



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Pigmentation and prognosis in uveal melanoma

Gelmi, M.C.

Citation

Gelmi, M. C. (2025, January 30). *Pigmentation and prognosis in uveal melanoma*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4178145>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/4178145>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

NEDERLANDSE SAMENVATTING EN DISCUSSIE

Het doel van dit proefschrift is te onderzoeken welke rol tumorpigmentatie en oogkleur spelen bij de prognose van uveamelanoom (UM), een belangrijke oogtumor. Tevens gaat dit proefschrift dieper in op de complexiteit van het stellen van een prognose bij UM en zoeken wij naar nieuwe therapeutische doelen. Wij hebben deze onderzoeksdoelen vanuit verschillende invalshoeken aangepakt (literatuuronderzoek, klinische data-analyse, genetische analyse en cellijnwerk) en onze bevindingen en observaties samengebracht in dit proefschrift.

Prognose van uveamelanoom: welke factoren moeten we overwegen?

Uveamelanoom is een zeldzame ziekte, maar het geeft een hoog risico op uitzaaiingen. Men probeert het risico op metastase vorming bij patiënten met UM te voorspellen, met als voornaamste doel om de patiënten betrouwbare informatie te geven over hun vooruitzichten en de follow-up hierop af te stemmen. Een extra motivatie vormt het identificeren van patiënten die baat kunnen hebben bij toekomstige therapieën om metastasen te voorkomen of te behandelen, zelfs als dergelijke behandelingen op dit moment nog niet beschikbaar zijn. Ten slotte kan het begrijpen van de pathofysiologie van prognostische factoren helpen bij het ontwikkelen van patiënt-specifieke nieuwe behandelingen.

Op dit moment worden er veel methoden en systemen gebruikt voor het stellen van een prognose, maar is er geen wereldwijde standaard. Net als bij veel andere soorten kanker is één van de meest gebruikte systemen het stadiëringssysteem van de American Joint Committee on Cancer (AJCC)^{1,2}, dat periodiek wordt herzien en kijkt naar tumorgrootte (diameter en dikte) en parameters van lokale invasiviteit (betrokkenheid van het ciliaire lichaam en extraoculaire groei). Meer recent zijn genetische factoren belangrijk geworden voor de prognose: chromosomale afwijkingen, genetische mutaties en genexpressie. Verlies van één kopie van chromosoom 3 (monosomie) en winst van de lange arm van chromosoom 8 zijn sterk geassocieerd met een hoog risico op het ontwikkelen van metastasen³⁻⁵ en vormen de basis van het genetische prognosesysteem van The Cancer Genome Atlas (TCGA) met 4 groepen: A (disomie 3, normaal 8q), B (disomie 3, 8q-winst), C (monosomie 3, één extra kopie van 8q) en D (monosomie 3, meerdere extra 8q-kopieën).^{6,7}

Ons werk toont aan dat tumoren in TCGA-groep C (monosomie 3, winst van één kopie van 8q) verder kunnen worden gestratificeerd op basis van hun AJCC-stadium en dat UM met AJCC-klassen II en III een andere prognose hebben op basis van het aantal extra kopieën van het chromosoom 8q (TCGA-groep D versus C). Deze bevinding is om twee redenen belangrijk. Ten eerste ondersteunt het de stelling dat het combineren van verschillende prognostische systemen het risico op metastasevorming nauwkeuriger voorspelt dan elk afzonderlijk systeem.^{8,9} Deze aanpak ligt oa. ten grondslag aan instrumenten als de Liverpool Uveal Melanoma Prognosticator Online (LUMPO)^{10,11} en volgt de trend naar “precision medicine”. Men moet echter zorgvuldig selecteren welke parameters tegelijkertijd worden overwogen, omdat veel factoren onderling verband houden. Ten tweede tonen onze bevindingen aan dat, binnen de context van 8q-winst, de prognose slechter is bij tumoren met een hoger aantal extra 8q-kopieën. Het is nog niet bekend welk gen op 8q verantwoordelijk is voor de verslechtering van de prognose, maar uit de literatuur blijkt dat 8q24 een van de meest relevante gebieden is.^{12,13} Deze regio bevat het proto/oncogen *C-MYC* (MYC Proto-Oncogene, BHLH-transcription factor) op 8q24.1¹⁴⁻¹⁹, *DDEF1* (ArfGAP With SH3 Domain, Ankyrin Repeat And PH Domain 1) op 8q24.21²⁰, *PTK2* (Protein Tyrosine Kinase 2) op 8q24.3²¹ en *PTP4A3* (Protein Tyrosine Phosphatase 4A3), ook op 8q.24.3²². Uit ons onderzoek blijkt dat *PTP4A3* één van de meest opgereguleerde genen in *PRAME*-positieve UM is vergeleken met *PRAME*-negatieve UM.

Wat is nu PRAME? PRAME is interessant als prognostische marker en als potentieel therapeutisch doelwit bij veel vormen van kanker, waaronder UM. De expressie van PRAME in UM is de afgelopen tien jaar door verschillende groepen bestudeerd en wordt nu als een onafhankelijke negatieve prognostische factor beschouwd.²³⁻²⁶ Daarom is PRAME-expressie opgenomen in de Collaborative Ocular Oncology Group 2 (COOG2)-studie, samen met GEP-klasse en BAP1-, SF3B1- en EIF1AX-mutaties.²⁷ Gene Expression Profiling (GEP) is een test die kijkt naar mRNA ipv DNA, waarbij Klasse 1 overeenkomt met disomie van chromosoom 3 (en een goede prognose) en Klasse 2 met monosomie van chromosoom 3 (en daarmee een slechte prognose). Het is een test die in de Verenigde Staten wordt gebruikt.

Is pigmentatie een actieve speler of een omstander?

Tumorpigmentatie is een belangrijk tumor kenmerk dat door de jaren heen door veel auteurs is bestudeerd, maar de rol ervan in de progressie en prognose van de tumor is nog onduidelijk. Aan de ene kant hebben verschillende groepen herhaaldelijk aangetoond dat donkere tumorpigmentatie gerelateerd is aan een kortere overleving van patiënten.²⁸⁻³² Wij hebben deze associatie bevestigd in een groot cohort van 1058 patiënten met UM die een enucleatie ondergingen in ons instituut en bij wie macroscopische tumorpigmentatie in onze database was geregistreerd. Men kan zich afvragen hoe melanine het gedrag van tumoren kan beïnvloeden. Eén mogelijk mechanisme dat oa in zebrafishmodellen is getest betreft ferroptose³³: gepigmenteerde melanoomcellen geven meer metastasen vergeleken met niet-gepigmenteerde melanoomcellen, omdat de aanwezigheid van melanine de cellen beschermt tegen dood door ferroptose.

Aan de andere kant zou men kunnen beweren dat pigmentatie geen actieve rol speelt in het gedrag van de tumor, maar slechts een “innocent bystander” is. Deze hypothese komt voort uit de observatie dat donkere tumoren, met een slechtere prognose, vaak slechte prognostische kenmerken hebben, zoals een grote doorsnede, een hoog aantal epithelioïde cellen en veel macrofagen.²⁸⁻³¹ We laten in dit proefschrift zien dat moleculaire factoren zoals monosomie van chromosoom 3 en extra kopieën van chromosoom 8q vaker voorkomen bij donkere tumoren en dat, zodra chromosoom 3 en 8q zijn opgenomen in een regressiemodel, tumorpigmentatie geen onafhankelijke prognostische factor meer is. Dit kan betekenen dat de aanwezigheid en hoeveelheid melanine in de tumor slechts een “bystander” is. Statistische significantie en biologie komen echter niet altijd overeen. De aanwezigheid en hoeveelheid melanine in tumoren kan worden verhoogd dankzij chromosoomafwijkingen, wat de statistische significantie ervan in een multifactorieel model vermindert, maar dat zegt niet dat pigmentatie nog steeds betrokken kan zijn bij maligne gedrag. Een ander element dat ervoor pleit dat tumorpigmentatie een actieve rol speelt bij de prognose is de observatie dat binnenin een cohort van patiënten met UM die in Leiden een enucleatie ondergingen, monosomie 3 een grotere impact heeft op de overleving van patiënten met lichte tumoren dan bij patiënten met donkere tumoren.

Oogkleur: meer dan een predisponerende factor?

Uit de literatuur is bekend dat een lichte iriskleur geassocieerd is met een verhoogd risico op het ontwikkelen van UM. Oogmelanoom komt inderdaad vaker voor in populaties met een hoge incidentie van een lichte huid en ogen (voornamelijk Noord- en West-Europa en Oceanië) en bij mensen met een blauwe of groene iris dan bij mensen met donkere ogen.³⁴⁻³⁸ We besloten de rol van de oogkleur diepgaander te onderzoeken en onderzochten of deze mogelijk niet alleen een rol speelt bij de ontwikkeling van tumoren, maar ook bij het gedrag van tumoren. Eerst analyseerden we de klinische of zelfgerapporteerde iriskleur in een cohort van 412 patiënten uit het LUMC en bevestigden onze resultaten in een tweede cohort van 934 patiënten die werden behandeld in het Wills Eye Hospital. We vonden dat de klinische oogkleur op zichzelf geen voorspellende waarde heeft voor de overleving,

maar dat monosomie 3 en 8q winst bij patiënten met lichte ogen een grote impact hadden op de prognose, terwijl deze factoren een veel kleinere impact hadden bij patiënten met bruine ogen.

Omdat de oogkleur grotendeels genetisch bepaald is³⁹⁻⁴¹, hebben we ons verdiept in dit onderwerp en de single nucleotide polymorphisms (SNPs) gerelateerd aan oog-, huid- en haarkleur bepaald in een cohort van 394 patiënten met UM. We gebruikten de SNP-array van het Hirisplex-S-systeem⁴²⁻⁴⁴, welke SNPs bevat die zijn gekoppeld aan oog-, huid- en haarkleur in eerdere analyses van genoom-brede associatie studies (GWAS). Dit systeem kan worden gebruikt om het pigmentatie fenotype (de oogkleur) te voorspellen, uitgaande van de SNPs. Onze gegevens laten zien dat de SNP die het meest voorspellend is voor de oogkleur, rs12913832 (*HERC2*), geassocieerd is met de prognose: patiënten met het G/G-genotype (lichte iris) hadden een kortere overleving dan patiënten met het A/G- of A/A-genotype (donkere iris) genotype. Bovendien kwam monosomie 3 vaker voor bij het G/G-genotype dan bij de A/G + A/A-genotypegroep, hetgeen de bevindingen lijkt te verklaren.

Deze resultaten suggereren dat de genetische opmaak van een patiënt sommige tumorkenmerken of de gevoeligheid van tumoren kan beïnvloeden om bepaalde kenmerken te ontwikkelen. Men kan veronderstellen dat populaties met verschillende pigmentatiekenmerken verschillen in hun gevoeligheid voor de welbekende prognostische factoren, die zijn ontdekt in studies uitgevoerd in populaties met een hoog risico op het ontwikkelen van UM (d.w.z. populaties met veel mensen met een lichte huid en lichte ogen).

Nieuwe therapeutische doelen

De behandeling van een primair UM is zeer succesvol in het beheersen van de tumor in het oog. De belangrijkste uitdagingen bij deze ziekte zijn de hoge metastasegraad en het gebrek aan effectieve preventieve behandelingen en behandelingsopties voor de gemetastaseerde ziekte. Daarom is de gemeenschap voortdurend op zoek naar potentiële nieuwe doelwitten. Een nieuwe behandeling betreft Tebentafusp⁴⁵⁻⁴⁹, een bispecifiek molecuul dat bestaat uit een anti-CD3-antilichaamfragment met enkele keten en een monoklonale T-celreceptor met hoge affiniteit (TCR) gericht op het tumorantigeen gp100. Tebentafusp is geclassificeerd als een Imm -TAC (immune-mobilizing monoclonal T-cell receptors against cancer) en kan worden gebruikt bij patiënten met HLA-A*2:01. Dit betekent dat slechts een deel van de patiënten hiermee behandeld kan worden. Verder geeft dit medicijn geen genezing, alleen een vertraging van het ziekteproces. We hebben ons daarom verdiept in twee nieuwe potentiële behandel doelwitten: MITF en PRAME.

Omdat donkere pigmentatie geassocieerd is met een slechte prognose, waren we geïnteresseerd in de regulatie van de melaninesynthese. Aangezien MITF de voornaamste regulator is van de melaninesynthese en belangrijk is voor de ontwikkeling van melanocyten, was de verwachting dat MITF-expressie hoger is in donkere tumoren in vergelijking met lichte. Tot onze verbazing bleek echter dat het tegenovergestelde waar was toen we keken naar het Leidse cohort van 64 patiënten. We merkten dat MITF mogelijk niet alleen betrokken is bij de synthese en pigmentatie van melanine, maar ook andere functies kan hebben die verband houden met de overleving en het gedrag van (tumor)cellen. Om de situatie nog complexer te maken, is het bewijs over de rol van MITF in cutaan- en uveamelanoom niet eenduidig. Aan de ene kant bevordert MITF de overleving en proliferatie van⁵⁰⁻⁵⁷ die nodig zijn voor lokale tumorgroei⁵⁰⁻⁵⁷ en aan de andere kant remt het de invasie, de epitheel-naar-mesenchym transitie⁵⁸⁻⁶⁰ en de-differentiatie^{50, 61-64}, die nodig zijn voor het vormen van uitzaaiingen. Dit maakt het moeilijk om te voorspellen wat er zal gebeuren als de MITF geblokkeerd wordt.

Daarnaast hebben we ons gericht op een veelbelovender doel: PRAME. Het feit dat PRAME sterk tot expressie komt in tumoren en in de testes maar geen/zeer lage expressie heeft in andere gezonde weefsels, maakt het een aantrekkelijk therapeutisch doelwit.⁶⁵ Er worden immuuntherapieën ontwikkeld die zich richten op PRAME, alleen of in combinatie met andere antigenen.⁶⁶⁻⁷⁰ T-celtherapie is een veelbelovende optie, en Gezgin et al. toonden aan dat T-cellen UM-cellen met PRAME expressie kunnen herkennen.²⁴ PRAME wordt specifiek tot expressie gebracht op UM met een slechte prognose en op metastasen. Twee verschillende benaderingen zijn mogelijk: uitbreiding van reeds bestaande PRAME-specifieke T-cellen⁷¹⁻⁷⁷ en genetisch gemodificeerde TCR-getransduceerde T-cellen die zich tegen PRAME richten^{78, 79}. De negatieve selectie van hoge-affiniteit T-cellen tegen zelf-antigenen in de thymus kan de laatste optie haalbaarder maken. Op dit moment worden PRAME-specifieke TCR-getransduceerde T-cellen getest bij patiënten met recidiverende of terugkerende gevorderde of metastatische solide tumoren, waaronder UM (NCT03686124 en NCT04262466).

De zoektocht naar nieuwe therapeutische doelwitten begint meestal met in vitro studies, waarbij cellijnen worden gebruikt om ziektemechanismen te bestuderen en potentiële therapeutische middelen te testen. Het is daarom uiterst belangrijk om cellijnen te gebruiken die werkelijk representatief zijn voor de onderzochte ziekte. Twee van de UM-cellijnen (Mel285 en Mel290) die veel gebruikt worden in UM-onderzoek missen de typische UM-mutaties in *GNAQ* en *GNA11*.^{80, 81} We besloten deze twee cellijnen diepgaander te bestuderen en bevestigden dat ze ook geen andere UM-gerelateerde mutaties hebben (*CYSLTR2* of *PLCB4*). Daarnaast hebben ze een extreem lage expressie van melanocyt- en melanoommarkers, wat twijfel doet rijzen over hun identiteit als UM-cellijnen. Hoewel we geen alternatieve oorsprong of specifieke bron van contaminatie konden identificeren, kunnen we stellen dat ze geen typische UM-celkweeklijnen zijn en mogelijk geen representatieve modellen zijn om potentiële therapeutische doelen voor UM te testen. De belangrijkste expressie verschillen in het proteoom en genoom tussen twaalf andere cellijnen werden verklaard door mutaties in het *BAP1*-gen, één van de belangrijkste determinanten van prognose.

Conclusies en toekomstperspectieven

Uveamelanoom is nog steeds onderwerp van onderzoek voor veel groepen over de hele wereld, omdat er nog steeds verschillende vragen openstaan en er veel ruimte is voor verbetering in de behandeling van metastasen.

In de loop van de tijd hebben we een beter inzicht in de ziekte gekregen en hebben we onze diagnostische en prognostische nauwkeurigheid verbeterd. Er zijn meerdere geldige prognose-instrumenten beschikbaar en hoewel er geen gouden standaard bestaat, wordt het steeds duidelijker dat het combineren van verschillende onderzoekstechnieken (histopathologische, patiënt gerelateerde en moleculaire prognostische markers) een nauwkeurigere voorspelling van het metastatische risico mogelijk maakt. De meeste onderzoeken worden echter uitgevoerd bij populaties met een hoog risico op UM, die ook een hoge incidentie van een blanke huid en blauwe ogen hebben. Op basis van onze gegevens kunnen we veronderstellen dat verschillende populaties een verschillende gevoeligheid kunnen vertonen voor het ontwikkelen van UM en uveamelanoommetastasen en mogelijk verschillende prognose-algoritmen nodig hebben.

Wat betreft de behandeling: lokale tumoren kunnen effectief worden gecontroleerd, maar het is met de huidige therapeutische opties nog niet mogelijk om metastasen te voorkomen of te behandelen. Niettemin gaan de inspanningen om nieuwe therapeutische doelen te vinden door en wordt er vooruitgang geboekt, vooral op het gebied van gerichte therapie. Wij zijn van mening dat we moeten blijven zoeken naar therapeutische doelen en dat T-celtherapie een veelbelovende strategie is, waarbij PRAME moet worden overwogen als een onderzoekswaardig doel.

REFERENTIES

1. Amin MB, Edge S, Greene F, et al. *AJCC Cancer Staging Manual (8th edition)*. Springer International Publishing: American Joint Commission on Cancer; 2017.
2. Amin MB, Greene FL, Edge SB, et al. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more "personalized" approach to cancer staging. *CA Cancer J Clin* 2017;67:93-99.
3. Kilic E, van Gils W, Lodder E, et al. Clinical and cytogenetic analyses in uveal melanoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:3703-3707.
4. Damato B, Dopierala JA, Coupland SE. Genotypic profiling of 452 choroidal melanomas with multiplex ligation-dependent probe amplification. *Clin Cancer Res* 2010;16:6083-6092.
5. Damato B, Dopierala J, Klaasen A, van Dijk M, Sibbring J, Coupland SE. Multiplex ligation-dependent probe amplification of uveal melanoma: correlation with metastatic death. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2009;50:3048-3055.
6. Robertson AG, Shih J, Yau C, et al. Integrative Analysis Identifies Four Molecular and Clinical Subsets in Uveal Melanoma. *Cancer Cell* 2017;32:204-220 e215.
7. Jager MJ, Brouwer NJ, Esmaeli B. The Cancer Genome Atlas Project: An Integrated Molecular View of Uveal Melanoma. *Ophthalmology* 2018;125:1139-1142.
8. Bagger M, Andersen MT, Andersen KK, Heegaard S, Andersen MK, Kiilgaard JF. The Prognostic Effect of American Joint Committee on Cancer Staging and Genetic Status in Patients With Choroidal and Ciliary Body Melanoma. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 2014;56:438-444.
9. Dogrusöz M, Bagger M, van Duinen SG, et al. The Prognostic Value of AJCC Staging in Uveal Melanoma Is Enhanced by Adding Chromosome 3 and 8q Status. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017;58:833-842.
10. Eleuteri A, Damato B, Coupland SE, Taktak AFG. Enhancing survival prognostication in patients with choroidal melanoma by integrating pathologic, clinical and genetic predictors of metastasis. *International Journal of Biomedical Engineering and Technology* 2012;8:18-35.
11. Eleuteri A, Taktak AFG, Coupland SE, Heimann H, Kalirai H, Damato B. Prognostication of metastatic death in uveal melanoma patients: A Markov multi-state model. *Comput Biol Med* 2018;102:151-156.
12. Speicher MR, Prescher G, du Manoir S, et al. Chromosomal gains and losses in uveal melanomas detected by comparative genomic hybridization. . *Cancer Res* 1994;54:3817-3823.
13. Anbunathan H, Verstraten R, Singh AD, Harbour JW, Bowcock AM. Integrative Copy Number Analysis of Uveal Melanoma Reveals Novel Candidate Genes Involved in Tumorigenesis Including a Tumor Suppressor Role for PHF10/BAF45a. *Clin Cancer Res* 2019;25:5156-5166.
14. Royds JA, Sharrard RM, Parsons MA, et al. C-myc oncogene expression in ocular melanomas. . *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1992;230:366-371.
15. Chana JS, Wilson GD, Cree IA, et al. c-myc, p53, and Bcl-2 expression and clinical outcome in uveal melanoma. . *Br J Ophthalmol* 1999;83:110-114.
16. Chana JS, Cree IA, Foss AJ, Hungerford JL, Wilson GD. The prognostic significance of c-myc oncogene expression in uveal melanoma. *Melanoma Res* 1998;8:139-144.

17. Parrella P, Caballero OL, Sidransky D, Merbs SL. Detection of c-myc amplification in uveal melanoma by fluorescent in situ hybridization. . *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42:1679-1684.
18. Mooy CM, Luyten GP, de Jong PT, et al. Immunohistochemical and prognostic analysis of apoptosis and proliferation in uveal melanoma. . *Am J Pathol* 1995;147:1097-1104.
19. Kim YJ, Park SJ, Maeng KJ, Lee SC, Lee CS. Multi-Platform Omics Analysis for Identification of Molecular Characteristics and Therapeutic Targets of Uveal Melanoma. *Sci Rep* 2019;9:19235.
20. Ehlers JP, Worley L, Onken MD, Harbour JW. DDEF1 is located in an amplified region of chromosome 8q and is overexpressed in uveal melanoma. *Clin Cancer Res* 2005;11:3609-3613.
21. Okamoto H, Yasui K, Zhao C, Arai S, Inazawa J. PTK2 and EIF3S3 genes may be amplification targets at 8q23-q24 and are associated with large hepatocellular carcinomas. *Hepatology* 2003;38:1242-1249.
22. Laurent C, Valet F, Planque N, et al. High PTP4A3 phosphatase expression correlates with metastatic risk in uveal melanoma patients. *Cancer Res* 2011;71:666-674.
23. Field MG, Durante MA, Decatur CL, et al. Epigenetic reprogramming and aberrant expression of PRAME are associated with increased metastatic risk in Class 1 and Class 2 uveal melanomas. *Oncotarget* 2016;7:59209-59219.
24. Gezgin G, Luk SJ, Cao J, et al. PRAME as a Potential Target for Immunotherapy in Metastatic Uveal Melanoma. *JAMA Ophthalmol* 2017;135:541-549.
25. Field MG, Decatur CL, Kurtenbach S, et al. PRAME as an Independent Biomarker for Metastasis in Uveal Melanoma. *Clin Cancer Res* 2016;22:1234-1242.
26. Scheffler AC, Koca E, Bernicker EH, Correa ZM. Relationship between clinical features, GEP class, and PRAME expression in uveal melanoma. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2019;257:1541-1545.
27. Scheffler AC, Mruthyunjaya P, Decatur C, et al. Design, Methods, and Rationale for the Collaborative Ocular Oncology Group 2 (COOG2) Study. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 2021;62:2870-2870.
28. McLean MIW, Foster WD, Zimmerman LE. Prognostic Factors in Small Malignant Melanomas of Choroid and Ciliary Body. *Arch Ophthalmol* 1977;95:48-58.
29. Seddon JM, Albert DM, Lavin PT, Robinson N. A Prognostic Factor Study of Disease-Free Interval and Survival Following Enucleation for Uveal Melanoma. *Arch Ophthalmol* 1983;101:1894-1899.
30. Packard RB. Pattern of mortality in choroidal malignant melanoma. *Br J Ophthalmol* 1980;64:565-575.
31. Group COMS. Histopathologic Characteristics of Uveal Melanomas in Eyes Enucleated From the Collaborative Ocular Melanoma Study COMS Report No. 6. *Am J Ophthalmol* 1998;125:745-766.
32. Shields CL, Kaliki S, Cohen MN, Shields PW, Furuta M, Shields JA. Prognosis of uveal melanoma based on race in 8100 patients: The 2015 Doyne Lecture. *Eye (Lond)* 2015;29:1027-1035.
33. Groenewoud A, Yin J, Gelmi MC, et al. Patient-derived zebrafish xenograft models reveal ferroptosis as a fatal and druggable weakness in metastatic uveal melanoma. *bioRxiv* 2021;10:1-41.
34. Virgili G, Gatta G, Ciccolallo L, et al. Incidence of uveal melanoma in Europe. *Ophthalmology* 2007;114:2309-2315.

35. Singh AD, Turell ME, Topham AK. Uveal melanoma: trends in incidence, treatment, and survival. *Ophthalmology* 2011;118:1881-1885.
36. Wu M, Yavuziyigitoglu S, Brosens E, Ramdas WD, Kilic E, Rotterdam Ocular Melanoma Study G. Worldwide Incidence of Ocular Melanoma and Correlation With Pigmentation-Related Risk Factors. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2023;64:45.
37. Weis E, Shah CP, Lajous M, Shields JA, Shields CL. The association between host susceptibility factors and uveal melanoma: a meta-analysis. *Arch Ophthalmol* 2006;124:54-60.
38. Houtzagers LE, Wierenga APA, Ruys AAM, Luyten GPM, Jager MJ. Iris Colour and the Risk of Developing Uveal Melanoma. *Int J Mol Sci* 2020;21.
39. Pospiech E, Draus-Barini J, Kupiec T, Wojas-Pelc A, Branicki W. Gene-gene interactions contribute to eye colour variation in humans. *J Hum Genet* 2011;56:447-455.
40. Branicki W, Brudnik U, Wojas-Pelc A. Interactions between HERC2, OCA2 and MC1R may influence human pigmentation phenotype. *Ann Hum Genet* 2009;73:160-170.
41. Liu F, van Duijn K, Vingerling JR, et al. Eye color and the prediction of complex phenotypes from genotypes. *Curr Biol* 2009;19:R192-193.
42. Walsh S, Chaitanya L, Clarisse L, et al. Developmental validation of the HirisPlex system: DNA-based eye and hair colour prediction for forensic and anthropological usage. *Forensic Sci Int Genet* 2014;9:150-161.
43. Walsh S, Chaitanya L, Breslin K, et al. Global skin colour prediction from DNA. *Hum Genet* 2017;136:847-863.
44. Chaitanya L, Breslin K, Zuniga S, et al. The HirisPlex-S system for eye, hair and skin colour prediction from DNA: Introduction and forensic developmental validation. *Forensic Sci Int Genet* 2018;35:123-135.
45. Carvajal RD, Butler MO, Shoushtari AN, et al. Clinical and molecular response to tebentafusp in previously treated patients with metastatic uveal melanoma: a phase 2 trial. *Nat Med* 2022;28:2364-2373.
46. Nathan P, Hassel JC, Rutkowski P, et al. Overall Survival Benefit with Tebentafusp in Metastatic Uveal Melanoma. *N Engl J Med* 2021;385:1196-1206.
47. Carvajal RD, Nathan P, Sacco JJ, et al. Phase I Study of Safety, Tolerability, and Efficacy of Tebentafusp Using a Step-Up Dosing Regimen and Expansion in Patients With Metastatic Uveal Melanoma. *J Clin Oncol* 2022;40:1939-1948.
48. Hassel JC, Piperno-Neumann S, Rutkowski P, et al. Three-Year Overall Survival with Tebentafusp in Metastatic Uveal Melanoma. *N Engl J Med* 2023;389:2256-2266.
49. Middleton MR, Steven NM, Evans TJ, et al. Safety, pharmacokinetics and efficacy of IMCgp100, a first-in-class soluble TCR-antiCD3 bispecific t cell redirector with solid tumour activity: Results from the FIH study in melanoma. *Journal of Clinical Oncology* 2016;34:3016-3016.
50. Hoek KS, Schlegel NC, Eichhoff OM, et al. Novel MITF targets identified using a two-step DNA microarray strategy. *Pigment Cell Melanoma Res* 2008;21:665-676.
51. Mouriaux F, Vincent S, Kherrouche Z, et al. Microphthalmia transcription factor analysis in posterior uveal melanomas. *Experimental Eye Research* 2003;76:653-661.

52. Du J, Widlund HR, Horstmann MA, et al. Critical role of CDK2 for melanoma growth linked to its melanocyte-specific transcriptional regulation by MITF. *Cancer Cell* 2004;6:565-576.
53. Strub T, Giuliano S, Ye T, et al. Essential role of microphthalmia transcription factor for DNA replication, mitosis and genomic stability in melanoma. *Oncogene* 2011;30:2319-2332.
54. Carreira S, Liu B, Goding CR. The gene encoding the T-box factor Tbx2 is a target for the microphthalmia-associated transcription factor in melanocytes. *J Biol Chem* 2000;275:21920-21927.
55. Garraway LA, Widlund HR, Rubin MA, et al. Integrative genomic analyses identify MITF as a lineage survival oncogene amplified in malignant melanoma. *Nature* 2005;436:117-122.
56. Giuliano S, Cheli Y, Ohanna M, et al. Microphthalmia-Associated Transcription Factor Controls the DNA Damage Response and a Lineage-Specific Senescence Program in Melanomas. *Cancer Research* 2010;70:3813-3822.
57. Carreira S, Goodall J, Denat L, et al. Mitf regulation of Dia1 controls melanoma proliferation and invasiveness. *Genes Dev* 2006;20:3426-3439.
58. Caramel J, Papadogeorgakis E, Hill L, et al. A switch in the expression of embryonic EMT-inducers drives the development of malignant melanoma. *Cancer Cell* 2013;24:466-480.
59. Vandamme N, Denecker G, Bruneel K, et al. The EMT Transcription Factor ZEB2 Promotes Proliferation of Primary and Metastatic Melanoma While Suppressing an Invasive, Mesenchymal-Like Phenotype. *Cancer Res* 2020;80:2983-2995.
60. Denecker G, Vandamme N, Akay O, et al. Identification of a ZEB2-MITF-ZEB1 transcriptional network that controls melanogenesis and melanoma progression. *Cell Death Differ* 2014;21:1250-1261.
61. Cheli Y, Giuliano S, Fenouille N, et al. Hypoxia and MITF control metastatic behaviour in mouse and human melanoma cells. *Oncogene* 2012;31:2461-2470.
62. Cheli Y, Giuliano S, Botton T, et al. Mitf is the key molecular switch between mouse or human melanoma initiating cells and their differentiated progeny. *Oncogene* 2011;30:2307-2318.
63. Matatall KA, Agapova OA, Onken MD, Worley LA, Bowcock AM, Harbour JW. BAP1 deficiency causes loss of melanocytic cell identity in uveal melanoma. *BMC Cancer* 2013;13:371.
64. Pinner S, Jordan P, Sharrock K, et al. Intravital imaging reveals transient changes in pigment production and Brn2 expression during metastatic melanoma dissemination. *Cancer Res* 2009;69:7969-7977.
65. Ikeda H, Lethé B, Lehmann F, et al. Characterization of an Antigen That Is Recognized on a Melanoma Showing Partial HLA Loss by CTL Expressing an NK Inhibitory Receptor. *Immunity* 1997;6:199-208.
66. Weber JS, Vogelzang NJ, Enstoft MS, et al. A Phase 1 Study of a Vaccine Targeting Preferentially Expressed Antigen in Melanoma and Prostate-specific Membrane Antigen in Patients With Advanced Solid Tumors. *J Immunother* 2011;34:556-567.
67. Gutzmer R, Rivoltini L, Levchenko E, et al. Safety and immunogenicity of the PRAME cancer immunotherapeutic in metastatic melanoma: results of a phase I dose escalation study. *ESMO Open* 2016;1:e000068.
68. Pujol JL, De Pas T, Rittmeyer A, et al. Safety and Immunogenicity of the PRAME Cancer Immunotherapeutic in Patients with Resected Non-Small Cell Lung Cancer: A Phase I Dose Escalation Study. *J Thorac Oncol* 2016;11:2208-2217.

69. Lichtenegger FS, Schnorfeil FM, Rothe M, et al. Toll-like receptor 7/8-matured RNA-transduced dendritic cells as post-remission therapy in acute myeloid leukaemia: results of a phase I trial. *Clin Transl Immunology* 2020;9:e1117.
70. Li L, Giannopoulos K, Reinhardt P, et al. Immunotherapy for patients with acute myeloid leukemia using autologous dendritic cells generated from leukemic blasts. *International Journal of Oncology* 2006;28:855-861.
71. Al Malki M, Vasu S, Modi D, et al. Preliminary analysis of a phase 1/2 study of NEXI-001 donor-derived multi-antigen-specific CD8+ T-cells for the treatment of relapsed acute myeloid leukemia (AML) after allogeneic hematopoietic cell transplantation (HCT). *Journal of Clinical Oncology* 2021;39:2538-2538.
72. Lulla PD, Naik S, Vasileiou S, et al. Clinical effects of administering leukemia-specific donor T cells to patients with AML/MDS after allogeneic transplant. *Blood* 2021;137:2585-2597.
73. Hoyos V, Vasileiou S, Kuvalekar M, et al. Multi-antigen-targeted T-cell therapy to treat patients with relapsed/refractory breast cancer. *Ther Adv Med Oncol* 2022;14:17588359221107113.
74. Smaglo BG, Musher BL, Vasileiou S, et al. A phase I trial targeting advanced or metastatic pancreatic cancer using a combination of standard chemotherapy and adoptively transferred nonengineered, multiantigen specific T cells in the first-line setting (TACTOPS). *Journal of Clinical Oncology* 2020;38:4622-4622.
75. Vasileiou S, Lulla PD, Tzannou I, et al. T-Cell Therapy for Lymphoma Using Nonengineered Multiantigen-Targeted T Cells Is Safe and Produces Durable Clinical Effects. *J Clin Oncol* 2021;39:1415-1425.
76. Kinoshita H, Cooke KR, Grant M, et al. Outcome of donor-derived TAA-T cell therapy in patients with high-risk or relapsed acute leukemia post allogeneic BMT. *Blood Adv* 2022;6:2520-2534.
77. Grant M, Fortiz MF, Wang L, et al. EPCT-15. THE REMIND TRIAL: MULTI-ANTIGEN TARGETED T CELLS FOR PEDIATRIC CNS TUMORS. *Neuro Oncol* 2020;22:iii306.
78. Orlando D, Miele E, De Angelis B, et al. Adoptive Immunotherapy Using PRAME-Specific T Cells in Medulloblastoma. *Cancer Res* 2018;78:3337-3349.
79. Sailer N, Fetzter I, Salvermoser M, et al. T-Cells Expressing a Highly Potent PRAME-Specific T-Cell Receptor in Combination with a Chimeric PD1-41BB Co-Stimulatory Receptor Show a Favorable Preclinical Safety Profile and Strong Anti-Tumor Reactivity. *Cancers (Basel)* 2022;14:1998.
80. Griewank KG, Yu X, Khalili J, et al. Genetic and molecular characterization of uveal melanoma cell lines. *Pigment Cell Melanoma Res* 2012;25:182-187.
81. Jager MJ, Magner JA, Ksander BR, Dubovy SR. Uveal Melanoma Cell Lines: Where do they come from? (An American Ophthalmological Society Thesis). *Trans Am Ophthalmol Soc* 2016.