

# Origen del melanocito normal y maligno

## *Origin of normal and malignant melanocytes*

► Mariana Aris

\* Lic. Biotecnología. Fundación Instituto Leloir-  
IIBBA-CONICET

### Resumen

Los melanocitos son células especializadas en la producción de melanina, el principal pigmento responsable de la coloración de la piel, los ojos y el pelo. En este artículo se discute el origen de los melanocitos, su migración durante el desarrollo embrionario desde la cresta neural hasta la epidermis, las señales moleculares implicadas en la adquisición del estado diferenciado y funcional, y el mantenimiento de células de reserva indiferenciadas, o células *stem*. Por otro lado, se relacionan estos eventos con el origen del melanoma, patología tumoral derivada de la transformación de los melanocitos. En particular, se discute la etiología y los diferentes modelos propuestos para explicar el origen de esta enfermedad, como el modelo de las células *stem* tumorales.

**Palabras clave:** melanocito \* origen de los melanocitos \* diferenciación \* modelo de células *stem* tumorales

### Summary

*Melanocytes are specialized cells that produce melanin, the most important pigment responsible for the coloration of skin, eyes and hair. The origin of melanocytes, their migration during the embryo development process from the neural crest to the epidermis, the molecular signals involved in the acquisition of both differentiated and functional states, and the issue of keeping undifferentiated reserve cells or stem cells will be discussed in this article. On the other hand, these facts will be related to the origin of melanoma, tumor pathology derived from the transformation of melanocytes. Particularly, the etiology and the different models proposed to explain the origin of this disease will be discussed, especially the model of cancer stem cells.*

**Keywords:** melanocytes \* origin of melanocytes \* differentiation \* model of tumor stem cells

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

ISSN 1851-6114 en línea

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

## El desarrollo de los melanocitos

Los melanocitos son células especializadas en la producción de melanina, el principal pigmento responsable de la coloración de la piel, los ojos y el pelo. Son críticos en la respuesta a los rayos UV, protegiendo a las células de la piel de un potencial daño al ADN, uno de los mayores factores de riesgo para el cáncer de piel, entre ellos el melanoma.

Durante el desarrollo embrionario en vertebrados se forma la cresta neural (CN) en los extremos dorsales del epitelio neural, dando lugar a células migratorias que colonizan un amplio rango de tejidos embrionarios para dar lugar a diferentes linajes celulares. Entre ellos, neuronas y células de la glía del sistema nervioso periférico (SNP); melanocitos y células endocrinas de las glándulas adrenales y tiroideas y células mesenquimales que forman cartílagos cranofaciales, huesos, dermis, tejido adiposo y células del músculo liso (1).

La formación de la cresta neural y la migración de sus células comienza alrededor de las seis semanas en los embriones humanos. Ahí es cuando los precursores de los melanocitos, los melanoblastos, migran a varios destinos como el iris, el coroides del ojo, el oído interno, la dermis y la epidermis. Además, los precursores se distribuyen en la región del bulbo en los folículos pilosos en desarrollo, donde persisten como células *stem* con capacidad de autorrenovación (2)(3). Se realizaron varios estudios en preparaciones de piel humana en estadios progresivos del desarrollo para estudiar la migración de los melanocitos, revelándolos ya sea por tinción de la melanina con plata (4), expresión del antígeno de diferenciación melanocítica (MD-Ag) HMB45/gp100 (5), o expresión conjunta del MD-Ag MART-1 y del factor de transcripción MITF (factor de transcripción asociado a microftalmia, *microphthalmia-associated transcription factor*) (6). Los resultados obtenidos apoyan la progresión de los melanocitos desde el estrato intradérmico al estrato suprabasal epidérmico, y de ahí al estrato intraepidérmico basal, seguido de la colonización folicular, completando este proceso alrededor de las semanas 15-17 (6). Este patrón de migración es consistente con estudios de migración de melanoblastos durante el desarrollo embrionario murino (7). Cabe destacar que se hallaron células MITF/MART-1 positivas intradérmicas en la semana 20, comúnmente en una distribución perivascular. Esto daría cuenta de la proliferación *de novo* de melanocitos en la dermis, pudiendo dar lugar a nevi benignos o melanoma.

## Vías moleculares implicadas en el desarrollo de melanocitos

Una de las principales preguntas es cómo se especifican los melanocitos desde las células de la cresta neural. Se sabe que los programas de expresión de genes que dirigen los diferentes linajes celulares desde precursores celulares no-especificados son el resultado de interacciones complejas entre las señales celulares extrínsecas y los factores de transcripción intrínsecos. En los melanocitos, se propone que la integración de señales convergen en un "punto nodal", en donde MITF actuaría como principal regulador del desarrollo de los melanocitos, controlando la activación de genes río abajo (*downstream*), cumpliendo un rol esencial en la supervivencia, migración, proliferación y diferenciación (8)(9). Entre los genes *target* se incluyen aquellos involucrados en supervivencia celular (Bcl2, Met) (10)(11), proliferación celular (p21, p16, CDK2) (12-14), y diferenciación (Tyr, Tyrp1, Dct, gp100, MART-1, MC1R) (15-19).

La vía WNT es esencial para la inducción de la CN y el desarrollo de los melanocitos. En la vía canónica WNT/ $\beta$ -catenina, cuando el ligando WNT se une a su receptor (Frizzled), se acumula  $\beta$ -catenina que ingresa al núcleo e interactúa con

miembros de la familia de factores de transcripción Lef1/Tcf (factor de unión activador linfocítico 1/ factor específico de células T).  $\beta$ -catenina y Lef-1 interactúan en forma directa con el activador/promotor de MITF para activar la transcripción de MITF (20)(21). Los factores de transcripción neural Sox10 y PAX3 también contribuyen al compromiso celular, activando en forma sinérgica la expresión de MITF (22).

Aunque la expresión de muchos marcadores melanocíticos/de pigmentación se pierde en el melanoma humano, la expresión de MITF se conserva, aún en tumores sin pigmentar, sugiriendo un rol para MITF más allá de la diferenciación.  $\beta$ -catenina potencia el crecimiento de las células de melanoma en forma dependiente de MITF, ya que la supresión del crecimiento clonogénico por disrupción del factor LEF es rescatado por MITF constitutivo por un mecanismo pro-sobrevivencia. Por tanto, la regulación de  $\beta$ -catenina por MITF representa una vía tejido-específica para controlar el crecimiento del tumor (23).

Los melanocitos diferenciados se caracterizan por su morfología dendrítica y la acumulación de melanina en los melanosomas y su tráfico. La biosíntesis de la melanina involucra varias enzimas, siendo las principales tirosinasa (Tyr) y las proteínas relacionadas a tirosinasa Trp1 y Trp2 (o dopacromo tautomerasa, Dct). Normalmente, los melanosomas maduran desde organelas indiferenciadas y no pigmentadas (melanosomas estadio I) a organelas diferenciadas y pigmentadas (melanosomas estadio IV). Los melanosomas maduros se unen a microtúbulos y son transportados hacia la periferia de las células previo a su transferencia a los queratinocitos [24]. La donación de melanosomas desde los melanocitos a los queratinocitos vecinos es crítica en orden de proteger su ADN de la radiación UV. En este proceso, los melanocitos adquieren una morfología dendrítica, con muchas proyecciones interactuando con queratinocitos vecinos en un radio 1:40. Esta interacción contribuye a la homeostasis de los melanocitos. De hecho, las proteínas relacionadas en promover la adhesión a la membrana basal, como CCN3, están correlacionadas en forma inversa con la progresión del melanoma (25).

PAX3 tiene un rol establecido en el desarrollo de los melanocitos durante la embriogénesis, y en el melanocito maduro fue descrito su rol como interruptor molecular, promoviendo el fenotipo melanocítico pero bloqueando la diferenciación terminal (26). Cabe destacar que este mecanismo podría contribuir al crecimiento celular descontrolado y a la pérdida de la diferenciación terminal en los melanomas. De hecho, se encontró que PAX3 está comúnmente expresado en melanomas primarios y en varias líneas celulares, mientras que está significativamente menos expresado en lesiones benignas pigmentadas (27). Otros análisis revelan que la expresión de PAX3 está fuertemente correlacionada con pacientes jóvenes con poca o sin evidencia de daño solar, dando evidencia de factores genéticos más que ambientales que contribuyen a los melanomas PAX3 (+).

El mantenimiento del estado diferenciado se basa principalmente en respuesta a señales ambientales. Las vías de señalización EDNRB y KIT están implicadas en inducir la fosforilación de MITF y promover la pigmentación en los melanocitos maduros (28)(29). Además, la señalización SCF-KIT lleva a la fosforilación de MITF y en consecuencia a un incremento en el gen antiapoptótico Bcl-2, crítico para la supervivencia de los melanocitos [10]. Bcl-2 está involucrado en el mantenimiento de las células *stem* melanocíticas, siendo

su déficit responsable por la pérdida de pigmentación en el pelo en ratones y humanos (2) (3). Los melanocitos incrementan la producción de melanina y su dispersión en respuesta a radiaciones UV y a otros tipos de estrés (29). Uno de los determinantes principales de la pigmentación fenotípica es el receptor de melanocortina 1 (MC1R), un receptor acoplado a proteína G activado por la hormona estimulante de melanocitos ( $\alpha$ -MSH) y la hormona adrenocorticotrópica (ACTH), regulando la cantidad y la calidad de síntesis de melanina (30). En los melanocitos epidérmicos humanos, el UVB estimula el incremento de los niveles de AMPc intracelular, activando MITF y dando lugar a una mayor pigmentación (31).

### DESARROLLO DEL MELANOMA

De acuerdo con el modelo tradicional de Clark para describir la progresión del melanoma, el primer cambio en los melanocitos es el desarrollo del nevi benigno, que está compuesto de melanocitos nevales. Mutaciones adicionales darían lugar a nevi displásicos, con crecimiento aberrante y citología atípica al azar. Luego, las mutaciones transformantes malignas darían lugar a células de melanoma, proliferando a través de la epidermis (fase de crecimiento radial), invadiendo la dermis (fase de crecimiento vertical) y desde ahí a otros órganos (metástasis).

Una de las principales preguntas es si los nevi son necesarios para el desarrollo del melanoma. Uno de los estudios de datos clínicos recolectados de pacientes diagnosticados con melanoma encontraron que el melanoma cutáneo (MC) surgía de los nevi por lo menos en la mitad de los casos ( $n=377$ ), por lo que un melanoma podría desarrollarse sin requerir de un nevus como precursor (32). Sin embargo, el MC que surge de un nevus pre-existente podría presentar un Breslow mayor (32). Un nevus puede ser descrito como la proliferación benigna de células de origen clonal que expresan el fenotipo melanocítico (33). Los nevi se pueden desarrollar en forma congénita o ser adquiridos durante la vida. Está aceptado que los nevi tienen su origen en una célula precursora mutada, y que las células tienden a proliferar, migrar y diferenciarse desde la dermis hacia la epidermis (34). Sin embargo, experimentos con cultivos de melanocitos transformados muestran que estas células pueden penetrar en el componente dermal en un trasplante, indicando que la migración de la epidermis hacia la dermis también es posible (35).

Hay diferentes patrones de nevi, y el patrón de crecimiento es considerado una consecuencia de la mutación subyacente y de influencias locales en el crecimiento local y en la supervivencia. Las mutaciones en N-Ras son frecuentemente encontradas en los nevi congénitos, mientras que las mutaciones en B-Raf en los nevi adquiridos (36) (37). La activación de N-Ras conlleva a la activación de varias vías, incluyendo la vía PI3 quinasa, Raf y Braf, MAPK y ERK. De hecho, el cultivo de células de nevus requiere menos factores de crecimiento que los melanocitos normales, implicando que aunque no sean células malignas presentan una mayor independencia de mecanismos homeostáticos (38).

Hoy en día, a través de modalidades *in vivo*, como la dermoscopia y la microscopia confocal de reflectancia (MCR), se pueden visualizar estructuras dermoscópicas subsuperficiales. Esto ayudó a establecer un origen dérmico para los nevi intradérmicos/compuestos y un origen epidérmico para los

nevi de unión. También a describir similitudes morfológicas entre el nevi globular y el melanoma nodular (MN), y entre el nevi reticular y el melanoma de crecimiento superficial (MCS), llevando a proponer un modelo de progresión para estos dos tipos de melanoma (34).

No está muy claro por qué algunos melanomas se desarrollan a partir de un nevus y por qué otros no. Una explicación posible es que el melanoma se desarrolle a partir de una célula *stem* de melanocitos mutada. Inicialmente, las mutaciones se podrían acumular en una célula *stem* melanocítica quiescente. Eventualmente, señales ambientales apropiadas podrían activar una proliferación celular aberrante debido a mutaciones previas. Dependiendo de la naturaleza de las mutaciones iniciales, podría haber una fase de nevi benigno, requiriendo de mutaciones transformantes adicionales, o un melanoma se podría desarrollar *ab initio*. En este escenario, los nevi podrían ser un estadio posible pero no necesario para el desarrollo del melanoma. Las células transformadas tratarían de seguir vías de diferenciación normales, incluyendo la migración hacia la epidermis. Los factores de crecimiento epidérmicos podrían llevar a una mayor proliferación y diferenciación, mientras que las mutaciones acumuladas podrían dar lugar a diferentes subclones, con mayor independencia del sustrato y de los factores de crecimiento, con patrones aberrantes de migración hacia la dermis, incluyendo nervios y vasos linfáticos. Eventualmente, células clonogénicas no-adherentes podrían ser lavadas fuera del sistema linfático y a la circulación sistémica, donde bajo condiciones apropiadas se podría reiniciar el proceso en otros órganos. Si el melanoma se desarrolla migrando desde o hacia la dermis, todavía está en discusión. Sin embargo, en cualquiera de los dos escenarios, cuanto más profundo se encuentre el tumor en el tejido dermal, menores serán los requerimientos de factores epidérmicos, y mayor el riesgo de que el tumor sea capaz de proliferar más allá de la piel y metastatizar.

Las células *stem* o precursoras acumularían mutaciones que disminuirían su capacidad de diferenciarse según las vías melanocíticas normales, desenmascarando un proceso de dediferenciación y dando cuenta de la heterogeneidad antigénica. Este modelo propone una transformación progresiva desde las células *stem* melanocíticas (CSM) normales  $\rightarrow$  CSM benignas mutadas  $\rightarrow$  CSM malignas  $\rightarrow$  células melanocíticas clonogénicas, células con crecimiento independiente de anclaje capaz de migrar y dar lugar a la metástasis. Estas poblaciones pueden expresar diferentes antígenos y por lo tanto dar lugar a la proliferación de diferentes clones de linfocitos B y T.

El modelo estocástico propone que la mayoría de las células dentro de un tumor tienen el potencial de proliferar en forma extensa y dar lugar a nuevos tumores [39]. En forma opuesta, el modelo de las células *stem* tumorales (CST) propone para explicar la heterogeneidad de un tumor que sólo una subpoblación de células, llamadas células *stem* tumorales, son capaces de proliferar en forma extensa y dar lugar a nuevos tumores. Es decir, propone un modelo jerárquico de heterogeneidad tumoral en donde las CST, en forma análoga a las células *stem* normales, presentan capacidad de autorrenovación y de dar lugar a poblaciones de células tumorales menos proliferativas y más diferenciadas. De hecho, las CST serían la única población capaz de formar nuevos tumores luego de ser transplantadas. Por lo tanto, sería crucial dirigirse contra esta población de CSTs, o células iniciadoras de tumor, para erradicar los tumores en forma eficiente.

Se han hecho algunos intentos de aislar y caracterizar células *stem* de melanoma (CSM). Uno de los primeros estudios describe el enriquecimiento en esferas no-adherentes de melanoma en medio de células *stem* embrionarias (40), las cuales pueden propagarse *in vitro* por varios pasajes (auto-renovación), diferenciarse a distintos linajes, recapitular la plasticidad de las células *stem* neurales, y resultando ser más tumorigénicas que las células adherentes en ratones inmunodeficientes. Además, la fracción positiva CD20<sup>+</sup> fue enriquecida en esferas, con mayor potencial de diferenciación. Otros han aislado CSM putativas que tenían la habilidad de efluir el colorante vital Hoechst, en forma análoga a las células *stem* de leucemia (41). Otro grupo estudió el marcador CD133 en melanoma, un marcador de células *stem* en otras patologías como el glioblastoma (42). Las células CD133<sup>+</sup>, una población minoritaria en varias muestras de melanoma, presentaron un potencial tumorigénico incrementado en ratones NOD/SCID (43). La expresión de los marcadores de célula *stem* CD133, CD166 y Nestina también fue estudiada por inmunohistoquímica en biopsias de melanoma (44). Se encontró que su expresión estaba incrementada en el melanoma con respecto a los nevi; en especial se encontró Nestina sobreexpresada en melanoma metastásico.

Otro trabajo describió que el receptor ABCB5, positivo en una subpoblación CD133<sup>+</sup> en biopsias de melanoma y líneas celulares, sería responsable del transporte de la doxorubicina y por tanto de su resistencia a la misma (45). Más adelante, se encontró que sólo las células ABCB5<sup>+</sup> obtenidas de muestras de melanoma serían capaces de formar tumores en ratones NOD/SCID (46). Se demostró que las células ABCB5<sup>+</sup> tendrían capacidad de proliferación, autorrenovación y diferenciación tumoral en un modelo competitivo de desarrollo de tumores. Además, el establecimiento y crecimiento de tumores podía ser inhibido en ratones NOD/SCID, deplecionando células iniciadoras de tumor ABCB5<sup>+</sup> con un anticuerpo monoclonal anti-ABCB5, dando cuenta de ABCB5 como un prometedor marcador de células *stem* de melanoma.

Recientemente, se ha reportado que modificando las condiciones de xenotransplante, la frecuencia de las células tumorigénicas de melanoma podría incrementarse en forma dramática (47). Se demostró que en un ratón inmunocomprometido NOD/SCID y deficiente en el receptor gama de interleuquina-2 y empleando matrigel como soporte, el potencial tumorigénico podía incrementarse en varios órdenes de magnitud. En todas las muestras (12 pacientes), el 25% de las células sin seleccionar darían lugar a tumores en estas condiciones más permisivas. Además, en experimentos de trasplante de una sola célula, el 27% de células sin seleccionar generarían tumor. En este trabajo concluyeron que las células tumorigénicas serían común en todos los tumores de melanoma, ya sean procedentes de tumores primarios como metastásicos. Estos resultados llaman a ver en qué condiciones se realizan los xenotransplantes para asegurar que una subpoblación tiene potencial tumorigénico diferencial.

Aún queda mucho por estudiar del desarrollo de los melanocitos en estadios fisiológicos y patológicos, y así enriquecer el conocimiento en el desarrollo del melanoma.

#### CORRESPONDENCIA

LIC. MARIANA ARIS  
Fundación Instituto Leloir  
Patricias Argentinas 435. C1405 BWQ CAPITAL FEDERAL  
E-mail: mariana.aris@gmail.com

## Referencias bibliográficas

1. Raible DW. Development of the neural crest: achieving specificity in regulatory pathways. *Curr Opin Cell Biol* 2006; 18: 698-703.
2. Nishimura EK, Jordan SA, Oshima H, Yashida H, Osawa M, Moriyama M, *et al.* Dominant role of the niche in melanocyte stem cell fate determination. *Nature* 2002; 416: 854-60.
3. Nishimura EK, Granter SR, Fisher DE. Mechanisms of hair graying: incomplete melanocyte stem cell maintenance in the niche. *Science* 2005; 307: 720-4.
4. Zimmerman AA CT. The development of epidermal pigmentation in the Negro fetus. *J Invest Dermatol* 1948; 11: 383-95.
5. Suder E, Bruzewicz S. Melanocytes of fetal dermis - studies with anti-HMB-45 antibody. *Med Sci Monit* 2004; 10: BR229-32.
6. Gleason BC, Crum CP, Murphy GF. Expression patterns of MITF during human cutaneous embryogenesis: evidence for bulge epithelial expression and persistence of dermal melanoblasts. *J Cutan Pathol* 2008; 35: 615-22.
7. Wilkie AL, Jordan SA, Jackson IJ. Neural crest progenitors of the melanocyte lineage: coat colour patterns revisited. *Development* 2002; 129: 3349-57.
8. Tachibana M, Takeda K, Nobukuni Y, Urabe K, Long JE, Meyer KA, *et al.* Ectopic expression of MITF, a gene for Waardenburg syndrome type 2, converts fibroblasts to cells with melanocyte characteristics. *Nat Genet* 1996; 14: 50-4.
9. Opdecamp K, Nakayama A, Nguyen MT, Hodgkinson CA, Pavan WS, Arnheiter H. Melanocyte development *in vivo* and in neural crest cell cultures: crucial dependence on the Mitf basic-helix-loop-helix-zipper transcription factor. *Development* 1997; 124: 2377-86.
10. McGill GG, Horstmann M, Widlund HR, Du J, Motychova G, Nishimura EK, *et al.* Bcl2 regulation by the melanocyte master regulator Mitf modulates lineage survival and melanoma cell viability. *Cell* 2002; 109: 707-18.
11. McGill GG, Haq R, Nishimura EK, Fisher DE. c-Met expression is regulated by Mitf in the melanocyte lineage. *J Biol Chem* 2006; 281: 10365-73.
12. Loercher AE, Tank EM, Delston RB, Harbour JW. MITF links differentiation with cell cycle arrest in melanocytes by transcriptional activation of INK4A. *J Cell Biol* 2005; 168: 35-40.
13. Du J, Widlund HR, Horstmann MA, Ramaswamy S, Ross K, Huber WE, *et al.* Critical role of CDK2 for melanoma growth linked to its melanocyte-specific transcriptional regulation by MITF. *Cancer Cell* 2004; 6: 565-76.
14. Carreira S, Goodall J, Aksan I, La Rocca SA, Galibert MD, Denat L, *et al.* Mitf cooperates with Rb1 and activates p21Cip1 expression to regulate cell cycle progression. *Nature* 2005; 433: 764-9.
15. Yasumoto K, Yokoyama K, Shibata K, Tomita Y, Shibahara S. Microphthalmia-associated transcription factor as a regulator for melanocyte-specific transcription of the human tyrosinase gene. *Mol Cell Biol* 1995; 15: 1833.
16. Du J, Miller AJ, Widlund HR, Horstmann MA, Ramaswamy S, Fisher DE. MLANA/MART1 and SILV/PMEL17/GP100 are transcriptionally regulated by MITF in melanocytes and melanoma. *Am J Pathol* 2003; 163: 333-43.
17. Ludwig A, Rehberg S, Wegner M. Melanocyte-specific expression of dopachrome tautomerase is dependent on synergistic gene activation by the Sox10 and Mitf transcription factors. *FEBS Lett* 2004; 556: 236-44.
18. Fang D, Tsuji Y, Setaluri V. Selective down-regulation of tyrosinase family gene TYRP1 by inhibition of the activity of melanocyte transcription factor, MITF. *Nucleic Acids Res* 2002; 30: 3096-106.



19. Aoki H, Moro O. Involvement of microphthalmia-associated transcription factor (MITF) in expression of human melanocortin-1 receptor (MC1R). *Life Sci* 2002; 71: 2171-9.
20. Takeda K, Yasumoto K, Takada R, Takada S, Watanabe K, Udono T, *et al.* Induction of melanocyte-specific microphthalmia-associated transcription factor by Wnt-3a. *J Biol Chem* 2000; 275: 14013-6.
21. Yasumoto K, Takeda K, Saito H, Watanabe K, Takahashi K, Shibahara S. Microphthalmia-associated transcription factor interacts with LEF-1, a mediator of Wnt signaling. *Embo J* 2002; 21: 2703-14.
22. Potterf SB, Furumura M, Dunn KJ, Arnheiter H, Pavan WJ. Transcription factor hierarchy in Waardenburg syndrome: regulation of MITF expression by SOX10 and PAX3. *Hum Genet* 2000; 107: 1-6.
23. Widlund HR, Horstmann MA, Price ER, Lui J, Lessnick SL, Wu M, *et al.* Beta-catenin-induced melanoma growth requires the downstream target Microphthalmia-associated transcription factor. *J Cell Biol* 2002; 158: 1079-87.
24. Watabe H, Valencia JC, Le Pape E, Yamaguchi Y, Nakamura M, Rouzand E, *et al.* Involvement of dynein and spectrin with early melanosome transport and melanosomal protein trafficking. *J Invest Dermatol* 2008; 128: 162-74.
25. Fukunaga-Kalabis M, Martinez G, Liu ZJ, Kalabis J, Mrass P, Weninger W, *et al.* CCN3 controls 3D spatial localization of melanocytes in the human skin through DDR1. *J Cell Biol* 2006; 175: 563-9.
26. Lang D, Lu MM, Huang L, Engleka KA, Zhang M, Chu EY, *et al.* Pax3 functions at a nodal point in melanocyte stem cell differentiation. *Nature* 2005; 433: 884-7.
27. Plummer RS, Shea CR, Nelson M, Powell SK, Freeman DM, Dan CP, *et al.* PAX3 expression in primary melanomas and nevi. *Mod Pathol* 2008; 21: 525-30.
28. Grichnik JM, Burch JA, Burchette J, Shea CR. The SCF/KIT pathway plays a critical role in the control of normal human melanocyte homeostasis. *J Invest Dermatol* 1998; 111: 233-8.
29. Costin GE, Hearing VJ. Human skin pigmentation: melanocytes modulate skin color in response to stress. *Faseb J* 2007; 21: 976-94.
30. Suzuki I, Cone RD, Im S, Nordlund J, Abdel-Malek ZA. Binding of melanotropic hormones to the melanocortin receptor MC1R on human melanocytes stimulates proliferation and melanogenesis. *Endocrinology* 1996; 137: 1627-33.
31. Passeron T, Valencia JC, Bertolotto C, Hoashi T, Le Pape E, Takahashi K, *et al.* SOX9 is a key player in ultraviolet B-induced melanocyte differentiation and pigmentation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 13984-9.
32. Weatherhead SC, Haniffa M, Lawrence CM. Melanomas arising from naevi and de novo melanomas—does origin matter? *Br J Dermatol* 2007; 156: 72-6.
33. Hui P, Perkins A, Glusac E. Assessment of clonality in melanocytic nevi. *J Cutan Pathol* 2001; 28: 140-4.
34. Zalaudek I, Leinweber B, Hofmann-Wellenhof R, Scope A, Marghoob AA, Ferrara G, *et al.* The epidermal and dermal origin of melanocytic tumors: theoretical considerations based on epidemiologic, clinical, and histopathologic findings. *Am J Dermatopathol* 2008; 30: 403-6.
35. Chudnovsky Y, Adams AE, Robbins PB, Lin Q, Khavari PA. Use of human tissue to assess the oncogenic activity of melanoma-associated mutations. *Nat Genet* 2005; 37: 745-9.
36. Bauer J, Curtin JA, Pinkel D, Bastian BC. Congenital melanocytic nevi frequently harbor NRAS mutations but no BRAF mutations. *J Invest Dermatol* 2007; 127: 179-82.
37. Ichii-Nakato N, Takata M, Takayanagi S. High frequency of BRAFV600E mutation in acquired nevi and small congenital nevi, but low frequency of mutation in medium-sized congenital nevi. *J Invest Dermatol* 2006; 126: 2111-8.
38. Alanko T, Rosenberg M, Saksela O. FGF expression allows nevus cells to survive in three-dimensional collagen gel under conditions that induce apoptosis in normal human melanocytes. *J Invest Dermatol* 1999; 113: 111-6.
39. Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature* 2001; 414: 105-11.
40. Fang D, Nguyen TK, Leishear K, Finko R, Kulp AN, Hotz S, *et al.* A tumorigenic subpopulation with stem cell properties in melanomas. *Cancer Res* 2005; 65: 9328-37.
41. Grichnik JM, Burch JA, Schulteis RD, Sham S, Liu J, Darrow TL, *et al.* Melanoma, a tumor based on a mutant stem cell? *J Invest Dermatol* 2006; 126: 142-53.
42. Galli R, Binda E, Orfanelli U, Cipelletti B, Gritti A, De Vitis S, *et al.* Isolation and characterization of tumorigenic, stem-like neural precursors from human glioblastoma. *Cancer Res* 2004; 64: 7011-21.
43. Monzani E, Facchetti F, Galmozzi E, Corzini E, Benetti A, Cavazzini C, *et al.* Melanoma contains CD133 and ABCG2 positive cells with enhanced tumorigenic potential. *Eur J Cancer* 2007; 43: 935-46.
44. Klein WM, Wu BP, Zhao S, Wu H, Klein-Szanto AJ, Tahan SR. Increased expression of stem cell markers in malignant melanoma. *Mod Pathol* 2007; 20: 102-7.
45. Frank NY, Margaryan A, Huang Y, Schatton T, Waaga-Gasser AM, Gasser M, *et al.* ABCB5-mediated doxorubicin transport and chemoresistance in human malignant melanoma. *Cancer Res* 2005; 65: 4320-33.
46. Schatton T, Murphy GF, Frank NY, Yamaura K, Waaga-Gasser AM, Gasser M, *et al.* Identification of cells initiating human melanomas. *Nature* 2008; 451: 345-9.
47. Quintana E, Shackleton M, Sabel MS, Fullen DR, Johnson TM, Morrison SJ, *et al.* Efficient tumour formation by single human melanoma cells. *Nature* 2008; 456: 593-8.

Aceptado para su publicación el 25 de septiembre de 2009