



Självständigt arbete (examensarbete), 15 hp, för Kandidatexamen i  
biomedicinsk laboratorievetenskap  
HT 2015

## Utvärdering av en immunhistokemisk panel för malignt melanom

Sofie Karlsson

Sektionen för lärande och miljö

**Författare/Author**

Sofie Karlsson

**Titel/Title**

Utvärdering av en immunhistokemisk panel för malignt melanom/Evaluation of an immunohistochemical panel for malignant melanoma

**Handledare/Supervisor**

Leon Brokken, lektor i biomedicinsk laboratorievetenskap

**Examinator/Examiner**

Ann-Sofi Rehnstam-Holm, professor i mikrobiologi

**Sammanfattning**

För att diagnostisera malignt melanom och dess undergrupper används immunhistokemi för att färga in celler som uttrycker specifika protein. Särskilt desmoplastiska melanom kan initialt felbedömas baserat på utseendet som ärr, och det är därför viktigt att ha sensitiva antikroppar för att diagnostisera dem. Elva arkiverade patientprover (varav tre epiteloïda melanom, fyra spolcelliga, tre desmoplastiska och ett akralt lentiginöst) färgades in med antikroppar mot CK18, HMB-45, Melan-A, S100, SOX10 och synaptophysin. Alla prover var negativa för CK18, nio var positiva för HMB-45 och Melan-A (de negativa var båda desmoplastiska melanom) och alla var positiva för S100 och SOX10. Synaptophysin var positiv i alla epiteloïda melanom och det akralt lentiginösa melanomet, två av de fyra spolcelliga melanomen och negativ i alla desmoplastiska melanom. Fördelarna med SOX10, som tidigare studier i ämnet har påvisat, observerades inte i denna studie, troligen på grund av begränsningen i patientmaterial. Trots det verkar SOX10 vara ett användbart tillägg i melanompanelen, eller kanske till och med kan ersätta S100, baserat på tidigare studier.

**Ämnesord**

Malignt melanom, CK18, HMB-45, Melan-A, S100, SOX10, Synaptophysin, Desmoplastiskt melanom

**Abstract**

Immunohistochemistry is used to stain cells expressing specific proteins in order to diagnose malignant melanoma and its subtypes. Desmoplastic melanomas in particular can initially be misjudged as a scar based on its appearance, and sensitive antibodies are required in order for proper diagnosis. Eleven archived patient samples (of which three were epitheloid malignant melanoma, four spindle cell, three desmoplastic and one acral lentiginous) were stained with antibodies against CK18, HMB-45, Melan-A, S100, SOX10 and Synaptophysin. All samples were negative for CK18, nine were positive for HMB-45 and Melan-A (the negative ones were both desmoplastic melanomas) and all were positive for S100 and SOX10. Synaptophysin were positive in all epitheloid melanomasm, two of the four spindle cell melanoma as well as the acral lentiginous melanoma, while two of the four spindle cell melanoma and the desmoplastic melanomas were negative. The advantages of SOX10 described by other studies were not observed in this study, most likely due to its limited patient material. Despite this, SOX10 appears to be a useful addition to the melanoma panel, possibly as a replacement for S100 based on earlier studies.

**Keywords**

Malignant melanoma, CK18, HMB-45, Melan-A, S100, SOX10, Synaptophysin, Desmoplastic melanoma

# Innehåll

1. Inledning .....	4
1.1. Antikroppar och deras målmolekyler .....	5
1.1.1. CK18.....	5
1.1.2. HMB-45.....	5
1.1.3. Melan-A.....	5
1.1.4. S100 .....	5
1.1.5. SOX10 .....	5
1.1.6. Synaptophysin .....	6
1.2. Olika sorters maligna melanom.....	6
1.2.1. Melanom med epiteloida celler .....	6
1.2.2. Spolcelligt melanom.....	6
1.2.3. Akvalt lentiginöst melanom .....	7
1.2.4. Desmoplasiskt melanom.....	7
1.3. Syfte.....	8
2. Material och metod .....	8
2.1. Protokoll i Ventana BenchMark ULTRA.....	9
3. Resultat .....	11
4. Diskussion.....	13

# 1. Inledning

Malignt melanom är en cancerform med ursprung i kroppens melaninbildande pigmentceller, melanocyterna. Det är vanligtvis huden som drabbas, men malignt melanom kan även uppstå i slemhinnor. I en amerikansk studie utförd av Frangos *et al.* (2012) diagnostiserade nio patologer om 40 arkiverade fall från 1988-1990, varav elva var diagnostiserade som maligna melanom. Av dessa fall diagnostiserades 18 som melanom, vilket antyder att en del av ökningen kan bero på förändrade diagnoskriterier och inte en faktisk ökning av sjukdomen. Malignt melanom svarar för 90 % av dödsfallen orsakade av kutana tumörer (Garbe *et al.* 2010).

Ultraviolett strålning via solen eller solarium den vanligaste orsaken till malignt melanom. Strålningen orsakar genetiska skador och påverkar immunförsvaret vilket förhindrar normal apoptos i de påverkade cellerna. Dessa faktorer ökar risken för cancer (Whiteman & Green 1999).

För att skilja ett malignt melanom från ett benignt nevus används de så kallade ABCD-reglerna; Asymmetry, Border, Colour och Diameter. Melanom är ofta till skillnad från nevi och andra benigna förändringar asymmetriska. De har ojämna kanter och är ojämnt pigmenterade, ofta i flera färger. Dessutom är de ofta större än andra förändringar, vanligtvis över sex mm. En femte regel skulle kunna vara E, Evolving, det vill säga att ett nevus har förändrats, vilket tyder på melanom (Abbasi *et al.* 2004).

Maligna melanom kan delas in i olika undergrupper, främst superficiella spridande melanom som är den vanligaste undergruppen, nodulära melanom som tidigt börjar växa på djupet, lentigo maligna melanom som är vanlig i ansiktet på äldre och kan växa ytligt i årtal innan den börjar växa på djupet, samt akrala lentiginösa melanom som uppstår på händer och fötter (Calonje *et al.* 2011).

Vid mikroskopering av maligna melanom undersöks närvaro av atypiska celler, infiltration i epidermis, asymmetri, mitosfrekvens och mognad mot djup. Några exempel på prognostiska faktorer vid bedömning av maligna melanom är tumörtjocklek, som mäts enligt Breslow från det granulära cellagret till den djupast liggande tumörcellen, Clarknivå, som anger till vilket hudlager tumören når och graderas från I till V samt mitosfrekvens, ju fler mitoser desto snabbare växer tumören och desto sämre

prognos (Mills *et al.* 2009). Cancerceller som har infiltrerat lymf- eller blodkärl tyder även de på en sämre prognos på grund av spridningsrisken (Balch *et al.* 2004).

## **1.1. Antikroppar och deras målmolekyler**

I studien användes antikroppar till följande antigener.

### **1.1.1. CK18**

Antigenet CK18 (cytokeratin 18) är ett intermediärt filament som ofta uttrycks tillsammans med CK8 i de flesta enkla gång- och körtelepitel, i till exempel bröst och luftvägar. Antikroppen till CK18 används bland annat vid differentialdiagnostik mellan olika sorters bröstcancer (Chen *et al.* 2009; Shao *et al.* 2012).

### **1.1.2. HMB-45**

Antikroppen till HMB-45 färgar in ett melanom- och melanocytspecifikt antigen som uttrycks i cytoplasman i mellan 90-100 % av primärtumörer och i mellan 80-86 % av melanommetastaser. Den är mindre sensitiv än antikroppen till S100, dock är den mindre känslig för spolcelliga melanom och ofta negativa i desmoplastiska sådana (Calonje *et al.* 2011; Kapur *et al.* 1992).

### **1.1.3. Melan-A**

Antigenet Melan-A uttrycks i melanocyter i både benigna nevus och i maligna melanom. De har en liknande sensitivitet som S100-antikroppen i epiteloidea melanom, men är mindre känsliga för spolcelliga och desmoplastiska melanom (Blessing *et al.* 1998; Calonje *et al.* 2011).

### **1.1.4. S100**

Antigenet S100 uttrycks i mellan 94-100 % av alla primära maligna melanom samt melanommetastaser. Antikroppen har en låg specificitet och binder förutom till maligna och benigna melanocytära tumörer även in till bland annat Schwann-celler, Langerhanska celler och myoepiteliala celler (Calonje *et al.* 2011).

### **1.1.5. SOX10**

Antigenet SOX10 lokaliserar i kärnan och uttrycks i normal human vävnad, bland annat i melanocyter och i bröstvävnad. Antikroppen till SOX10 har visat sig vara en

användbar markör för maligna melanom, inklusive spolcelliga och desmoplastiska sådana. Till skillnad från HMB-45 och Melan-A som ofta är negativa i spolcelliga och desmoplastiska melanom är de flesta positiva i SOX10 (Nonaka *et al.* 2008; Ramos-Herberth *et al.* 2008).

#### 1.1.6. Synaptophysin

Antigenet synaptophysin är ett glykoprotein som uttrycks både normala och neoplastiska neuroendokrina celler i bland annat lunga. Antikroppen till synaptophysin används som markör för bland annat medulloblastom (Jensen *et al.* 1990; Son *et al.* 2003).

## 1.2. Olika sorters maligna melanom

Maligna melanom delas in i undergrupper baserat på bland annat cellernas egenskaper och vävnadens uppbyggnad. Nedan följer de fyra undergrupperna som undersöktes i studien.

#### 1.2.1. Melanom med epiteloida celler

Epiteloida melanomceller syns oftast i superficiellt spridande och nodulära melanom och är runda, stora celler med mycket cytoplasma (Massi & LeBoit, 2013). Mycket tyder på att melanom med epiteloida celler har en sämre prognos än melanom med spolceller (Chi *et al.* 1993).

#### 1.2.2. Spolcelligt melanom

Spolceller (avlånga celler som smalnar av i båda ändarna) kan ses i alla typer av maligna melanom, men "rena" spolcelliga melanom, där andelen spolceller är mer än 90 %, är relativt ovanliga. Spolceller är vanligast i lentigo maligna melanom och i akrala lentiginösa melanom. Melanom med spolceller uppkommer oftast i solexponerade områden på huden (Calonje *et al.* 2011; Massi & LeBoit, 2013).

Tumören består av spolformiga melanocyter med avlånga och ofta hyperkromatiska cellkärnor. I ett "rent" spolcelligt melanom produceras inget kollagen, vilket skiljer det från ett desmoplastiskt melanom (Massi & LeBoit, 2013).

Spolcelliga melanom har rapporterats uttrycka S100A6, och medan desmoplastiska melanom är positiva för SOX10 saknas studier på "rena" spolcelliga melanom (Massi & LeBoit, 2013).

### 1.2.3. Akralt lentiginöst melanom

Akrala lentiginösa melanom kan uppstå på handflatan, fotsulan, och under naglarna. Sjukdomen drabbar främst äldre och har generellt sett en dålig prognos eftersom tumören ofta har växt djupt ner i huden då den upptäcks. Den vanligaste celltypen i akrala lentiginösa melanom är spolceller, men även epiteloida celler och jätteceller går att hitta. Invasiva tumörer är ofta spolcelliga och har ofta en desmoplastisk reaktion (Calonje *et al.* 2011). 95 % av akrala lentiginösa melanom är positiva för S100, 80 % är positiva för HMB-45 och 70 % är positiva för Melan-A (Kim *et al.* 2003)

### 1.2.4. Desmoplasiskt melanom

Desmoplastiskt melanom är ett sorts spolcelligt melanom och skiljer sig både makroskopiskt och mikroskopiskt från övriga former av maligna melanom. De kan vara amelanotiska, det vill säga att de har inte melanin (44 % enligt en studie av Quinn *et al.* 1998), och misstas lätt för ärr. Desmoplastiska melanom har en benägenhet att växa mycket på djupet och når vid tiden för excisionen ofta subcutis (Mărgăritescu & Chiriță 2014). De återkommer ofta på samma ställe efter excision om marginalerna inte varit tillräckliga, till exempel på grund av att de felbedömts som benigna, men de är enligt Quinn *et al.* (1998) i sig inte mer benägna till återfall än andra kutana melanom. (Calonje *et al.* 2011; Massi & LeBoit, 2013; Mills *et al.* 2009,). Jaroszewski *et al.* (2001) studerade 59 patienter med desmoplastiskt melanom; 39 % (23 patienter) hade vid tiden artikeln skrevs fått ett eller flera lokala återfall, 50 % av dessa utvecklade metastaser, de flesta av dem (81%) i lungorna.

Histologiskt så ser desmoplastiska melanom ut som spolcelliga melanom med interstitiell fibros och kollagenisering. De uttrycker andra proteiner än andra former av maligna melanom, och är immunhistokemiskt positiva för S100 i 94-100 % av fallen, nästan alltid negativa för HMB-45 och fokalt positiva för Melan-A. SOX10 ger en stark reaktion i de flesta fall, även de med svagt positiv S100-färgning (Calonje *et al.* 2011; Massi & LeBoit 2013; Mills *et al.* 2009).

### **1.3. Syfte**

Studien ska undersöka hur bra sex antikroppar, CK18, HMB-45, Melan-A, S100, SOX10 och synaptophysin kan användas för att diagnostisera totalt elva fall av malignt melanom: tre epiteloïda, fyra spolcelliga, tre desmoplastiska och ett akralt lentiginöst. HMB-45, Melan-A och S100 används idag för att diagnostisera maligna melanom. Syftet med studien är att se om den nya antikroppen SOX10 tillför något till den diagnostiska antikroppspanelen, samt att med antikroppar undersöka uttrycket av CK18 och synaptophysin i arkiverade patientprover.

## **2. Material och metod**

Till studien användes totalt elva arkiverade patientprov från Blekingesjukhusets upptagsområde, varav tre prov med epiteloïtt melanom, tre med desmoplastiskt melanom, fyra med spolcelligt melanom och en med akralt lentiginöst melanom. Ingen etisk prövning behövdes enligt lag om etikprövning (2003:460) då denna studie utfördes inom ramen för högskoleutbildning på grundnivå. Proven var fixerade med fosfatbuffrad 4 % formaldehyd, hade bäddats i paraffin och färgades under studien in med antikropparna CK18, HMB-45, Melan-A, S100, SOX10 och synaptophysin, totalt 66 glas.

Proverna snittades i 3 µm tjocka snitt, ett snitt per klots och glas, som lades på VWR SuperFrost Plus-glas tillsammans med kontroller enligt tabell 2.

Proverna färgades i en Ventana BenchMark ULTRA (Roche Diagnostics). För information om alla antikroppar som användes under färgningen, se tabell 1.



Tabell 1: Antikropparna som användes till färgningen.

Antikropp	Klon	Ursprung	Referensnummer	Tillverkare	Spädning
CK18	DC-10	Mus	NCL-CK18	Leica Biosystems	1:50
Melan-A	A103	Mus	M7196	Dako	1:50
Melanosome	HMB-45	Mus	M0634	Dako	1:100
S100	Polyklonal	Kanin	Z0311	Dako	1:1000
SOX10	BC34	Mus	ACI 3099 A	Biocare Medical	1:50
Synaptophysin	MRQ-40	Kanin	760-4595	Ventana	Ready- To-Use

Tabell 2: Positiv kontrollvävnad, koktid, och amplifiering som användes till respektive antikropp.

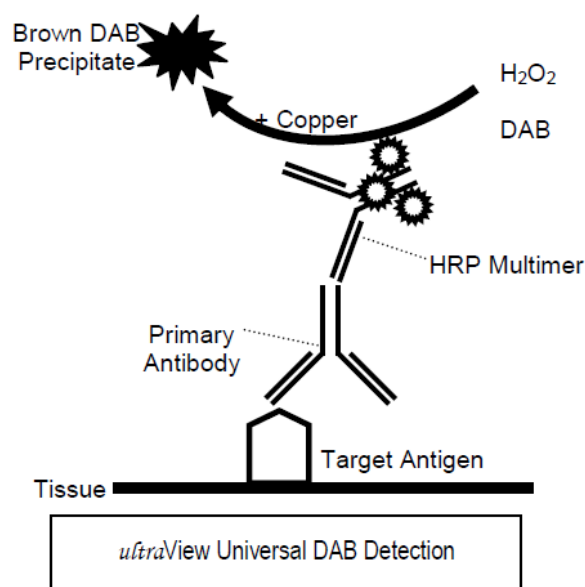
Antikropp	Kontroll	Koktid (minuter)	Amplifiering
<b>CK18</b>	Bröst	64	Ja
<b>HMB-45</b>	Malignt melanom	36	Ja
<b>Melan-A</b>	Malignt melanom	76	Ja
<b>S100</b>	Malignt melanom	64	Nej
<b>SOX10*</b>	Malignt melanom	64	Nej
<b>Synaptophysin</b>	Appendix	36	Ja

\*100 µl SOX10-antikropp spädd med Antibody Diluent (Ventana, 251-018) applicerades för hand.

## 2.1. Protokoll i Ventana BenchMark ULTRA

Glaset bakades i 73 °C i 24 minuter och avparaffinerades vid 72 °C med hjälp av EZ Prep (Ventana, 950-102). Framkallningskitet som användes var ultraView Universal DAB Detection Kit (Ventana, 760-500). Glaset kokades i ULTRA CC1 (Ventana, 950-224) enligt tabell 2, varefter de inkuberades i 36 °C i 4 minuter. En droppe primär

antikropp tillsattes och en förspädd täckglaslösning av ULTRA LCS (Predilute, Ventana, 650-210) applicerades. Glasen inkuberades i 32 minuter varefter antikroppar som ej bundits in sköljdes bort med Reaction Buffer (Ventana, 950-300). Vissa av antikropparna (tabell 2) amplifierades med en mus- eller kaninantikroppsförstärkare (Amplification Kit, Ventana, 760-080). En sekundär antikropp (HRP Multimer) tillsattes, och överflödiga sekundära antikroppar sköljdes bort med Reaction Buffer. Komplexet gjordes synligt med hjälp av väteperoxid, kopparsulfat och DAB (3,3'-diaminobenzidine), vilket bildar en brun färg som går att se med ett vanligt ljusmikroskop (figur 1). Glasen kontrastfärgades med Hematoxylin II (Ventana, 790-2208) i 12 minuter under den förspädda täckglaslösningen och blånades av Bluing Reagent (Ventana, 760-2037) under täckglaslösningen i 4 minuter.



Figur 1: Den immunhistokemiska färgningsreaktionen. Bildkälla: Ventana.com

Glasen bedömdes i ljusmikroskop (Nikon Labophot) i 40x förstoring. Vid mikroskoperingen bedömdes andel positiva celler samt den subjektiva färgintensiteten. Tre av glasen (figur 2-4) scannades i 20x förstoring i en Hamamatsu NanoZoomer-XR för att demonstrera de olika färgintensiteterna.

### 3. Resultat

Prov 1-3 var enligt tidigare bedömningar epiteloida maligna melanom, prov 4-6 samt 11 var spolcelliga melanom, prov 7-9 var desmoplastiska melanom och prov 10 var ett akralt lentiginöst melanom. Resultatet redovisas i tabell 3.

*Tabell 3: Färgintensitet och andel infärgade celler. (E) Epiteloida maligna melanom, (S) spolcelliga melanom, (D) desmoplastiska melanom och (A) akralt lentiginöst melanom. Färgarna anger färgintensitet: grön färg starkt positiv; gul färg medelpositiv; röd färg svagt positiv. Siffrorna anger andel infärgade celler i procent.*

	1(E)	2(E)	3(E)	4(S)	5(S)	6(S)	7(D)	8(D)	9(D)	10(A)	11(S)
<b>CK18</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>HMB-45</b>	70	70	80	90	40	60	-	-	50 <sup>1</sup>	90	40
<b>Melan-A</b>	70	90	60	90	80	90	-	-	90	90	90
<b>S100</b>	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	30
<b>SOX10</b>	90	90	90	90	90	90	90	80	90	90	90
<b>Synaptophysin</b>	30	20	90	-	80	90	-	-	-	70	-

<sup>1</sup> Endast ytligt positiv.

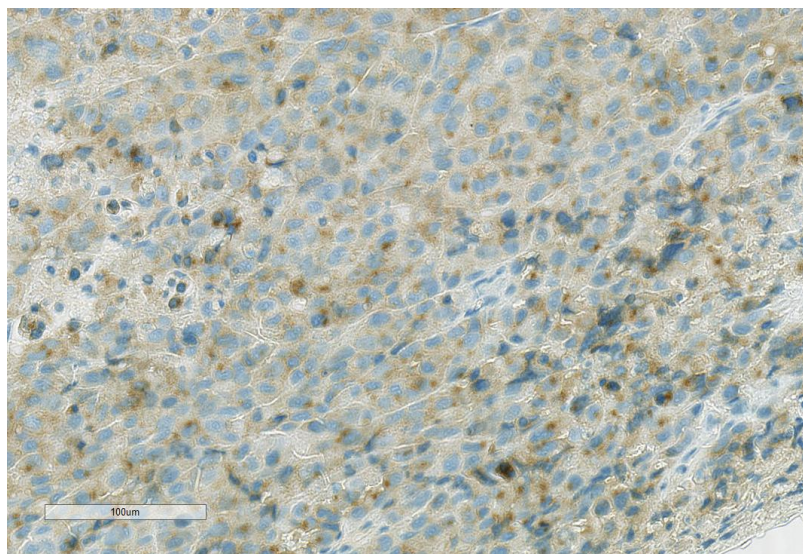
CK18 negativt i alla prover, HMB-45 starkt positiv i fyra fall (två epiteloida, en spolcelligt samt i det akralt lentiginösa melanomet), medelstarkt positiv i två fall (ett epiteloidt melanom samt ytligt i ett desmoplastiskt melanom), svagt i tre fall (tre spolcelliga melanom) och helt negativt i två desmoplastiska melanom.

Melan-A var starkt positiv för sex fall (ett epiteloidt melanom, tre spolcelliga melanom, ett desmoplastiskt melanom samt det akralt lentiginösa melanomet), svagt positivt i tre fall (två epiteloida och ett spolcelligt melanom) och helt negativa i två fall (två desmoplastiska melanom).

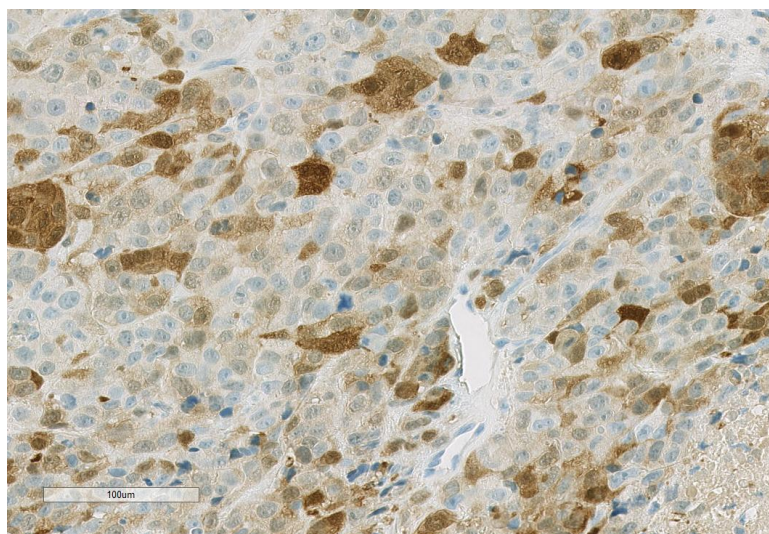
Alla fall var positiva för S100: åtta starkt positiva (två av tre epiteloida melanom, två av fyra spolcelliga melanom, tre av tre desmoplastiska melanom samt det akralt lentiginösa melanomet), två medelstarkt positiva (ett epiteloidt och ett spolcelligt melanom) samt ett svagt positiv (ett spolcelligt melanom). Samtliga fall var positiva även för SOX10: sex

starkt positiva (alla tre epiteloidea, två av fyra spolcelliga samt det akralt lentiginösa melanomet) och fem medelstarkt positiva (två av fyra spolcelliga melanom samt alla tre desmoplastiska melanom).

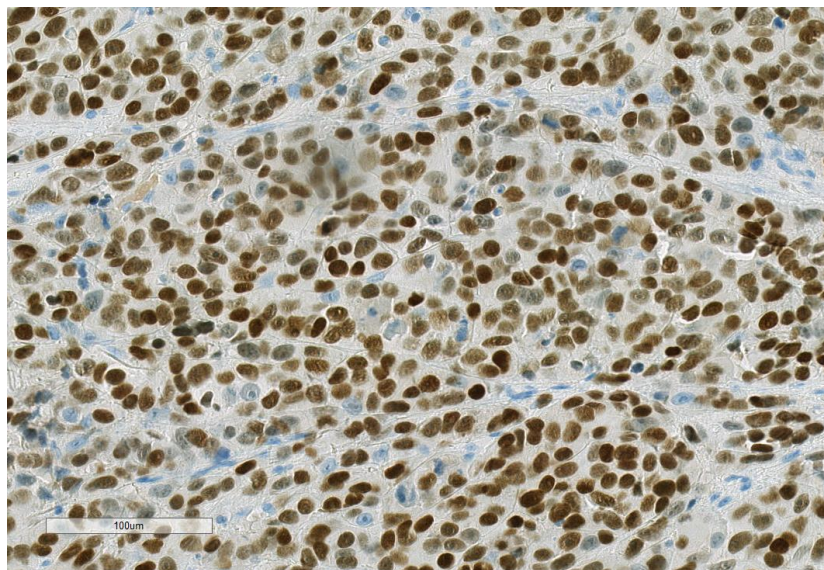
Synaptophysin var medelstarkt positiv i ett prov (ett epiteloitt melanom), svagt positiv till fem prover (resterande epiteloidea melanom, två av de spolcelliga samt det akrala lentiginösa melanomet) och negativ i fyra prover (två spolcelliga melanom och samtliga tre desmoplastiska melanom).



*Figur 2: Synaptophysin, epiteloitt melanom, svag infärgning, 20x förstoring (prov nr. 3).*



*Figur 3: S100, epiteloitt melanom, medelstark infärgning, 20x förstoring (prov nr. 3).*



Figur 4: SOX10, epiteloitt melanom, stark infärgning, 20x förstoring (prov nr. 3).

## 4. Diskussion

Samtliga undersökta prover var negativa för CK18, detta i kontrast till en studie av Chen *et al.* (2009) som visade att 31,3 % av de undersökta fallen vara positiva för CK18 genom detektion av mRNA in situ-hybridisering (ISH), en metod för att detektera DNA- eller RNA-sekvenser, medan endast 10 % av samma fall var positiva vid immunhistokemi. Skillnaden tros bero på att formaldehydfixeringen och paraffininbäddningen denaturerar proteinet, vilket stöds av att fryssnitt oftare är positiva för CK18 jämfört med paraffininbäddade prover. mRNA-positivitet hade enligt studien ett samband med en sämre prognos, men inget sådant samband upptäcktes för positivitet genom immunhistokemi.

HMB-45 var positivt i ytliga delar av ett av de desmoplastiska melanomen. Liknande resultat rapporteras av Carlson *et al.* (1995), där 28 fall av desmoplastiskt neurotropiskt melanom färgades med HMB-45 och där endast epidermis och ytliga papillära dermis var positiva (21 % av fallen var positiva).

Melan-A gav precis som HMB-45 ett negativt resultat i två av de desmoplastiska melanomen, i likhet med en studie av Blessing *et al.* (1998) där Melan-A jämförs med HMB-45 och S100, och S100 visade sig vara bättre än de två andra antikropparna på att binda in till spolcelliga och desmoplastiska melanom. Däremot så är både HMB-45 och Melan-A positiva i alla spolcelliga melanom, om än svagare positiva än S100.

Styrkan i S100-antikroppen ligger i att den har en hög sensitivitet, dock har den en låg specificitet och kan inte skilja på benigna och maligna melanocytära tumörer. Den binder även in till Schwann-celler, lipocyter, dendritiska celler samt saliv- och svettkörtlar (Blessing *et al.* 1998).

Enligt Nonaka *et al.* (2008) har SOX10 högre sensitivitet än S100 då den färgade in 76 av 78 (97 %) maligna melanom, till skillnad från S100 som färgade 71 av 78 (91 %). I en studie av Tacha *et al.* (2015) färgade SOX10 in 92,6 % av alla maligna melanom, varav 98 % av de spolcelliga och desmoplastiska, vilket stämmer med denna studie där alla undersökta melanom var positiva för SOX10, inklusive fyra spolcelliga och tre desmoplastiska sådana. Dessutom färgar SOX10 till skillnad från S100 inte in epiteloida granulom, omogna fibroblaster eller histocytiska proliferationer, som i ärrvävnad kan se ut som melanomrester (Ramos-Herberth *et al.* 2008), vilket är en fördel jämfört med S100.

Några av melanomen var förutom för de vanliga melanommarkörerna även positiva för synaptophysin, vilket tidigare har rapporterats (Coli *et al.* 2004; Eyden *et al.* 2005). De desmoplastiska melanomen och hälften av de spolcelliga var negativa för synaptophysin.

Studien gjordes på få prover, totalt endast elva stycken med endast tre, fyra, tre respektive ett prov från vardera undergrupp, vilket gör att resultaten ej är statistiskt säkerställda. Dessutom är gränserna mellan starkt, medelstarkt och svagt positiv infärgning subjektiv.

Resultaten av studien visar att SOX10 verkar vara ett användbart tillägg till melanompanelen, dock visade inte denna begränsade studie några större fördelar med SOX10 jämfört med S100, vilket större studier har påvisat.

## **Tackord**

Tack till min laboratoriehandedare Ing-Marie Johansson, patologen Lennart Mellblom och övrig personal på laboratoriet för klinisk patologi och cytologi på Blekingesjukhuset i Karlskrona samt min handledare Leon Brokken.

## Referenser

Abbasi, N. R., Shaw, H. M., Rigel, D. S., Friedman, R. J., McCarthy, W. H., Osman, I., Kopf, A.W. & Polsky, D. (2004). Early Diagnosis of Cutaneous Melanoma: Revisiting the ABCD Criteria. *The Journal of the American Medical Association*, 292(22), 2771-2776.

Balch, C. M., Soong, S. J., Atkins, M. B., Buzaid, A. C., Cascinelli, N., Coit, D. G., Fleming, I.D., Gershenwald, J.E., Houghton A. Jr., Kirkwood, J.M., McMasters, K. M., Mihm, M.F., Morton, D.L., Reintgen, D.S., Ross, M.I., Sober, A. Thompson, J.A. & Thompson, J.F. (2004). An Evidence-based Staging System for Cutaneous Melanoma. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 54(3), 131-149.

Blessing, K., Sanders, D. S., & Grant, J. J. (1998). Comparison of immunohistochemical staining of the novel antibody melan-A with S100 protein and HMB-45 in malignant melanoma and melanoma variants. *Histopathology*, 32(2), 139-146.

Calonje, E., Brenn, T., Lazar, A. & McKee, P.H. (2011). *McKee's Pathology of the Skin*. 4 uppl. Philadelphia: Saunders.

Carlson, J. A., Dickersin, G. R., Sober, A. J. & Barnhill, R. L. (1995). Desmoplastic neurotropic melanoma. A clinicopathologic analysis of 28 cases. *Cancer*, 75(2), 478-494.

Chen, N., Gong, J., Chen, X., Xu, M., Huang, Y., Wang, L., Geng, N. & Zhou, Q. (2009). Cytokeratin expression in malignant melanoma: potential application of in-situ hybridization analysis of mRNA. *Melanoma Research*, 19(2), 87-93.

Chi, H. I., Uyeda, Y., Umebayashi, Y. & Otsuka, F. (1993). Epithelioid cell melanomas have greater DNA ploidy abnormalities than spindle cell melanomas: cytological evidence for a higher malignant potential of the former. *Archives of Dermatological Research*, 285(7), 410-414.

Coli, A., Giacomini, P. G., Bigotti, G., Ferraro, S., Alessandrini, M., Del Vecchio, M. & Massi, G. (2004). Aberrant neurofilament protein and synaptophysin expression in malignant melanoma of the nasal cavity. *Histopathology*, 44(2), 193-195.



- Eyden, B., Pandit, D. & Banerjee, S. S. (2005). Malignant melanoma with neuroendocrine differentiation: clinical, histological, immunohistochemical and ultrastructural features of three cases. *Histopathology*, 47(4), 402-409.
- Frangos, J.E., Duncan, L.M., Piris, A., Nazarian, R.M., Mihm, M.C., Hoang, M.P., Gleason, B., Flotte, T.J., Byers, H.R., Barnhill, R.L. & Kimball, A. B. (2012). Increased diagnosis of thin superficial spreading melanomas: a 20-year study. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 67(3), 387-394.
- Garbe, C., Peris, K., Hauschild, A., Saiag, P., Middleton, M., Spatz, A., Grob, J., Malvehy, J., Newton-Bishop, J., Stratigos, A., Pehamberger, H. & Eggermont, A. (2010). Diagnosis and treatment of melanoma: European consensus-based interdisciplinary guideline. *European Journal of Cancer*, 46(2), 270-283.
- Jaroszewski, D. E., Pockaj, B. A., DiCaudo, D. J. & Bite, U. (2001). The clinical behavior of desmoplastic melanoma. *The American Journal of Surgery*, 182(6), 590-595.
- Jensen, S. M., Gazdar, A. F., Cuttitta, F., Russell, E. K., & Linnoila, R. I. (1990). A Comparison of Synaptophysin, Chromogranin, and L-Dopa Decarboxylase as Markers for Neuroendocrine Differentiation in Lung Cancer Cell Lines. *Cancer Research*, 50(18), 6068-6074.
- Kapur, R. P., Bigler, S. A., Skelly, M., & Gown, A. M. (1992). Anti-melanoma monoclonal antibody HMB45 identifies an oncofetal glycoconjugate associated with immature melanosomes. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 40(2), 207-212.
- Kim, Y. C., Lee, M. G., Choe, S. W., Lee, M. C., Chung, H. G. & Cho, S. H. (2003). Acral lentiginous melanoma: an immunohistochemical study of 20 cases. *International Journal of Dermatology*, 42(2), 123-129.
- Mărgăritescu, I. & Chiriță, A.D. (2014). Desmoplastic melanoma—Challenges in the diagnosis and management of a rare cutaneous tumor. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*, 55(3), 947-952.
- Massi, G. & LeBoit P.E. (2013). *Histological Diagnosis of Nevi and Melanoma*. 2 uppl. Berlin: Springer.

- Mills, S., Carter, D., Greenson, J.K., Reuter, V.E. & Stoler, M.H. (2009). *Diagnostic Surgical Pathology*. 5. uppl. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Nonaka, D., Chiriboga, L. & Rubin, B. P. (2008). Sox10: a pan-schwannian and melanocytic marker. *The American Journal of Surgical Pathology*, 32(9), 1291-1298.
- Quinn, M. J., Crotty, K. A., Thompson, J. F., Coates, A. S., O'Brien, C. J. & McCarthy, W. H. (1998). Desmoplastic and desmoplastic neurotropic melanoma. *Cancer*, 83(6), 1128-1135.
- Ramos-Herberth, F. I., Karamchandani, J., Kim, J. & Dadras, S. S. (2010). SOX10 immunostaining distinguishes desmoplastic melanoma from excision scar. *Journal of Cutaneous Pathology*, 37(9), 944-952.
- Shao, M. M., Chan, S. K., Yu, A. M. C., Lam, C. C. F., Tsang, J. Y. S., Lui, P. C. W., Law, B. K. B., Tan, P., & Tse, G. M. (2012). Keratin expression in breast cancers. *Virchows Archiv*, 461(3), 313-322.
- Son, E. I., Kim, I. M., Kim, D. W., Yim, M. B., Kang, Y. N., Lee, S. S., Kwon, K. Y., Suh, S. I., Kwon, T. K., Lee, J. J., Kim, D. S. & Kim, S. P. (2003). Immunohistochemical analysis for histopathological subtypes in pediatric medulloblastomas. *Pathology International*, 53(2), 67-73.
- Tacha, D., Qi, W., Ra, S., Bremer, R., Yu, C., Chu, J., Hoang, L. & Robbins, B. (2015). A Newly Developed Mouse Monoclonal SOX10 Antibody Is a Highly Sensitive and Specific Marker for Malignant Melanoma, Including Spindle Cell and Desmoplastic Melanomas. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 139(4), 530-536.
- Whiteman, D. C. & Green, A. C. (1999). Melanoma and sun exposure: where are we now? *International Journal of Dermatology*, 38(7), 481- 489.

## Populärvetenskaplig sammanfattning

Malignt melanom är en cancerform med ursprung i kroppens pigmentceller, melanocyter, och uppstår vanligtvis i huden. Det är en av Sveriges vanligaste cancerformer. För att kunna diagnostisera malignt melanom krävs att hudförändringen undersöks på ett patologiskt laboratorium, där vävnaden undersöks i mikroskop dels med vanlig översiktsfärgning och dels med immunhistokemisk färgning, då cellerna färgas in beroende på de proteiner som uttrycks av dem. Celler med samma ursprung har i regel ungefär samma uttryck av protein, så immunhistokemi kan användas för att avgöra vilken typ av tumör som finns i vävnaden. Vid diagnostik av malignt melanom används vanligtvis melanommarkörerna HMB-45, Melan-A, S100 och SOX10. Tyvärr så finns det undergrupper av cancerformer som har ett annorlunda proteinuttryck än övriga undergrupper, till exempel desmoplastiskt malignt melanom, som till skillnad från de flesta andra melanom sällan uttrycker HMB-45 och Melan-A. Den nyaste av markörerna, SOX10, har i flera studier visat sig vara en känslig markör för maligna melanom, inklusive desmoplastiska melanom.

Studien utfördes för att jämföra de olika melanommarkörernas effekt på olika former av maligna melanom från Blekingesjukhuset i Karlskronas upptagsområde, samt för att undersöka förekomsten av cytoplasmproteinet CK18 och Synaptophysin, som används som en markör för neuroendokrina celler, det vill säga celler som tar emot signalsubstanser.

De undergrupper som har undersökts är epiteloida melanom (melanom med runda celler), spolcelliga melanom (melanom med avlånga celler), akrala lentiginösa melanom (spolcelliga melanom på handflator och fotsulor) samt desmoplastiska melanom (spolcelliga melanom med cellerna utspridda i fibrin, liknar ofta ärr).

Resultatet av studien visar att S100 och SOX10 var ungefär likvärdiga på de 11 tumörer som undersöktes, HMB-45 och Melan-A var sämre på att färga in de desmoplastiska melanomen och att Synaptophysin var positivt i 6 av de 11 tumörerna, dock inte i någon av de desmoplastiska. CK18 var negativt i allt.

Resultaten stämde bra in på de vetenskapliga artiklarna som hade lästs i ämnet, de flesta artiklarna där SOX10 och S100 jämfördes kom fram till att SOX10 fungerar bättre än S100 i desmoplastiska melanom, men skillnaden kunde inte ses i de 3 desmoplastiska melanomen som undersöktes, vilket förmodligen berodde på för litet urval. I övrigt var resultatet väntat.