

# A malignus melanóma prognosztikus és prediktív markerei

Rásó Erzsébet, Barbai Tamás, Győrffy Balázs, Tímár József

Semmelweis Egyetem, 2. Sz. Patológiai Intézet, MTA-SE Molekuláris Onkológiai Kutatócsoport, Budapest

*A malignus melanóma, bár megjelenését tekintve igen sokszínű, de biológiailag áttétképző és áttétet nem képző formákra osztható. A klasszikus klinikopatológiai faktoroknak a betegség lefolyását felbecsülő képessége limitált, ezért széleskörű kutatások történnek a melanóma progressziós markerei vonatkozásában. Bár sokféle genetikai vagy fehérjemintázatot azonosítottak, ezek klinikai haszna csekély, mert a vizsgálatok alig vették figyelembe a melanóma progressziója alapjainak megismerését célzó kutatások eredményeit, így az ígéretes markerek csoportja igen szűk (BCL2, CDK2, MART-1, OPN). Hasonlóan más szolid daganatokhoz, a célzott terápiák megjelenése ráirányította a figyelmet a melanóma kemo- és célzott terápiára mutatott rezisztenciájának genetikai alapjaira. Ezek az ismeretek új molekuláris patológiai eljárásokhoz és remélhetően hatékonyabb terápiás protokollok kialakításához adhatnak segítséget. Magyar Onkológia 57:79-83, 2013*

**Kulcsszavak:** melanóma, prognózis, terápiazisztencia, genetikai markerek

*Malignant melanoma biologically can be divided into non-metastatic and metastatic forms which cannot be predicted precisely using classical clinicopathological parameters, therefore studies on novel genetic or protein markers are abundant in the literature. These studies did not result in clinically useful markers because mostly ignored the results of studies on the genetic basis of metastatic potential of malignant melanoma. Accordingly, the list of promising novel markers is short (BCL2, CDK2, MART-1, OPN). Similar to other solid malignancies, introduction of targeted therapy into clinical practice of melanoma turned the attention toward the genetic basis of resistance to chemo- and targeted therapies. These novel data could lead to the development of molecular diagnostics which can help in designing more effective therapeutic strategies of malignant melanoma.*

Rásó E, Barbai T, Győrffy B, Tímár J. Prognostic and predictive markers of malignant melanoma. Hungarian Oncology 57:79-83, 2013

**Keywords:** melanoma, prognosis, therapy resistance, genetic markers

Levelezési cím: Dr. Tímár József, Semmelweis Egyetem, 2. Sz. Patológiai Intézet, 1091 Budapest, Üllői út 93.

Tel.: 215-6921, e-mail: [jtimar@gmail.com](mailto:jtimar@gmail.com)

Közlésre érkezett: 2013. április 10. • Elfogadva: 2013. május 20.

## BEVEZETÉS

Az elmúlt évtizedben számtalan közlemény foglalkozott a malignus melanóma prognózisával, illetve olyan markerek kutatásával, amelyek a legagresszívebb emberi daganat biológiai természetének pontosabb prognosztizálására alkalmasak lennének. Ezek a kutatások számtalan genetikai eltérést vagy fenotípusos sajátosságot azonosítottak, de ezek egyike sem volt képes hatékonyabban megjósolni a daganat viselkedését, mint a klasszikus klinikopatológiai paraméterek, illetve a szentinelnyirokcsomó-státusz. Mindezek figyelembevételével azt lehet állítani, hogy a malignus melanómának kétféle biológiai viselkedésű formája van, a távoli szervi áttétek nem képező és az ilyeneket képező forma, a kettő aránya 1:5 (10). A melanómákat két csoportra lehet bontani az alapján is, hogy nyirokcsomóáttétek képzésére képesek-e, ezek mindkét előbbi csoportban jelen vannak. A betegség kimenetele szempontjából kétségtelenül döntő jelentősége a szervi áttéteknek van, így az ezt meghatározó genetikai és fenotípusos markereknek lenne meghatározó szerepe. Sajnos a fenti biológiai viselkedés mögötti genetikai és biológiai folyamatokról még mindig csak igen fragmentált képpel rendelkezünk, nem véletlen, hogy a markerkutatások sem jutottak előbbre.

A malignus melanómát másrésztől igen nagyfokú terápia-rezisztencia is jellemzi, amivel kitérnek a többi szolid daganat közül, és aminek oka eddig nem volt ismert. Sajnálatos tény, hogy a melanóma kezelésében igen alacsony hatékonyságú évtizedes protokollok találhatók. További probléma, hogy a malignus melanóma nemcsak a kemo-, hanem a sugárterápiára is rezisztens, így a sebész kezelés marad egyetlen definitív opcióként. Az elmúlt években történt hatalmas fejlődés azonban a fenti problémákat új megvilágításba helyezte. Azzal, hogy kétféle célzott terápiás eljárás is törzskönyvezésre került melanóma esetében, újragondolásra készíti a területtel foglalkozó kutatók és klinikusok viszonyát a prognosztikus és prediktív markerekhez. Az alábbiakban összefoglaljuk a terület állását, és rámutatunk a lehetséges kitörési pontokra.

## A MALIGNUS MELANÓMA ÁTTÉTKÉPZÉSÉNEK GENETIKAI SAJÁTÓSÁGAI (1. táblázat)

A melanóma áttétképzését is, mint más szolid daganatokét, bizonyos meghatározó szabályozó gének aberráns működése okoz(hat)ja, ezeket a géneket nevezzük ún. metasztázis-géneknek. Bár egyes szolid daganatban ezek szerepe többé-kevésbé ismertté vált, legtöbbjük melanómában nem működik (TWIST, NM23) (1, 2). A vastagbélrák metasztázis-génje, a CD44, illetve annak egyik variánsa, a v3 újabb adatok szerint melanómákban is részt vehet az áttétképző képesség alakításában (3, 4). Számos adat utal arra, hogy a melanóma áttétképző képességéhez domináns integrin receptorának, az  $\alpha v \beta 3$ -nak konstitutív expressziója szükséges, amely két kináz aktivitását szabályozza (FAK és ILK) (5). Ennek a szabályozási rendszernek eleme a NEDD9 FAK-inhibitor, amely metasztázis-génnek tekinthető melanómában (6). Preklinikai kutatások kimutatták, hogy a melanóma motilitását a HGF-c-met parakrin és az AMF-gp78 autokrin rendszer szabályozza (7, 8). Adatok arra nézve is rendelkezésre állnak, hogy ezek a mechanizmusok humán körülmények között is aktívak. Másrésztől azonosítottak egy ún. metasztázis-szuppresszor gént, a metastint (KISS-1), amelynek elvesztése az áttétképző képesség fokozódásához vezet. A gént kódoló fehérje a GPR45 G-protein kapcsolt receptor liganduma, és aktivitása esetén egy transzkripció faktor működését szabályozza (DRIP130) (9).

A malignus daganatok fennmaradásának és progressziójának kulcskérdésévé vált a daganatos őssejtek problémája, amelyek ugyan csak elenyésző hányadát képezik a daganatos sejtpopulációnak, de a terápia-rezisztenciában, illetve a szervi kolonizációban meghatározó jelentőségűek. A melanóma-őssejteket CD30/CD133/CD271 markerek jellemzik, és működésüket a NODAL morfogén szabályozza a NOTCH jelpályával karöltve (10). Működésük következménye a melanóma vaszkulogén és trombocitamimikri je-

1. táblázat. A melanóma áttétképzésében érintett jelpályák/gének

Ligandumok	FBG, VN	HB-GF	HGF	AMF/PGI	KISS-1	NODAL
Sejtfelszíni receptorok	$\alpha v \beta 3$ , $\alpha 11 \beta 3$	CD44v3	c-met	AMFR	GPR54	ACTR1
Jelpályák	FAK, ILK PKC	PKC	RAS PI3KA STAT	ubiquitinligáz PKC	G-prot.	SMAD2/4
Magi célpontok	endonexin				DRP130 Sp1	p53

ACTR1=aktinreceptor-1, AMF=autokrin motilitási faktor (más néven PGI=foszoglükóz-izomeráz), AMFR=AMF-receptor, FAK=fokális adhéziós kináz, FBG=fibrinogén, GPR54=G-protein-kapcsolt receptor-54, HB-GF=heparinkötő növekedési faktorok, ILK=integrin-kapcsolt kináz, PKC=proteinkináz C, VN=vitronektin

lenségei: azaz, hogy endothelialis és megakariociter géneket fejzenek ki, és az erekkel vagy trombocitákkal gyümölcsöző együttműködésre képesek (11).

## A MALIGNUS MELANÓMA PROGNOZTIKUS MARKEREI (2. táblázat)

Elvégeztük a releváns irodalom átvizsgálását, és metaanalízis segítségével igyekeztünk meghatározni azon gének és fehérjék körét, amelyek a sok elemzés során ismételt prognosztikus markerként kerültek azonosításra. Miután a klinikai minták természete (primer tumor vagy áttéti szövet) meghatározta azt, hogy itt a metasztáziskezdeményező (primer tumor) vagy metasztázisfenntartó gének/fehérjék kerülhettek csak kiemelésre, ennek fényében első lépésben a két gén/fehérjecsoporthoz igyekeztünk meghatározni.

Kilenc genomikai analízisben értékelték a melanóma metasztáziskezdeményező géneit, és egy 46 génes mintázat körvonalazódott, amiben azonban gyakori ismétléssel csak a HMMR, PTGDS (prostaglandinszintáz) és a RASGRP2 szerepeltek (12). Érdekes volt ugyanakkor az, hogy amikor ún. network-analízis segítségével elemeztük ezt a géncsoportot, azok a p53 és a ciklinek köré szerveződtek, jelezve ezek meghatározó szerepét. Az irodalomban sokkal gyakoribbak voltak a metasztáziskezdeményező proteinek vonatkozó elemzések, amiket két metaanalízis is feldolgozott kétféle fehérjecsoporthoz vonatkozó végeredménnyel (13–15). A mi elemzésünk a két mintázat 17 fehérjés átfedő csoportját azonosította, benne több, korábban már azonosított prognosztikus markerrel, mint a PCNA, a CD44 és a ciklin D1 (12). A metasztáziskezdeményező gének és fehérjék mintázatának összevetése 3 gén/fehérje szerepére irányította a figyelmet: a MART-1 melanoszomális markerre, a CDK2 ciklinre és a survivinre (apoptózisszabályozó). Az ún. network-analízis még érdekesebb eredményre vezetett, mert a folyamatban szereplő gének/fehérjék két központi vezérét azonosította: a p53-at és ciklineket, mint a sejtosztódás/túlélés szabályozóit és a KIT receptor jelpályát (12).

Sokkal kevesebb elemzésben dolgozták fel a metasztázisfenntartó gének/fehérjék körét. Öt elemzés dolgozta fel a génmintázatokat, amelyek metaanalízise egy 17 génes mintázatot azonosított, amelyben több, a melanóma progressziója szempontjából elemzett gén volt: osteopontin, BCL2, WNT5A és az EGFR (16). A network-analízis ugyanakkor a p53, illetve az osteopontin köré tudta rendezni e géneket. Viszonylag kevesebb elemzés foglalkozott a metasztázisfenntartó fehérjék körével, amelyek metaanalízise egy 28 fehérjés mintázatot körvonalazott, amelyben azonban melanómaeredetű alig volt (RAR $\alpha$ , MAGE1/4 és IGFBP4) (17). Meglepetésre a network-analízis az IFN-jelpálya köré volt képes rendezni e fehérjéket. Amikor a gén- és fehérjemintázatot összehasonlí-

2. táblázat. A malignus melanóma progressziós markereinek összefoglalása

	Metasztázis- kezdeményezők	Metasztázis- fenntartók
Gén	HMMR PTGDS RASGRP2	BCL2 OPN EGFR WNT5A
Fehérje	CD44 ciklin D1 PCNA	RAR $\alpha$ MAGE1/4 IGFBP4
Közös gén/fehérje	CDK2 MART-1 survivin	BCL2 OPN

BCL2=B-sejtes limfóma-2, CDK2=ciklindependens kináz-2, HMMR=hialuronsav-receptor RHAMM, IGFBP4=inzulinszerű növekedési faktort kötő fehérje-4, OPN=osteopontin, PCNA=proliferáló sejt magi antigénje, PTGDS=prostaglandin-szintáz, RAR $\alpha$ =retinavreceptor-alfa, RASGRP2=RAS-aktiváló protein-2, WNT5A=wingless-típusú MMTV integrációs hely család 5A

tottuk, meglepő volt, hogy az IFN-jelpálya mellett a korábban emlegetett integrinjelpálya is kirajzolódott, igazolva azt, hogy a melanóma áttétképzésében a sejt-mátrix kölcsönhatás és a sejt-gazdaszöveti immunvédekezés egyaránt jelentőséggel bír (12). Amikor a metasztáziskezdeményező és -fenntartó gén- és fehérjemintázatokat együttesen elemeztük, csak a BCL2-t és az osteopontint lehetett kiemelni, ami igazolja, hogy a két folyamatot szabályozó/meghatározó mechanizmusok nagyon eltérőek.

## A MALIGNUS MELANÓMA PREDIKTÍV MARKEREI (3. táblázat)

### Kemorezisztencia

Ahhoz képest, hogy a malignus melanóma kemorezisztens, és gyakorlatilag csak egy regisztrált terápiás protokollja volt (a dakarbazin), meglehetősen kevés kutatás foglalkozott ennek gyökereivel. Miután a melanociták apoptózisrezisztensek, ennek következményei a malignusan transzformált sejtekben is kimutathatóak. Emellett az újonnan fellépő génhibák (p53- vagy BCL2-mutációk) csak tovább rontják a helyzetet, aminek eredménye a dakarbazinterápiára adott alacsony válaszarány (10%). Elemzések kimutatták, hogy a DNS-hibajavító enzim, az MGMT magas szintje, különösen, ha a p16 gén hibájával kombinálódik, meghatározó szerepet játszik ebben a rezisztenciában (18). Újabb genomikai elemzések rávilágítottak arra, hogy az MGMT mellett a mismatch hibajavító MSH2/6, valamint a nukleotidexcíziós hibajavító

### 3. táblázat. A melanóma terápiarezisztenciájában érintett gének összefoglalása

Kemorezisztencia	Citokin-rezisztencia	BRAF-gátló-rezisztencia
MGMT	PI3KA-jelpálya	NRAS-mutáció
ERCC1	VEGF	PTEN-mutáció
XRCC1	TGF- $\beta$	HER-2
MSH2/6		ERBB4
		AXL
<i>BCL2</i>		PDGFR $\beta$
<i>p53</i>		FLT1
<i>PI3KA-jelpálya</i>		RET
		MEK1C121S
		MAP3K8COT

ERCC1=excíziós repair enzim, MGMT=metil-guanin-DNS-metiltranszferáz, MSH2/6=mismatch repair gén MSH2 és 6, tirozinkinázok: HER-2, ERBB4, AXL, PDGFR $\beta$ , FLT1, RET, XRCC1=Xeroderma pigmentosum társult excíziós repair enzim

ERCC1 és XRCC1 is szerepet játszanak a kemorezisztenciában (19). Más elemzések arra mutattak rá, hogy a lipid-kináz útvonal fokozott működése (elsősorban a PI3KA és mTOR miatt) is jelentős tényező a melanóma kemorezisztenciájában (20).

#### Citokinrezisztencia (IFN és IL-2)

A melanóma az egyik legimmunogénebb emberi daganat, ennek ellenére a citokinterápia hatékonysága csak alacsony fokú (20%), ami azért magasabb a dakarbazinénál. Ennek oka az, hogy a malignus melanómák döntő többsége rezisztens az immunológiai mechanizmusokra, illetve, hogy egy részük aktívan gátolja az immunvédekezést. Viszonylag kevés azon vizsgálatok száma, amelyek a melanóma IL-2- vagy IFN-rezisztenciájának mechanizmusait foglalkoznak (21). Ezek egyikében IFN-regulált transzkripció faktorokat, ún. IFN-szabályozott géneket (mint pl. a HLA) azonosítottak, de számos olyat is, amelyek nem IFN-szabályozottak, mint a PI3K, VEGF és TGF- $\beta$  (22).

Az első sikeres melanóma-immunterapeutikum az anti-CTLA-4 antitest, az ipilimumab. Ennek törzskönyvezési és egyéb vizsgálataiban alig történt elemzés az érzékeny/rezisztens betegcsoport jellemzésére. Miután a CTLA-4 az aktivált T-limfociták felszíni receptora, pauszibilis volna a daganatot infiltráló T-sejtek CTLA-4-expressziójának vagy a szisztémás CTLA-4-szintnek az elemzése. Sajnálatos módon sem retrospektív, sem prospektív vizsgálatról nincsen adat az irodalomban, pedig a mellékhatások súlyossága (ha más nem) indokolná a precízebb betegszelekciót.

#### Céletterápiás rezisztencia

Miután a bőr melanómájában a leggyakrabban érintett két onkogén a BRAF és CKIT, és ezekre specifikusan hatékony célzott terápiák az elmúlt év egyik legnagyobb onkológiai előrelépései voltak, hirtelen a céletterápiás érzékenység és rezisztencia az érdeklődés középpontjába került.

A vemurafenib a mutáns BRAF inhibitora, amely malignus melanómában megfelelő betegszelekció esetében 50% feletti válaszadási arányt ér el (23). A gyógyszer V600E BRAF-mutációt hordozó melanómában törzskönyvezett, ugyanakkor több kérdés még tisztázatlan: milyen %-ban kell jelen lennie a daganatsejtek között a mutáns populációnak a hatékonysághoz, és mi a helyzet a ritkább aminosavcserét jelentő 600-as kodont érintő mutációk vagy a más kodont érintő mutációk esetében? Az első kérdésre csak indirekt válasz az, hogy a törzskönyvezési vizsgálatban a Roche Cobas BRAF-mutációs kitet használták, aminek érzékenysége 5%, ezért ennek alapján a válasz az lehet, hogy legalább 5% kell legyen a populáción belül az ilyen génhibát hordozó sejtek aránya. Ugyanakkor az adatokat ebből a szempontból nem értékelték ki, így valószínű, hogy ennél magasabb lehet ez az arány. A másik kérdésre egyelőre csak kísérleti adatok alapján lehet válaszolni, amelyek azt mutatják, hogy nem csak a V600E típusú mutációk esetében hatékony a vemurafenib, de ezt a kérdést klinikai körülmények között nem vizsgálták.

A vemurafenib törzskönyvezése óta eltelt idő bemutatja, hogy a gyógyszerre adott magas terápiás válasz ellenére a betegek előbb vagy utóbb relapszusba kerülnek (24), ezért fontos volna ismerni a konstitutív és szerzett rezisztenciamechanizmusokat. Egyes adatok szerint a PTEN-génhibával rendelkező melanómákban fennállhat ilyen konstitutív rezisztencia vemurafenibre, miután ez a génhiba együtt fordulhat elő a BRAF-mutációval (szemben pl. az NRAS-sal). Az eddigi vizsgálatok azt igazolták, hogy a vemurafenibrezisztencia kialakulásának számos mechanizmusa van. Az egyik az, hogy a kezelt daganatban a korábban igen alacsony szinten jelen lévő NRAS-mutáns populáció szelektálódhat ki (25). A szerzett rezisztencia okai között szerepelhet a MEK1C121S mutáció kialakulása (26) vagy a CRAF, illetve MAP3K8/COT jelpályák fokozott aktiválódása (27). Más elemzések során arra derült fény, hogy a vemurafenibbel kezelt betegek daganataiban az eddig kevésbé fontosnak tartott növekedési faktor receptorok által szabályozott jelpályák aktivitásának fokozódása is rezisztenciához vezethet (HER-2, AXL vagy PDGFR $\beta$ ). Újabb genomikai elemzések kimutatták, hogy a vemurafenibbel kezelt melanómákban számos új génhiba jelenhet meg (ERBB4, FLT1, PTPRD, RET, TERT RUNX1T1), amelyeknek a gyógyszer-rezisztenciában betöltött szerepük még nem világos (26).

Eddig két klinikai fázis III vizsgálatban tesztelték a KIT-gátló imatinib hatását olyan melanómás betegpopulációban, ahol a ritkább KIT-mutáció állt fenn (28, 29). A KIT-gátló kezelésre ilyen körülmények között 16-23%-os volt a terápiás válaszok aránya, jelezve, hogy a betegek csak egy kisebb hányada reagál, tehát az ún. konstitutív rezisztencia aránya magas lehet. Bár a KIT-amplifikáció viszonylag gyakori melanómában, ez nem befolyásolta a daganatok imatinibre adott válaszát. Hasonlóan a GIST betegekhez, úgy tűnik, hogy a KIT exon 11 és 13 mutációk tekinthetők érzékenységi mutációknak, míg a többiek (amelyek meglehetősen gyakoriak) nem járnak gyógyszer-érzékenységgel. Más célzott terápiák esetében is felmerült e kérdés, hogy a daganatban jelen lévő mutáns populációnak a vad típushoz való aránya befolyásolja-e a terápiás választ. KIT-mutáns melanóma esetében az adatok arra utalnak, hogy a mutáns allélnak többségben kell lennie a vad allélhoz képest a hatékonysághoz.

A fenti adatok arra utalnak, hogy a célzott terápiák esetében nagy jelentősége van a pontos betegszelekciónak, ami a BRAF- vagy CKIT-mutáció kimutatására alapul, de ezenkívül számos más genetikai tényező is befolyásolja a daganatok gyógyszerérzékenységét, amelyek pontosabb megismerése segíthet a terápiák hatékonyságának fokozásában.

## IRODALOM

- Girouard SD, Murphy GF. Melanoma stem cells: not rare, but well done. *Lab Invest* 91:647–664, 2011
- Döme B, Somlai B, Tímár J. The loss of NM23 protein in malignant melanoma predicts lymphatic spread without affecting survival. *Anticancer Res* 20:3971–3974, 2000
- Döme B, Somlai B, Ladányi A, et al. Expression of CD44v3 splice variant is associated with the visceral metastatic phenotype of human melanoma. *Virchow Arch* 439:628–635, 2001
- Raso-Barnett L, Banky B, Barbai T, et al. Demonstration of a melanoma specific CD44 alternative splicing pattern that remains qualitatively stable but shows quantitative changes during tumor progression. *Plos One* 8:e53883, 2013
- Trikha M, Zhou Z, Tímár J, et al. Multiple roles for platelet GPIIb/IIIa and  $\alpha\beta 3$  integrins in tumor growth, angiogenesis, and metastasis. *Cancer Res* 62:2824–2833, 2002
- Kim M, Gans JD, Nogueira C, et al. Comparative oncogenomics identifies NEDD9 as a melanoma metastasis gene. *Cell* 125:1269–1281, 2006
- Natali PG, Nicotra MR, Di Renzo MF, et al. Expression of the c-Met/HGF receptor in human melanocytic neoplasms: demonstration of the relationship to malignant melanoma tumour progression. *Br J Cancer* 68:746–750, 1993
- Tímár J, Rásó E, Döme B, et al. Expression and function of the AMF receptor by human melanoma in experimental and clinical systems. *Clin Exp Metastasis* 19:225–232, 2002
- Lee JH, Miele ME, Hicks DJ, et al. KiSS-1, a novel human malignant melanoma metastasis-suppressor gene. *J Natl Cancer Inst* 88:1731–1737, 1996
- Strizzi L, Hardy KM, Kirsammer GT, et al. Embryonic signaling in melanoma: potential for diagnosis and therapy. *Lab Invest* 91:819–824, 2011
- Tímár J, Tóvári J, Rásó E, et al. Platelet-mimicry of cancer cells: epiphenomenon with clinical significance. *Oncology* 69:185–201, 2005
- Tímár J, Barbai T, Györfly B, Rásó E. Understanding melanoma progression by gene expression signatures. Chapter 2. *Cancer Genomics*. Ed. Pfeffer U, Springer, Dordrecht 2013, pp. 47–79
- Gould Rothberg BE, Berger AJ, Molinaro AM, et al. Melanoma prognostic model using tissue microarrays and genetic algorithms. *J Clin Oncol* 27:5772–5780, 2009
- Gould Rothberg BE, Bracken MB, Rimm DL. Tissue biomarkers for prognosis in cutaneous melanoma: a systematic review and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst* 101:452–474, 2009
- Schramm SJ, Campain AE, Scolyer RA, et al. Review and cross-validation of gene expression signatures and melanoma prognosis. *J Invest Dermatol* 132:274–283, 2012
- Tímár J, Györfly B, Rásó E. Gene signature of the metastatic potential of cutaneous melanoma: too much for too little? *Clin Exp Metastasis* 27:371–387, 2010
- Gould Rothberg BE, Rimm DL. Biomarkers: the useful and the not so useful – an assessment of molecular prognostic markers for cutaneous melanoma. *J Invest Dermatol* 130:1971–1987, 2011
- Tawbi HA, Villaruz L, Tarhini A, et al. Inhibition of DNA repair with MGMT pseudosubstrates: phase I study of lomeguatrib in combination with dacarbazine in patients with advanced melanoma and other solid tumours. *Br J Cancer* 105:773–777, 2011
- Gallagher SJ, Thompson JF, Indsto J, et al. p16INK4a expression and absence of activated B-RAF are independent predictors of chemosensitivity in melanoma tumors. *Neoplasia* 10:1231–1239, 2008
- Jewell R, Conway C, Mitra A, et al. Patterns of expression of DNA repair genes and relapse from melanoma. *Clin Cancer Res* 16:5211–5221, 2010
- Tímár J, Mészáros L, Ladányi A, et al. Melanoma genomics reveals signatures of sensitivity to bio- and targeted therapies. *Cell Immunol* 244:154–157, 2006
- Krepler C, Certa U, Wacheck V, et al. Pegylated and conventional interferon-alpha induce comparable transcriptional responses and inhibition of tumor growth in a human melanoma SCID mouse xenotransplantation model. *J Invest Dermatol* 123:664–669, 2004
- Chapman PB, Hauschild A, Robert C, et al. Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation. *N Engl J Med* 364:2507–2516, 2011
- Nijenhuis CM, Haanen JB, Schellens JH, et al. Is combination therapy the next step to overcome resistance and reduce toxicities in melanoma? *Cancer Ther Rev* 39:305–312, 2013
- Nazarian R, Shi H, Wang Q, et al. Melanomas acquire resistance to B-RAF(V600E) inhibition by RTK or N-RAS upregulation. *Nature* 468:973–977, 2010
- Wagle N, Emery C, Berger MF, et al. Dissecting therapeutic resistance to RAF inhibition in melanoma by tumor genomic profiling. *J Clin Oncol* 29:3085–3096, 2011
- Johannessen CM, Boehm JS, Kim SY, et al. COT drives resistance to RAF inhibition through MAP kinase pathway reactivation. *Nature* 468:968–972, 2010
- Guo J, Si L, Kong Y, et al. Phase II, open-label, single-arm trial of imatinib mesylate in patients with metastatic melanoma harboring c-Kit mutation or amplification. *J Clin Oncol* 29:2904–2909, 2011
- Carvajal RD, Antonescu CR, Wolchok JD, et al. KIT as a therapeutic target in metastatic melanoma. *JAMA* 305:2327–2334, 2011