d'un mélanome a été décrit dans la littérature après exérèse (biopsie initiale évoquant un nævus

clonal avec atypies sévères). Cependant, il ne faut pas oublier que l'on connaît mal le pronostic de certains types de nævus (le DPN en particulier).

### **Points importants à retenir**

- Le nævus composite est une collision lésionnelle entre 2 (ou 3) populations mélanocytaires bénignes différentes.
- On parle de nævus clonal lorsque le clone n'appartient pas à un type de nævus particulier.
- Lorsque les populations mélanocytaires sont reconnues, le diagnostic est facile.
- Ne pas prendre un nævus composite ou clonal pour un mélanome.
- Lésion de bon pronostic mais nécessitant une exérèse complète et souvent une surveillance clinique.

### **REFERENCES**

- Scolyer RA, Zhuang L, Palmer AA, Thompson JF, McCarthy SW. Combined nevus: a benign lesion frequently misdiagnosed both clinically and pathologically as melanoma. *Pathology* 2004;36:419-27.
- Baran JL, Duncan LM. Combined melanocytic nevi: histologic variants and melanoma mimics. *Am J Surg Pathol* 2011;35:1540-8.
- Bender RP, McGinniss MJ, Esmay P, Velasquez EF, Reimann JD. Identification of HRAS mutations and absence of GNAQ or GNA11 mutations in deep penetrating nevi. *Mod Pathol* 2013;26:1320-8.

## Cas N°06 Béatrice Vergier

### Service de Pathologie, Hôpital du Haut Lévêque, Bordeaux

#### Renseignements cliniques

Jeune garçon de 4 ans. Lésion cutanée du genou.

#### Diagnostic

Mélanome spitzoïde sur nævus de Spitz préexistant (transformation maligne d'un nævus de Spitz).

#### Description histologique

La tumeur correspond à une prolifération mélanocytaire épidermo-dermique nettement asymétrique et formée de 2 composantes. Latéralement (des 2 côtés), on note la présence d'une lésion épidermo-dermique spitzoïde-reedoïde non atypique. La composante jonctionnelle est formée de thèques confluentes dans un épiderme papillomateux, avec grands mélanocytes fusiformes plus ou moins pigmentés. Le contingent dermique en regard est cytologiquement identique et non atypique. On observe un nodule dermique excentré soulevant l'épiderme qui est atrophique à ce niveau. Ce nodule est formé de grandes plages denses de mélanocytes épithélioïdes spitzoïdes, nettement pléomorphes, s'étendant au derme réticulaire avec une maturation plus architecturale que cytologique. De nombreuses mitoses atypiques, parfois présentes en profondeur, sont visibles. Leur taux atteint 4/mm<sup>2</sup>. Des atypies cyto-nucléaires majeures sont visibles. Des plages de cytologie nævocytoïde sont visibles. Cette lésion mesure 2,5 mm d'épaisseur.

L'étude en immunohistochimie montre une perte d'expression clonale dans la zone en relief de la p16, du MelanA et de l'HMB45, une négativité des marquages dirigés contre ROS1, NTRK1 et ALK1. Le taux de prolifération (noyaux Ki67+) atteint 20%.

La FISH montre la présence d'une délétion homozygote du gène *CDKN2A* (*P16*).

#### Commentaires

Le spectre diagnostique «nævus de Spitz / tumeur de Spitz atypique / mélanome spitzoïde» est à l'origine d'un grand nombre de demandes d'avis diagnostiques. A ce spectre, s'est ajouté récemment l'existence de mélanomes spitzoïdes survenus sur des nævus de Spitz, entité dont la malignité a été prouvée par l'immunohistochimie (batterie de marqueurs : HMB45, MelanA/A103, Ki67 et p16) et la FISH (+/- CGH).

#### Caractéristiques cliniques

Aux caractéristiques cliniques classiques du nævus de Spitz : anamnèse courte (6-12 mois) et siège ubiquitaire (tronc : 40%, membres : 37%, surtout inférieurs, tête et cou : 24%),

s'ajoutent l'existence de modifications très récentes de la lésion et son caractère asymétrique. Mais dans la majorité des cas, les modifications du nævus liées à la transformation en mélanome ne sont pas signalées par le clinicien.

### **Aspects histopathologiques**

Dès le «diagnostic fenêtre», la taille souvent grande (> 6 mm) et le profil asymétrique (aspect composite) de la tumeur spitzoïde frappent avec présence d'un contingent évoquant un nævus de Spitz ou de Reed (ou de Spitz-Reed) non atypique et d'un contingent plus atypique qui pose problème. Les critères d'atypies de ce dernier contingent sont : une densité cellulaire élevée (signe dit «du soir»), un comblement de la *grenz zone*, des contours lésionnels expansifs («*pushing*»), une ulcération, une nécrose focale, une cytologie plus épithélioïde que fusiforme et parfois même épithélioïde atypique, un taux de mitoses > 6/mm<sup>2</sup> avec présence de mitoses profondes.

L'immunomarquage est une aide précieuse au diagnostic montrant : une perte d'expression clonale de la p16 (la p16 est négative dans ce contingent atypique alors qu'elle est positive dans la partie «bénigne»), en parallèle parfois, une négativité clonale de l'HMB45 et moins souvent du MelanA (critères très suspects), un taux de prolifération élevé (Ki67 > 20%) sur ce contingent atypique contrastant avec le faible taux du contingent bénin.

### **Diagnostics différentiels**

Comme pour toutes ces tumeurs de Spitz de l'enfant, toute la difficulté est de savoir si on doit conclure à un «mélanome spitzoïde sur nævus de Spitz» ou à une «tumeur de Spitz atypique (sur nævus de Spitz ?)». Dans le cadre des tumeurs de Spitz de l'enfant, les critères de Spatz et Barnhill (tableau ci-dessous) permettant une première évaluation pour proposer un diagnostic de tumeur de Spitz très atypique/mélanome spitzoïde (en cas de score élevé) ou pour rester plutôt sur le versant nævus de Spitz (en cas de faible score), seront moins utiles ici.

Age	0-10 ans = 0	11-17 ans = 1	
Diamètre	0-10 mm = 0	> 10 mm = 1	
Graisse envahie	non = 0	oui = 2	
Ulcération	non = 0	oui = 2	
Mitoses / mm <sup>2</sup>	0-5 = 0	6-8 = 2	> 9 = 5
<b>Score final</b>	<b>0-2</b>	<b>3-4</b>	<b>5-11</b>
<b>Risque (évolutif)</b>	<b>faible</b>	<b>moyen</b>	<b>élevé</b>

S'il s'agit d'une grande lésion et que tous les critères d'atypies sont retrouvés dans le clone suspect : densité cellulaire élevée (+/- comblement de la *grenz zone*), cytologie épithélioïde voire atypique, mitoses nombreuses (6/mm<sup>2</sup>) avec mitoses profondes, taux de prolifération

élevé (Ki67 > 20%) de façon clonale, négativité clonale de la p16, négativité clonale de l'HMB45, nous proposons en premier lieu le diagnostic de mélanome spitzoïde sur nævus de Spitz. Si certains critères manquent, nous restons au diagnostic de tumeur de Spitz atypique sur nævus de Spitz en recommandant, malgré tout, une présentation en RCP du dossier et une reprise d'exérèse par sécurité. L'âge peut aussi entrer en compte car on sait que les mélanomes sont moins exceptionnels après 11 ans.

#### ***Anomalies génétiques et caractéristiques moléculaires***

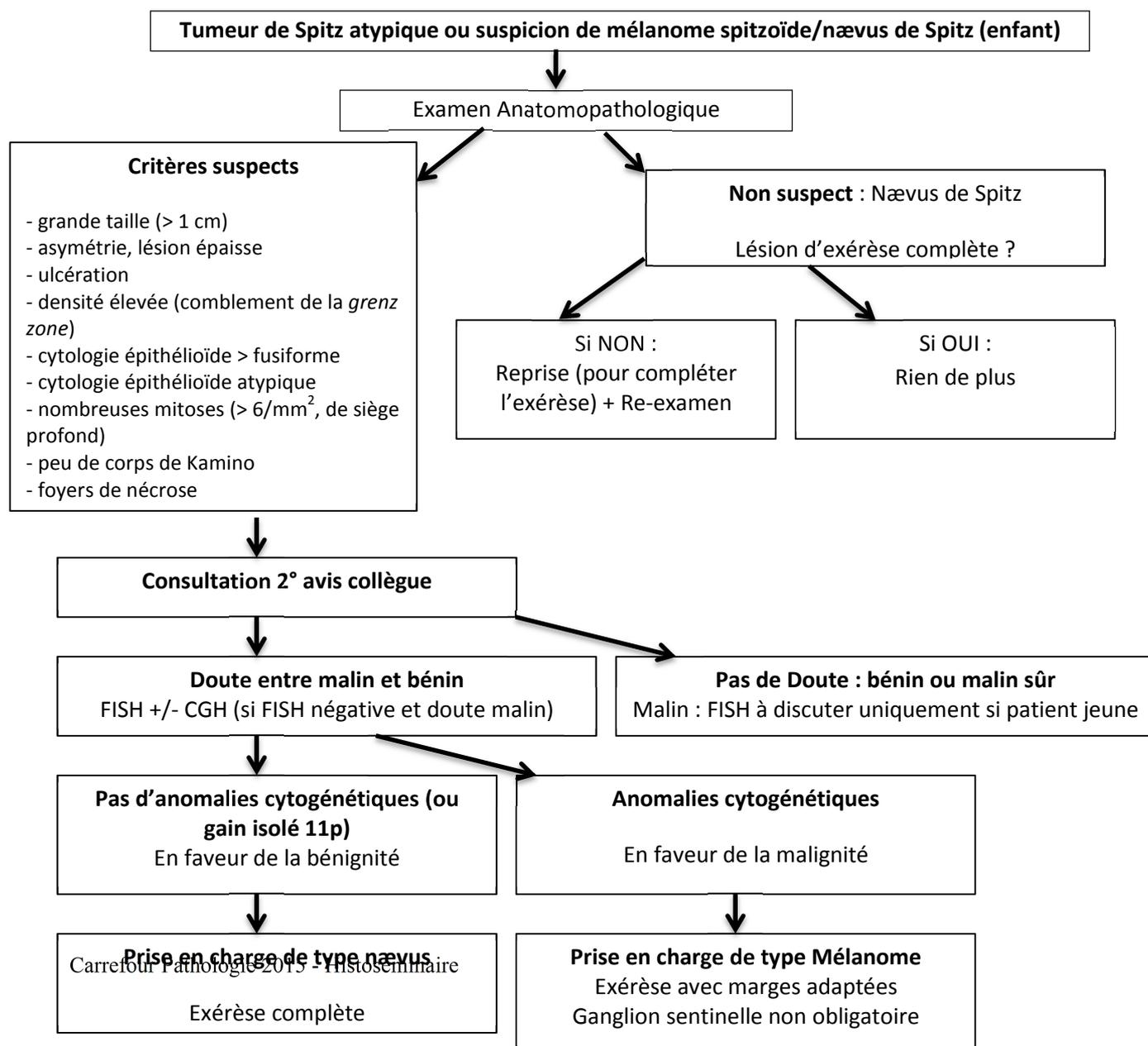
Nous préconisons de faire si possible une FISH (ou une CGH selon les outils disponibles) pour tout dossier de tumeur de Spitz atypique de l'enfant.

#### ***Evolution et pronostic***

Des études pronostiques récentes ont montré que même en cas de ganglion sentinelle envahi, le pronostic des tumeurs de Spitz atypiques (TSA) n'était pas si péjoratif. Sur 67 patients suivis pour une TSA (Breslow moyen : 2,4 mm), 27/57 (47%) avaient un ganglion sentinelle positif et sont en rémission complète avec une médiane de suivie de 43,8 mois (Ludgate *et al.*). Un seul des 76 patients suivis pour TSA a présenté des métastases à distance avec un suivi moyen de 9,1 ans (Sepehr *et al.*). Les 11 jeunes patients porteurs d'une TSA avec ganglion sentinelle positif sont tous en rémission complète avec un suivi moyen de 47 mois. Ces différentes études récentes ont deux conséquences : d'une part, elles montrent que la réalisation d'un ganglion sentinelle (même à but diagnostique) n'a pas d'intérêt dans les TSA car sa positivité n'a pas de répercussion pronostique et d'autre part que les TSA / mélanomes spitzoïdes sont des tumeurs de bas grade (comparées aux mélanomes classiques d'épaisseur équivalente). Implications pratiques : en cas de localisation pour laquelle une reprise d'exérèse adaptée à l'épaisseur pose des problèmes fonctionnels, la réalisation de marges plus réduites peut se discuter en RCP et l'utilisation de traitement systémique (Interféron, chimiothérapie, etc.) pour des lésions épaisses n'est pas forcément utile. Nous nous sommes inspirés de l'algorithme proposé en 2011 pour l'évaluation et la prise en charge des patients pédiatriques porteurs de tumeurs de Spitz atypique / mélanome spitzoïde (Tom *et al.*) pour vous proposer le schéma suivant tenant compte de ces nouvelles notions de pronostic et d'utilité des outils moléculaires. Seules des études prospectives avec des études moléculaires complémentaires et un suivi prolongé des patients permettront de voir si la classification tumeur de Spitz atypique / mélanome spitzoïde (y compris les cas sur nævus de Spitz) avec ou sans anomalies cytogénétiques s'accompagne d'un pronostic différent.

### Points importants à retenir :

- Le mélanome spitzoïde développé sur nævus de Spitz est une entité de découverte récente à savoir reconnaître.
- Les critères suspects dans cette entité sont les suivants : grande lésion asymétrique, clone de densité cellulaire élevée (+/- comblement de la *grenz zone*), de cytologie épithélioïde voire atypique, mitoses nombreuses ( $6/\text{mm}^2$ ) avec mitoses profondes, taux de prolifération focalement élevé (Ki67 > 20%), négativité clonale de la p16, négativité clonale de l'HMB45.
- Dans un contexte pédiatrique, toute tumeur de Spitz atypique ou maligne (surtout épaisse) devrait faire l'objet d'une étude moléculaire complémentaire (FISH ou CGH).
- La prise en charge de ces tumeurs de Spitz atypiques / mélanomes spitzoïdes pédiatriques doit être celle d'un mélanome conventionnel de même épaisseur, à savoir discussion en RCP et reprise d'exérèse. La réalisation du ganglion sentinelle et un traitement systémique (Interféron ou autre) ne sont pas préconisés pour ces tumeurs de bon pronostic, même si le ganglion est positif dans ce contexte pédiatrique.



## REFERENCES

- Spatz A, Calonje E, Handfield-Jones S, Barnhill RL. Spitz tumors in children: a grading system for risk stratification. *Arch Dermatol* 1999;135:282-5.
- Ludgate MW, Fullen DR, Lee J, Lowe L, Bradford C, Geiger J, Schwartz J, Johnson TM. The atypical Spitz tumor of uncertain biologic potential: a series of 67 patients from a single institution. *Cancer* 2009;115:631-41.
- Sepehr A, Chao E, Trefrey B, Blackford A, Duncan LM, Flotte TJ, Sober A, Mihm MC Jr, Tsao H. Long-term outcome of Spitz-type melanocytic tumors. *Arch Dermatol* 2011;147:1173-9.
- Tom WL, Hsu JW, Eichenfield LF, Friedlander SF. Pediatric "STUMP" lesions: evaluation and management of difficult atypical Spitzoid lesions in children. *J Am Acad Dermatol* 2011;64:559-72.
- Gammon B, Beilfuss B, Guitart J, Gerami P. Enhanced detection of spitzoid melanomas using fluorescence in situ hybridization with 9p21 as an adjunctive probe. *Am J Surg Pathol* 2012;36:81-8.
- Gerami P, Scolyer RA, Xu X, et al. Risk assessment for atypical spitzoid melanocytic neoplasms using FISH to identify chromosomal copy number aberrations. *Am J Surg Pathol* 2013;37:676-684.
- Gerami P, Busam K, Cochran A, Cook MG, Duncan LM, Elder DE, Fullen DR, Guitart J, LeBoit PE, Mihm MC Jr, Prieto VG, Rabkin MS, Scolyer RA, Xu X, Yun SJ, Obregon R, Yazdan P, Cooper C, Weitner BB, Rademaker A, Barnhill RL. Histomorphologic assessment and interobserver diagnostic reproducibility of atypical spitzoid melanocytic neoplasms with long-term follow-up. *Am J Surg Pathol* 2014;38:934-40.
- Yazdan P, Cooper C, Sholl LM, Busam K, Rademaker A, Weitner BB, Obregon R, Guitart J, Gerami P. Comparative analysis of atypical spitz tumors with heterozygous versus homozygous 9p21 deletions for clinical outcomes, histomorphology, BRAF mutation, and p16 expression. *Am J Surg Pathol* 2014;38:638-45.
- Massi D, Tomasini C, Senetta R, Paglierani M, Salvianti F, Errico ME, Donofrio V, Collini P, Tragni G, Sementa AR, Rongioletti F, Boldrini R, Ferrari A, Gambini C, Montesco MC. Atypical Spitz tumors in patients younger than 18 years. *J Am Acad Dermatol* 2015;72:37-46.

## Cas N°07 Arnaud de la Fouchardière

### Département de Biopathologie, CLCC Léon Bérard, Lyon

#### Renseignements cliniques

Homme de 44 ans. Lésion cutanée de l'épaule, ancienne, stable et très pigmentée.

#### Diagnostic

Mélanocytome épithélioïde pigmenté (PEM).

#### Description histologique

La prolifération mélanocytaire épidermo-dermique est à prédominance dermique. Elle s'accompagne d'une surélévation de l'épiderme ainsi que d'une hyperplasie acanthosique et papillomateuse nette du revêtement. La lésion est hyperpigmentée avec de très nombreux mélanophages. La composante jonctionnelle est restreinte à quelques grands mélanocytes. L'analyse est perturbée par l'intensité de la pigmentation et les îlots sont mieux identifiés sur l'immunohistochimie avec une densité dermique relativement faible et des amas s'intriquant jusque dans le derme réticulaire avec des coulées péri-annexielles. Les mélanocytes sont de grande taille, aux noyaux ovalaires avec un très volumineux nucléole éosinophile. Le cytoplasme est étendu et souvent hyperpigmenté. Les contours nucléaires sont irréguliers. Une mitose dermique est présente. Il n'y a pas d'infiltrat lymphocytaire.

#### Commentaires

Le PEM ("*Pigmented Epithelioid Melanocytoma*") correspond à une lésion mélanocytaire très rare. Il regroupe les mélanomes hyperpigmentés (dits de type animal / équin) et des nævus bleus épithélioïdes du syndrome de Carney (lentiginose familiale + multiples cancers viscéraux : schwannome mélanotique psammomateux, myxomes cutanés et viscéraux, tumeur de Sertoli testiculaire, ostéochondromyxome osseux, tumeurs thyroïdiennes) ou sporadiques. Ces derniers sont les plus fréquents. Ils sont considérés comme des mélanomes de bas grade ou tumeurs mélanocytaires de pronostic incertain. Ils ont fait émerger le concept de "mélanocytome" de faible grade de malignité.

#### Caractéristiques cliniques

Le PEM peut survenir à tout âge, mais on note une prédominance chez les enfants et les adolescents, en particulier de phototype IV. Il est de siège ubiquitaire avec une fréquence accrue sur les membres et le cuir chevelu. Les formes génitales ou sur d'autres muqueuses sont possibles. Les PEM forment un (des) nodule(s) unique (ou multiples) très pigmenté(s) bleu noir de 1 à 4 cm à contours irréguliers, parfois coalescents et formant une lésion en plaque.

### ***Aspects macroscopiques et histopathologiques***

La présence d'une activité jonctionnelle est inconstante. Lorsqu'elle est présente, elle est d'architecture lentigineuse et s'accompagne d'une hyperplasie pseudo-épithéliomateuse de l'épiderme. Dans le derme, la lésion forme un nodule mal limité, parfois étendu à l'hypoderme, constitué de plages peu denses de mélanocytes hyperpigmentés, épithélioïdes ou fusiformes, de grande taille, difficiles à distinguer des très nombreux mélanophages. Leur noyau est souvent nucléolé. La *grenz zone* peut être comblée. En périphérie, on peut observer des petits mélanocytes dendritiques. Le plus souvent, seule l'immunohistochimie permet de distinguer les mélanocytes des mélanophages. Les atypies cytologiques sont souvent minimales (noyaux peu inquiétants et rares mitoses) masquées par le pigment. L'activité mitotique est variable le plus souvent basse. Une ulcération épidermique est possible sauf dans les PEM liés au syndrome de Carney.

### ***Diagnostic différentiel***

Il se fera surtout avec les lésions apparentées aux nævus bleus cellulaires (formes classiques, nævus bleu atypique, nævus bleu malin *de novo* ou sur nævus bleu préexistant, voir cas N°04) et aux nævus bleus communs (nævus de Ota ou de Ito, "hamartome pileaire neurocristique", nævus de Sun), nævus pigmenté inclassable, mais aussi avec le DPN (*Deep Penetrating Nevus*), le nævus congénital hyperpigmenté (avec aspects *PEM-like*).

### ***Anomalies génétiques et caractéristiques moléculaires***

On ne retrouve aucune des mutations habituelles des mélanomes (*BRAF*, *NRAS* en particulier). Le gène *PRKARIA* est muté dans 50% des cas liés au syndrome de Carney. Dans les formes sporadiques, une perte d'expression de la protéine *PRKARIA* est observée dans 80% des cas en immunohistochimie et s'accompagne d'une perte d'allèle dans la zone du gène (17q22-24) selon le modèle d'atteinte bi-allélique des gènes suppresseurs de tumeurs de Knudson.

### ***Evolution et pronostic***

Le comportement évolutif est difficile à prédire. L'évolution est souvent longue. Les récurrences ou/et les métastases sont tardives. Ces métastases sont essentiellement ganglionnaires avec d'exceptionnelles disséminations viscérales. Il n'a jamais été observé de métastases dans les cas liés au syndrome de Carney. Il s'agit alors d'un élément d'identification de la maladie à un stade possiblement précoce permettant un suivi clinique de dépistage des cancers associés. Pour ces PEM, on recommande une exérèse complète avec des marges de 1 à 2 cm et un bilan clinique loco-régional. Une technique du ganglion sentinelle peut être discutée.

### Points importants à retenir

- Lésion extrêmement rare avec de nombreux diagnostics différentiels.
- Difficultés d'interprétation liées à l'abondance du pigment et des mélanophages.
- Tumeur de malignité intermédiaire (concept de mélanocytome = mélanome de bas grade).
- Association possible au syndrome de Carney en cas de lésions multiples.

### REFERENCES

- Zembowicz A, Carney JA, Mihm MC. Pigmented epithelioid melanocytoma: a low-grade melanocytic tumor with metastatic potential indistinguishable from animal-type melanoma and epithelioid blue nevus. *Am J Surg Pathol* 2004;28:31-40.
- Crowson AN, Magro CM, Mihm MC Jr. Malignant melanoma with prominent pigment synthesis: animal type" melanoma--a clinical and histological study of six cases with a consideration of other melanocytic neoplasms with prominent pigment synthesis. *Hum Pathol* 1999;30:543-50.
- Zembowicz A, Knoepp SM, Bei T, Stergiopoulos S, Eng C, Mihm MC, Stratakis CA. Loss of expression of protein kinase a regulatory subunit 1alpha in pigmented epithelioid melanocytoma but not in melanoma or other melanocytic lesions. *Am J Surg Pathol* 2007;31:1764-75.
- Zembowicz A, Scolyer RA. Nevus/melanocytoma/melanoma. An emerging paradigm for classification of melanocytic neoplasms? *Arch Pathol Lab Med* 2011;135:300-6.