

JC GIUGNO 2026



Carcinoma ovarico, FOLR1, Anticorpo-farmaco coniugati ed Immunoistochimica.

A cura di Carlo Della Ragione, componente del Consiglio Direttivo AITIC.

Il carcinoma ovarico, insieme al carcinoma peritoneale e a quello delle tube di falloppio, è la principale neoplasia tra quelle ginecologiche. La sopravvivenza a 5 anni negli stati uniti tra il 2014 ed il 2020 è stata stimata intorno al 51%.

Il carcinoma ovarico sieroso di alto grado (HGSOC) è l'istotipo più diffuso (70-75 %) tra tutti i carcinomi ovarici. Altri sottotipi, meno comuni, includono il carcinoma sieroso di basso grado, il carcinoma endometrioide, il carcinoma a cellule chiare ed il carcinoma mucinoso.

I trattamenti utilizzati negli ultimi 40 anni, fino al 2020 circa, si sono limitati alla sola escissione chirurgica ed alla chemioterapia, impiegata sia come trattamento neoadiuvante che adiuvante, soprattutto con preparati a base di cisplatino.

L'80% dei pazienti, tuttavia, dopo una iniziale risposta al farmaco, mostra una ricaduta (progressione della malattia ≤ 6 mesi dopo la fine del trattamento) diventando, inoltre, anche resistenti ai successivi trattamenti al farmaco.

I trattamenti successivi con sostituti del cisplatino, con o senza l'aggiunta dell'agente anti-angiogenico bevacizumab, risultano anch'essi poco efficaci (sopravvivenza dopo resistenza al cisplatino = 12-14 mesi).

I trattamenti immunoterapici rivolti verso i check-point immunitari (asse PD1/PD-L1), anch'essi sperimentati in vari studi, così come la ricerca di proteine "driver" da bersagliare con anticorpi monoclonali o "small molecule", impiegati in maniera efficace come alternative ai farmaci chemioterapici in altri tipi di patologie, si sono rivelati purtroppo inefficaci nei confronti del carcinoma ovarico.

Negli ultimi anni invece, diversi studi sperimentali, sono stati rivolti verso il recettore dei folati (FR α) una proteina spesso iper-espressa in questo tipo di tumore.

FR α

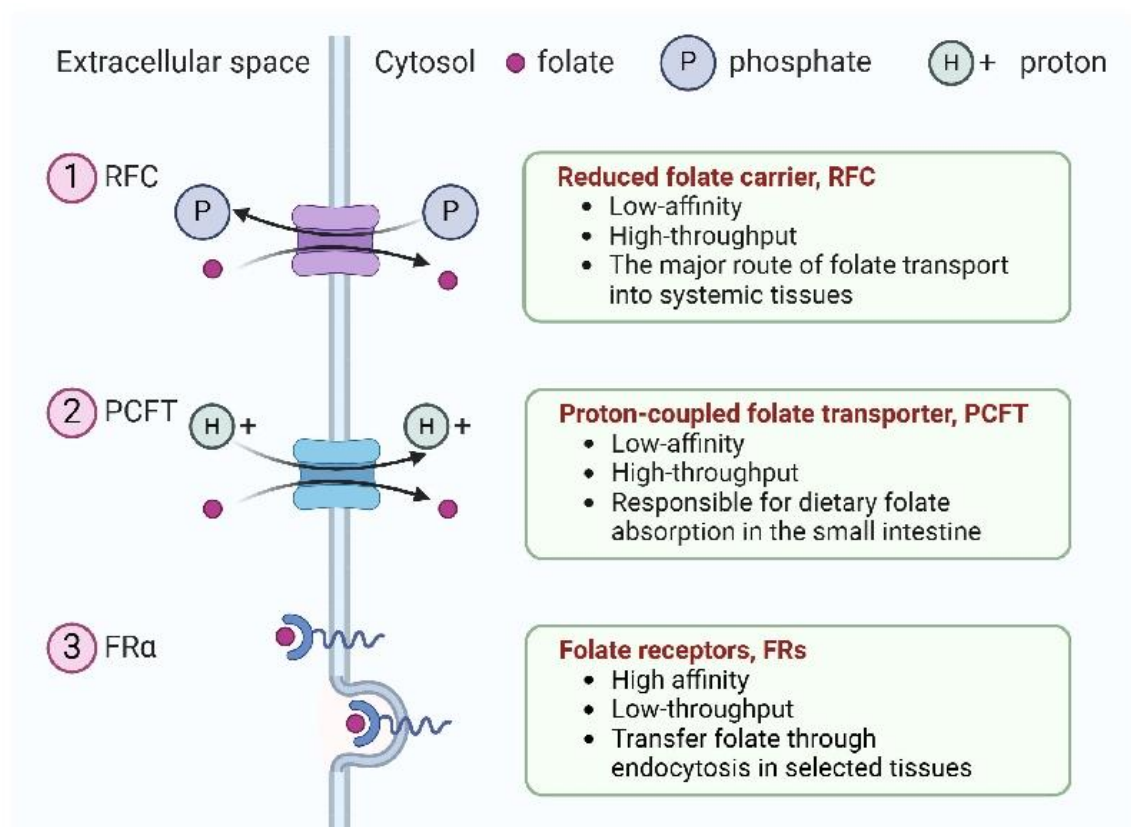
L'acido folico entra a far parte e promuove il cosiddetto "ciclo dei folati" o "one-carbon cycle", un'attività fondamentale per la proliferazione, crescita e differenziazione delle cellule eucariotiche.

L'essere umano non è capace di sintetizzare questa vitamina che introduce quindi attraverso l'alimentazione.

L'assorbimento della vitamina all'interno della cellula è garantita da tre tipi di trasportatori dei folati:

- 1) Il trasportatore dei folati ridotti (RFC) che agisce attraverso uno scambio di folati con ioni fosfato
- 2) Il trasportatore dei folati accoppiato a protoni (PCFT) che agisce attraverso una differenza di potenziale mediante ioni H⁺
- 3) I recettori dei folati (FRs) che agiscono attraverso un sistema di endocitosi. (Figura1)⁽¹⁰⁾

FIG. 1



Ad essere responsabili della maggior parte dei folati introdotti, sono tuttavia i due trasportatori RFC e PCFT, anche nei casi in cui la cellula iper-esprime FRs. E' quindi improbabile che il meccanismo "driver" del tumore, nelle cellule che iper-esprimono FR α , sia l'aumentata introduzione dei folati ed il conseguente aumento del "one-carbon cycle".

In base a studi su cavie animali, altre ipotesi, connesse all' aumento dell' $FR\alpha$ e l'insorgenza tumorale sono state avanzate, tra cui:

- a) Il complesso $FR\alpha$ trasloca all' interno del nucleo e promuove fattori di trascrizione per diversi geni della proliferazione tra cui Oct4, Sox2, Klf4, Hes1, FgFr4.
- b) Il complesso $FR\alpha$ -acido folico ($FR\alpha$ -FA) interagisce con la proteina gp130 e attiva la via di trasmissione del segnale JAK-STAT3, promuovendo l'attivazione di diversi geni della proliferazione (associati a prognosi maggiormente sfavorevoli)
- c) Il complesso $FR\alpha$ -FA interagisce con il recettore del progesterone e promuove la fosforilazione di ERK1 ed ERK2.
- d) Il complesso $FR\alpha$ -FA riduce la molecola di adesione E-Caderina favorendo, in questo modo, lo sviluppo di metastasi.

La famiglia dei recettori dei folati è composta da 4 membri:

- 1) $FR\alpha$, codificato dal gene FOLR1, è il più diffuso e studiato ed è presente sulla membrana cellulare di diversi tessuti.
- 2) $FR\beta$, codificato dal gene FOLR2, è presente sulla membrana cellulare di placenta, cellule mieloidi e macrofagi.
- 3) $FR\gamma$, codificato dal gene FOLR3, è una proteina di secrezione che ha perso la capacità di ancorarsi alla membrana cellulare.
- 4) $FR\delta$, codificato dal gene FOLR4, è presente sulla superficie degli ovociti ma è privo di tasca per i folati e la sua funzione, vista la capacità di interagire con la proteina IZUM01, presente sulla membrana degli spermatozoi, si ritiene sia indispensabile per la capacità di fecondare.

Antibody-drug conjugated (ADC)

La categoria dei farmaci ADC usa un sistema composto da un anticorpo monoclonale diretto contro una proteina, spesso un recettore, generalmente iper-espresso sulla membrana delle cellule tumorali e non su quella delle cellule sane, coniugato ad una molecola citotossica per la cellula. Il legame tra anticorpo coniugato e recettore di membrana permette al composto di entrare all' interno della cellula ed esplicare la sua funzione citotossica inducendo così la cellula tumorale all' apoptosi.

$FR\alpha$ e MIRV

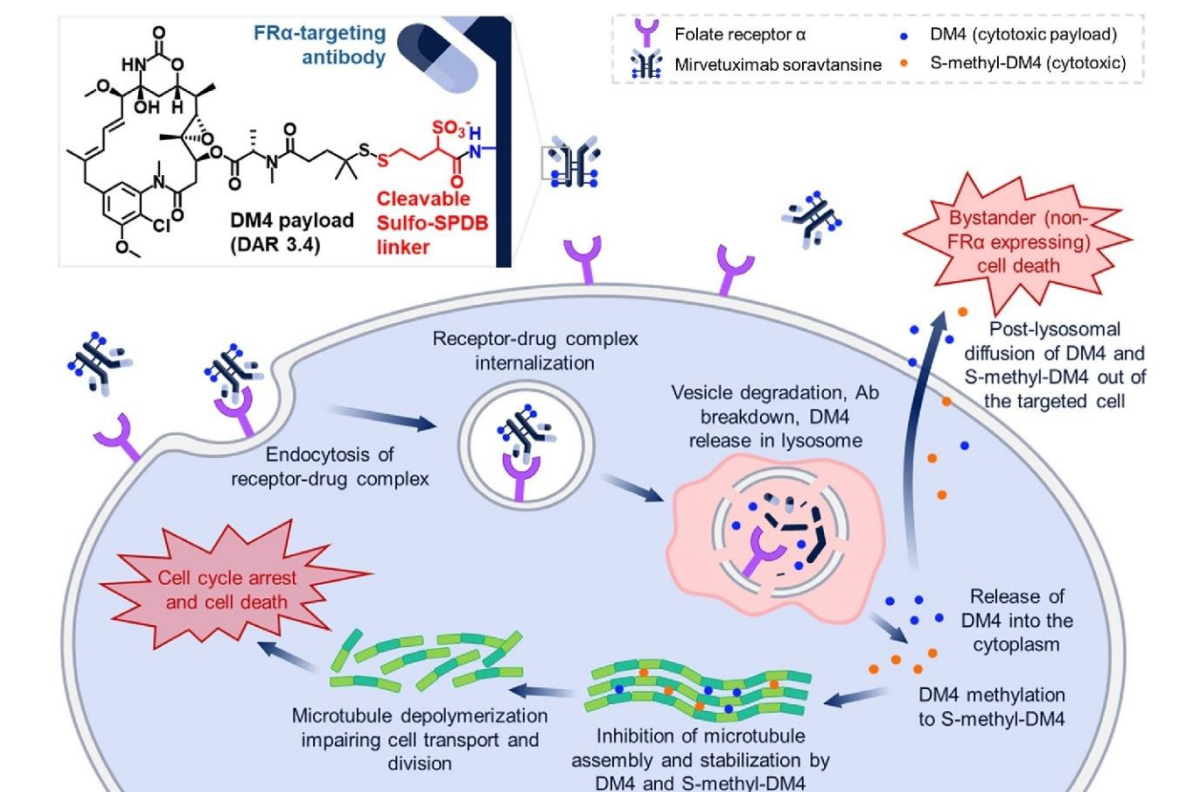
$FR\alpha$, iper-espresso sulla membrana delle cellule di carcinoma ovarico, ha come funzione normale quella di trasportare i folati all' interno della cellula così come grosse molecole ad esso legato, attraverso un meccanismo di internalizzazione, ovvero una invaginazione della membrana (endocitosi) in modo che il ligando sia poi rilasciato all' interno della cellula.

Il Mirvetuximab soravtansine (MIRV) è un farmaco appartenente alla categoria ADC. Si compone di un anticorpo monoclonale diretto contro il recettore dei folati $FR\alpha$ coniugato, attraverso un linker (sulfo-SPDB), ad una molecola citotossica chiamata DM4 (cytotoxic maytansionoid effector molecule) che, una volta introdotto all' interno della cellula, viene trasportata al complesso lisosomiale attraverso il sistema delle vescicole intracellulari. All' interno dei lisosomi, la molecola SPDB-DM4 viene degradata a S-methyl-DM4 e DM4 che fungono da principi attivi per inibire l'assemblamento dei microtubuli e la conseguente

polimerizzazione degli stessi (anti-tubulin activity), attività indispensabile per la vita cellulare, inducendo così la stessa all'apoptosi.

I prodotti di degradazione dell'SPDB-DM4, essendo composti stabili, a base lipidica e quindi idrofobici, a basso peso molecolare e a carica neutra, sono capaci da sé di attraversare la membrana cellulare ed andare a penetrare anche nelle cellule tumorali circostanti, esplicando anche in queste, la loro funzione citotossica. (Figura 2)⁽¹¹⁾

FIG. 2



Approvazione del MIRV

Diversi studi clinici sono stati condotti negli ultimi anni per il trattamento dei pazienti affetti da HGSOC resistenti al trattamento con chemioterapici in seconda o terza linea con il Mirvetuximab soravtansine e l'US-FDA, a seguito dei risultati incoraggianti del trial clinico di fase II "SORAYA" ha approvato in via "accelerata", nel novembre del 2022, la somministrazione del MIRV (nome commerciale *ELAHERE*) nei pazienti affetti da HGSOC resistenti al trattamento con cisplatino in seconda o terza linea. Questo è il primo farmaco approvato della categoria dei farmaci anticorpo-farmaco coniugati (ADC - "antibody-drug conjugated") ed ha come bersaglio appunto il recettore dei folati alfa (FRα).

Il MIRV è stato poi approvato in via definitiva, a seguito del trial clinico di fase III "MIRASOL", sia dall'US-FDA (marzo 2024) che dall'EMA (novembre 2024) che dalla Swissmedic (marzo 2025).

L'agenzia italiana del farmaco (AIFA) ne ha introdotto la distribuzione in Italia nel gennaio 2025⁽¹⁾.

Tutti i trials sono stati accompagnati dalla determinazione del recettore di membrana FR α e i risultati incoraggianti si sono avuti con i pazienti che mostravano una espressione del recettore con intensità 2+ o 3+ in almeno il 75% delle cellule neoplastiche. Le analisi sono state condotte con il test "Ventana FOLR1 RxDx" su tessuti fissati in formalina ed inclusi in paraffina (FFPE) che si è dimostrato essere il test più robusto e sensibile tra quelli utilizzati. Il test, quindi, è stato approvato anche come "Companion Test" da eseguire su piattaforma automatica "BenchMark Ultra" (Roche Diagnostic International) con sistema di rivelazione "OptiView-DAB IHC".

FOLR1 & IHC

Diversi gruppi hanno testato e studiato il Companion Test approvato per la determinazione di FR α al fine di confermarne la robustezza, l'interpretazione ed il confronto con altre piattaforme⁽²⁻⁷⁾.

Ad oggi sono considerati positivi i casi eseguiti con il Test che mostrano una intensità di colorazione moderata (2+) o forte (3+) in almeno il 75% delle cellule neoplastiche ($\geq 75\%$).

Figura 3⁽³⁾

FIG.3

Table 1. VENTANA FOLR1 Assay Scoring	
FR α Status	Microscope Observation
Positive	$\geq 75\%$ of viable tumor cells with moderate (2+) and/or strong (3+) membrane staining
Negative	$< 75\%$ of viable tumor cells with moderate (2+) and/or strong (3+) membrane staining

Abbreviation: FR α , folate receptor- α .

La positività 2+ o 3+ di membrana può essere parziale o coinvolgere l'intera membrana (circonferenziale). Segnali punteggiati o "dot-like" sono considerati positivi purchè di membrana. Colorazioni citoplasmatiche di qualsiasi tipo sono da considerare aspecifiche e quindi da escludere dalla valutazione. La positività forte "3+" può mostrare colorazione spessa, marrone-scuro o anche nera.

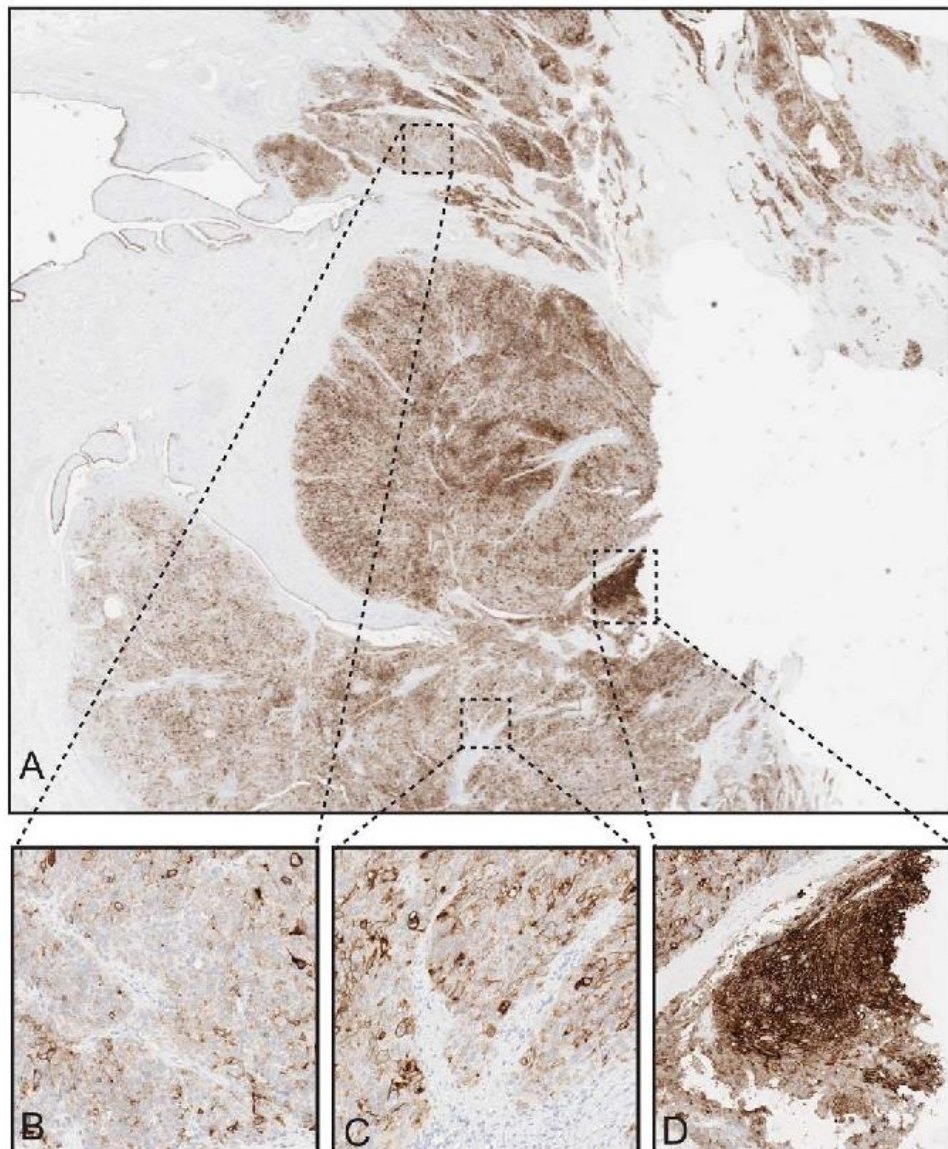
I criteri di interpretazione sono sintetizzati in figura 4⁽⁷⁾.

FIG.4

Score	Intensity Description	Included in Scoring
0	No signal	No
1+	Faint gold /light brown, partial/circumferential	No
2+	Chocolate brown, partial /circumferential	Yes (if $\geq 75\%$ cells)
3+	Thick dark brown/black, partial/circumferential	Yes (if $\geq 75\%$ cells)

Le aree neoplastiche mostrano spesso intensità di colorazione non omogenea (1+ - 3+). In quei casi la valutazione va fatta ovviamente solo sulle aree 2+ e 3+⁽³⁾. *Figura 5⁽³⁾*

FIG.5



“Representative staining of the VENTANA FOLR1 Assay in epithelial ovarian cancer (EOC). A, Low magnification of folate receptor-alpha (FRA) immunohistochemistry (IHC) staining detected using the OptiView DAB IHC Detection Kit. EOC can contain all levels of staining intensity. Boxes indicate zoomed-in insets from A (B through D). Representative images of weak (1+; B), moderate (2+; C), and strong (3+; D) staining.”

Come da raccomandazioni inserite nella scheda tecnica dell’anticorpo, la determinazione verrà eseguita insieme ad una sezione di controllo. La ditta indica come tessuto di controllo cellule normali delle tube di falloppio (NFT). Su questo tessuto, la porzione basolaterale delle cellule dovrebbe avere una intensità di colorazione “2+” mentre, la porzione apicale, una intensità di colorazione “3+” e lo stroma intensità “0”. *Figura 6⁽⁹⁾*

FIG.6

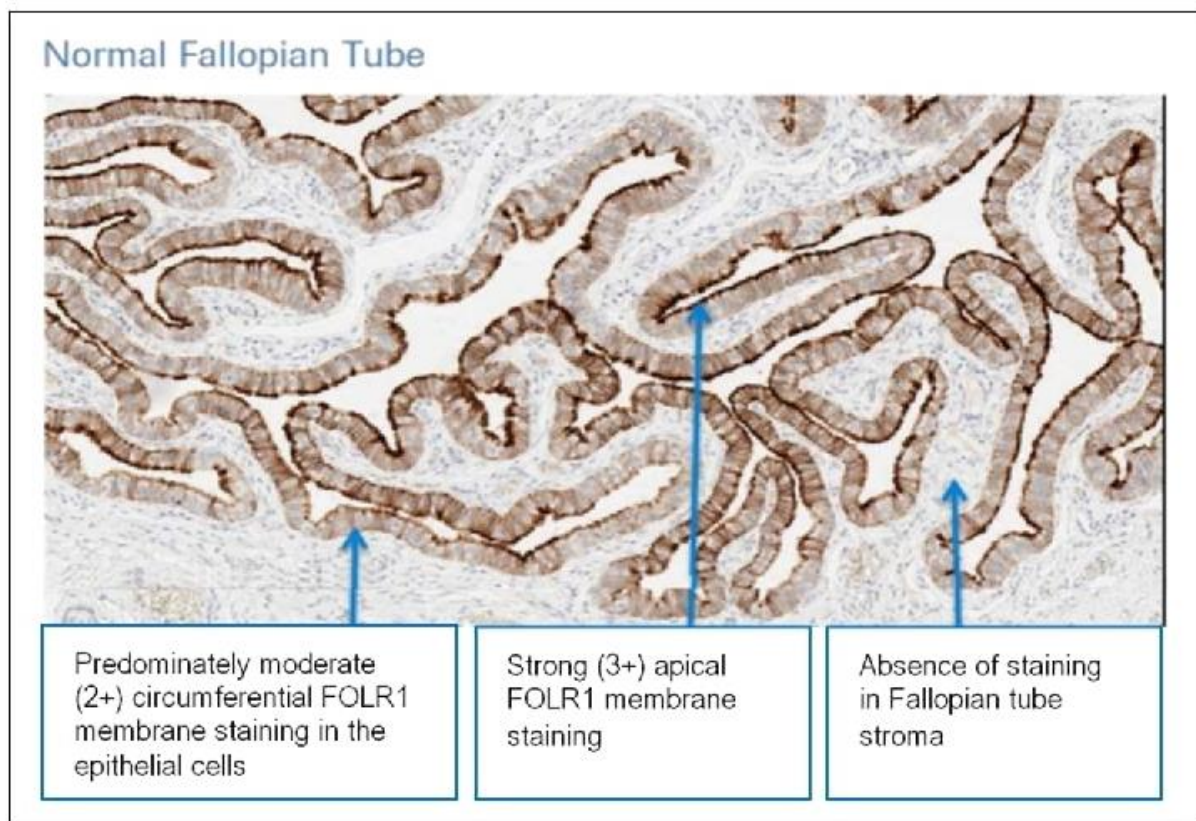


Figure 2. Acceptable Staining of Control Normal Fallopian Tube Tissue.

Studi recenti⁽⁸⁾ hanno dimostrato che l'intensità di colorazione delle cellule normali delle tube risulta essere età-dipendente e gravidanza-dipendente. Donne in pre-menopausa, in età giovanile o in gravidanza sembrano mostrare infatti, una positività al FOLR1 – Test Ventana “1+” e “2+” in luogo di “2+” e “3+” sulle cellule di controllo NFT. Tale meccanismo sarebbe da addebitare all' azione repressiva del recettore dell'estrogeno sul gene FOLR1 che codifica per la proteina FR α . Gli autori in questione suggeriscono a tal proposito di utilizzare NFT di donne in post-menopausa. I campioni utili per l'indagine del recettore dei folati sono sia campioni di archivio che escissioni chirurgiche che piccole biopsie purchè fissati in formalina tamponata neutra al 10% almeno 6 ore per le piccole biopsie, 12–72 ore per le escissioni/resezioni chirurgiche⁽²⁻⁹⁾.

Il test è stato validato inoltre sia per i tumori primari che per le metastasi.

Dalle raccomandazioni inserite nel “data sheet” Roche⁽⁹⁾:

- Lo spessore delle sezioni dovrebbe essere di 4 μ e i vetrini essere “elettrostaticamente carichi”.
- Il produttore non garantisce risultati affidabili su sezioni paraffinate tagliate oltre i 45 giorni in quanto queste sezioni potrebbero avere perdita di antigenicità.
- Il test avrebbe bisogno di almeno 100 cellule neoplastiche integre per essere significativo.
- I casi borderline con una positività compresa tra il 65 e l' 85% dovrebbero essere rivalutate da un secondo patologo per poterne confermare il superamento del valore soglia del 75%.

CONCLUSIONI

L' FR α fu isolato per la prima volta nel 1972 e nel 1991 per la prima volta associato ad eventi tumorali. Benchè gli studi siano ancora in una fase iniziale, ad oggi l'iper-espressione del recettore dei folati alfa risulta presente nel:

35 - 70% dei carcinomi della mammella

15 - 75% dei tumori polmonari

20 - 50% dei carcinomi dell' endometrio

75 - 90% dei carcinomi ovarici

La prima terapia ADC avente come bersaglio l' FR α è stata recentemente approvata sia dall' US-FDA che dall' EMA a seguito degli incoraggianti risultati dei primi trials clinici sui Carcinomi ovarici.

La tecnica immunoistochimica, utilizzata prima nei trials e poi approvata nel "Companion Test", si è dimostrata essere una tecnica robusta ed affidabile per la selezione dei pazienti candidati a tale trattamento.

In virtù di queste premesse si prospetta un futuro in cui le terapie con ADC possano avere un più ampio utilizzo e l'immunoistochimica continuare ad essere la tecnica di riferimento per la selezione dei pazienti.

Bibliografia

- 1) [FI_004726_051624.pdf](#)
- 2) Previs, R.A.; Strickland, K.C.; Wallen, Z.; Ko, H.; Green, M.; Cooper, M.; Lyon, E.; Biorn, M.; Armetta, J.; Quarles, R.; et al. Analysis of real world FR α testing in ovarian, fallopian tube, and primary peritoneal cancers. *Gynecol. Oncol.* 2025, 192, 102–110.
- 3) James, R.L.; Sisserson, T.; Cai, Z.; Dumas, M.E.; Inge, L.J.; Ranger-Moore, J.; Mason, A.; Sloss, C.M.; McArthur, K. Development of an FR α Companion Diagnostic Immunohistochemical Assay for Mirvetuximab Soravtansine. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2024, 148, 1226–1233.
- 4) Deutschman, E.; Fulton, R.; Sloss, C.M. Evaluation of Laboratory-Derived Immunohistochemical Assays for Folate Receptor α Expression in Epithelial Ovarian Cancer and Comparison with a Companion Diagnostic. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2025.
- 5) Lawson, B.C.; Marques-Piubelli, M.L.; Westin, S.N.; Malpica, A. Folate Receptor Immunohistochemical Staining and Gynecologic Tumors: Initial Experience with 216 Cases. *Int. J. Gynecol. Pathol.* 2025, 44, 167–173.
- 6) Martin, L.P.; Konner, J.A.; Moore, K.N.; Seward, S.M.; Matulonis, U.A.; Perez, R.P.; Su, Y.; Berkenblit, A.; Ruiz-Soto, R.; Birrer, M.J. Characterization of folate receptor alpha (FR α) expression in archival tumor and biopsy samples from relapsed epithelial ovarian cancer patients: A phase I expansion study of the FR α -targeting antibody-drug conjugate mirvetuximab soravtansine. *Gynecol. Oncol.* 2017, 147, 402–407.
- 7) Zannoni GF, Santoro A, d'Amati A, D'Alessandris N, Scaglione G, Padial Urtueta B, Valente M, Narducci N, Addante F, Spadola S, Bragantini E, Angelico G. Folate Receptor Alpha in Advanced Epithelial Ovarian Cancer: Diagnostic Role and Therapeutic Implications of a Clinically Validated Biomarker. *Int J Mol Sci.* 2025 May 29;26(11):5222.
- 8) Nasdala A, Kandt LD, Radner M, Schaumann N, Gronewold M, Hillmann P, Christgen H, Hachenberg J, Kuehnle E, Hartmann C, Christgen M. Reduced folate receptor alpha (FOLR1) protein expression in fallopian tubes from premenopausal women: implications for the FOLR1 CDx assay for mirvetuximab-soravtansine therapy. *J Pathol Clin Res.* 2026 May;12(3):e70091. doi: 10.1002/2056-4538.70091.
- 9) VENTANA FOLR1 (FOLR1-2.1) RxDx Assay. Data Sheet.
- 10) Mai J, Wu L, Yang L, Sun T, Liu X, Yin R, Jiang Y, Li J and Li Q (2023) Therapeutic strategies targeting folate receptor α for ovarian cancer. *Front. Immunol.* 14:1254532. doi: 10.3389/fimmu.2023.1254532.

- 11) Menon R, Bako E, Liu S, Stec J, Thakur S, Deutschman E, Ab O, Jain S. Mirvetuximab Soravtansine: Mechanism of Action, Clinical and Translational Science. Clin Transl Sci. 2026 Jan;19(1):e70447. doi: 10.1111/cts.70447. PMID: 41540835; PMCID: PMC12809047.