

恶性黑色素瘤生物治疗研究进展

王 慤,袁斯明

(南京军区南京总医院,江苏 南京 210002)

摘 要:黑色素瘤是较常见的恶性肿瘤,近年来已经成为发病率增长最快的肿瘤之一。自2011年依匹单抗等药物经FDA批准上市后,黑色素瘤相关治疗的研究与发展就一直处于各类肿瘤研究的前列。现我国黑色素瘤患者死亡病例与新发病例的比例明显高于全球平均水平,但治疗情况却与国外差距悬殊,生存率相差甚远,8种FDA批准的药物在我国也均未上市。文章就目前黑色素瘤治疗相关药物临床应用进展、耐药机制研究及新型免疫药物的开发予以综述。

关键词:黑色素瘤;生物治疗;免疫治疗;靶向治疗

中图分类号:R739.5 文献标识码:A 文章编号:1004-0242(2017)07-0555-06

doi:10.11735/j.issn.1004-0242.2017.07.A011

Progress of Biotherapy in Malignant Melanoma

WANG Min, YUAN Si-ming

(Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command, Nanjing 210002, China)

Abstract: Malignant melanoma is a common malignant tumor with fast increasing incidence in recent years. Since ipilimumab was approved by FDA in 2011, the related research and development of therapy in malignant melanoma has been in the front of cancer research. The mortality to incidence rate ratio of malignant melanoma in China is higher than the global average, but the treatment is still behind the developed countries. The article reviews the current progress of melanoma-related treatment, mechanism of drug resistance and the development of new immune drugs.

Key words: melanoma; biotherapy; immune therapy; target therapy

黑色素瘤是较常见的恶性肿瘤,近年来已经成为发病率增长最快的肿瘤之一,年增长率为3%~5%。据统计,2012年全球黑色素瘤新发病例232 000例,死亡55 000例^[1]。2011年我国黑色素瘤新发病例数6505例,死亡病例为2660例。相比之下,我国黑色素瘤患者死亡与新发病例的比例明显高于全球平均水平^[2]。近些年来,黑色素瘤的生物学治疗取得了突飞猛进的进展,在临床应用中取得激动人心的效果,现给予概要介绍,以供参考。

1 靶向治疗

1.1 MAPK/ERK 信号通路抑制剂

MAPK/ERK 信号通路由 RAS-RAF-MEK-ERK

等蛋白激酶组成,通过依次催化下级蛋白激酶而完成活化。

1.1.1 BRAF 抑制剂(威罗菲尼和达拉菲尼)

在已发现的RAF异构体中,BRAF与黑色素瘤的发生有密切关系。约50%的白人患者发生BRAF突变,其中80%~90%的BRAF突变是位于第15号外显子上的第1796位碱基T→A的突变,即BRAF V600E突变。该突变使BRAF的激酶活性增加10~20倍,从而增强了黑色素瘤细胞MAPK/ERK通路的活性^[3,4]。我国一项468例原发性黑色素瘤研究显示BRAF总突变率为25.9%,肢端和黏膜黑色素瘤的突变率为17.9%和12.5%,其中V600E是最常见的突变位点,这为中国患者使用BRAF V600抑制剂提供了依据^[5]。

2011年FDA批准威罗菲尼治疗晚期或不可切除的黑色素瘤,尤其是BRAF V600E突变患者。675

收稿日期:2016-10-07;修回日期:2017-02-21

基金项目:国家自然科学基金(81272989)

通讯作者:袁斯明,E-mail:yuansm@163.com

例 *BRAF* V600E 突变的初治晚期黑色素瘤患者的Ⅲ期试验结果显示, 威罗菲尼组半年生存率高于达卡巴嗪(DTIC)组, 分别为 84% 和 64%^[6]。Ⅱ期临床试验结果则表明其中位无进展生存期(PFS)为 6.8 个月, 中位总生存期(OS)为 15.9 个月。尽管威罗菲尼诱导超过半数的 *BRAF* 突变患者出现临床应答反应, 但通常在治疗 6~7 个月后产生耐药, 然后肿瘤又重新快速生长^[7]。

2013 年 FDA 也批准了达拉菲尼用于治疗晚期或不可切除黑色素瘤, 尤其是 *BRAF* V600E 突变患者。Ⅲ期临床研究中, 250 例 *BRAF* V600E 突变的晚期黑色素瘤患者, 按 3:1 分组接受达拉菲尼或 DTIC 治疗, 结果显示达拉菲尼组中位 PFS 明显高于 DTIC 组, 分别为 5.1、2.7 个月^[8]。Ⅱ期临床试验还表明, 达拉菲尼对于 *BRAF* 突变的脑转移黑色素瘤也有良好治疗效果^[9]。

1.1.2 MEK 抑制剂

促分裂原活化蛋白激酶激酶 (mitogen activated protein kinase kinase, MEK) 蛋白是一种双特异性激酶, 含有 2 个保守激酶基序, 一个涉及丝氨酸/苏氨酸残基磷酸化, 另一个涉及酪氨酸磷酸化。哺乳动物中表达 2 种 MEK 同系物 (MEK1 和 MEK2), MEK1/2 能够在两个位点连续磷酸化 ERK1/2, 最终导致正常细胞向肿瘤细胞转化, 因此通过抑制 MEK 活性、阻断 ERK 蛋白活性进而抑制黑色素瘤细胞的恶性生长^[10]。

2013 年 5 月 29 日 FDA 批准曲美替尼用于不可切除的或转移黑色素瘤患者。在Ⅲ期临床研究中, 322 例 *BRAF* V600 突变的转移性黑色素瘤患者以 2:1 的比例接受曲美替尼治疗或化疗, 结果表明, 与化疗组相比, 曲美替尼治疗组中位 PFS 显著延长 (4.8 个月 vs 1.5 个月), 6 个月总生存率显著提高 (81% vs 67%)^[11]。

1.1.3 BRAF 抑制剂联合 MEK 抑制剂

BRAF V600E 抑制剂通过抑制过度活化的 *BRAF* 分子, 来抑制过度激活的 MAPK 通路, 从而抑制肿瘤细胞的代谢活性。初始反应率较高, 但约 50% 患者在接受单一 *BRAF* 或 MEK 抑制剂治疗 6~7 个月后会产耐药。有些耐药性是通过重新激活 MAPK 途径而激活的, 如抑制剂治疗后的黑色素瘤出现 *NRAS*、*CRAF* 和 *MEK* 的突变和/或过表达^[12]。在对 *BRAF* 突变的黑色素瘤细胞系研究中发现, 只有通路中 3 种 RAS 亚型均被抑制, ERK 的激活才能

被成功抑制; 抑制 MEK 也是阻止细胞增殖的有效途径。因此, 为了对 MAPK 通路更为全面地抑制, *BRAF* 和 MEK 抑制剂的联合使用为此提供了可能。

2014 年 FDA 批准曲美替尼和达拉菲尼联合治疗 *BRAF* V600 突变的不可切除的或转移性黑色素瘤。142 例的Ⅰ/Ⅱ期研究结果显示, 与达拉菲尼单药相比, 联合治疗更能够有效提高临床获益。联合治疗组中 76% 的患者有肿瘤缩小或者消失, 平均持续时间为 10.5 个月, 而单药组为 54% 和 5.6 个月; 中位 PFS 分别为 9.4、5.8 个月^[14]。Ⅲ期临床试验则表明, 联合治疗不仅能显著提高总生存期, 且不增加总体毒性。704 例 *BRAF* V600 突变的晚期黑色素瘤患者随机接受联合治疗或威罗菲尼单药治疗。结果显示, 联合治疗组和单药组中位 PFS 分别是 11.4、7.3 个月, 客观缓解率(ORR)分别为 64%、51%, 而严重不良事件和停药率在两组相似^[15]。2015 年 FDA 也批准了考比替尼联合威罗菲尼的联合用药。该临床试验结果显示, 联合组和单药组 PFS 分别为 12.3、7.2 个月, 反应率分别为 70%、50%^[16]。

1.2 Kit 抑制剂

C-kit 原癌基因编码的 *c-kit* 蛋白是一种跨膜糖蛋白, 分布于细胞表面, 属于Ⅲ型酪氨酸激酶家族, 是干细胞因子的受体, 与配体结合后激活酪氨酸激酶, 进一步激活下游各种效应子, 完成信号传递, 包括 MAPK 通路及 AKT/PI3K 通路等, 诱导细胞增殖、分化、成熟。2004 年 Went 等^[17]首次发现恶性黑色素瘤中 *c-kit* 基因突变, 后来陆续有研究发现 *c-kit* 是肢端黑色素瘤及黏膜黑色素瘤的癌基因, 虽然 *c-kit* 基因突变仅占有所有黑色素瘤的 3%, 但在黏膜、肢端黑色素瘤和慢性日光型中分别可达 39%、36% 和 28%^[18]。在中国最常见的黑色素瘤亚型中, 还存在 *c-kit* 基因扩增^[19]。

甲磺酸伊马替尼是特异性酪氨酸激酶抑制剂。我国一项Ⅱ期临床研究表示, 伊马替尼治疗 *c-kit* 基因突变的转移性黑色素瘤, 可获得较高的总缓解率 (OR, 23.3%) 和疾病控制率 (DCR, 54%)。43 例 *KIT* 基因突变或扩增的晚期黑色素瘤患者在接受了伊马替尼治疗后, 中位 PFS 为 3.5 个月, 获得部分缓解 (PR) 或疾病稳定 (SD) 的患者 OS 为 15 个月^[20]。

1.3 PI3K/AKT/mTOR 抑制剂

BRAF 突变是高加索人最常见的突变类型, 占总数的 40%~50%。但其在我国黑色素瘤患者中的突

变率相对较低,仅 20%~25%。一项研究对我国 412 例黑色素瘤患者的 mTOR 突变情况进行了测序分析,总突变率为 10.4%,相比长期阳光暴露型皮损(chronically sun-damaged skin,CSD)及非长期阳光暴露型皮损(non-CSD),肢端及黏膜黑色素瘤的突变率明显较高,分别为 11.0%及 14.4%^[21]。另外,在黑色素瘤 BRAF 抑制剂耐药机制中也发现,肿瘤可通过激活 PI3K 从而激活 AKT 途径引起耐药。

mTOR 抑制剂联合抗血管生成药物贝伐单抗治疗转移性黑色素瘤也被证明是有效的,尤其对于 BRAF 野生型的患者。17 例初治的不可切除或转移黑色素瘤患者接受替西罗莫斯和贝伐单抗治疗,总的 DCR 为 19%,BRAF 野生型组的 ORR 达 30%,中位 PFS 显著高于突变组的患者,最大的疗效持续时间为 35 个月^[22]。目前针对存在 mTOR 突变的进展期黑色素瘤患者以及耐药患者,给予 mTOR 抑制剂的治疗也在研究之中。

1.4 抗血管生成靶向治疗

1.4.1 血管内皮抑制剂

重组人血管内皮抑制素(恩度)能特异地抑制内皮细胞增生并明显抑制肿瘤的生长和转移。我国一项 II 期临床试验共 110 例晚期黑色素瘤患者按 1:1 随机分为安慰剂组(DTIC+安慰剂)和治疗组(DTIC+恩度)。结果显示,两组中位 PFS 分别为 1.5 个月和 4.5 个月($HR=0.578, P=0.013$),中位 OS 分别为 8.0 个月和 12.0 个月($HR=0.522, P=0.005$),提示 DTIC+恩度也可以显著增加无法靶向治疗患者的 PFS 和 OS^[23]。

1.4.2 VEGF 抑制剂

VEGF 在黑色素瘤高表达,并在疾病进展中起重要作用。贝伐单抗选择性地与 VEGF-A 结合,阻碍 VEGF 与其受体在内皮细胞表面相互作用。但日前一项随机 II 期临床研究显示,患者在予以贝伐单抗联合化疗(卡铂加紫杉醇)与单纯化疗治疗后,中位 PFS 分别为 5.6 个月和 4.2 个月($HR=0.78, P=0.1414$),提示未能显著改善转移性黑色素瘤患者预后^[24]。

2 免疫治疗

2.1 细胞因子

2.1.1 IL-2

IL-2 是一种糖蛋白,在机体的免疫应答中有重

要作用。它能刺激 T 细胞增殖,活化 T 细胞;刺激 NK 细胞增殖,增强 NK 细胞的杀伤活性;促进 B 细胞增殖和分泌抗体;激活巨噬细胞等。高剂量 IL-2 于 1998 年经美国 FDA 批准用于静脉注射治疗晚期黑色素瘤。但高剂量 IL-2 的不良反应明显,近年来应用并不广泛。

2.1.2 干扰素(IFN)

IFN 有免疫调节、诱导分化、抗血管增生等多种作用,1995 年 IFN α -2b 被 FDA 批准作为黑色素瘤手术切除后辅助治疗,2011 年 FDA 又批准聚乙二醇干扰素 α -2b 用于高危的黑色素瘤患者术后辅助治疗。在 2015 年 ASCO 年会上我国郭军教授指出针对存在 BRAF 及 NRAS 突变的高危患者术后大剂量 IFN 辅助治疗,BRAF 突变患者可获益,但 NRAS 突变患者则无法同样获益。最新研究则表明,由于前哨淋巴结活检技术的发展,对于大量淋巴结中仅有少量肿瘤细胞的 III 期患者来说,干扰素治疗并不会带来更大的获益^[25]。

2.2 免疫负向调节阻滞剂

2.2.1 CTLA-4 抑制剂

CTLA-4 是一种白细胞分化抗原,是 T 细胞上的一种跨膜受体,与 CD28 共同享有 B7 分子配体,而 CTLA-4 与 B7 分子结合后诱导 T 细胞无反应性,参与免疫反应的负调节。

依匹单抗是一种重组人单克隆抗体,与 CTLA-4 结合后,能阻断 CTLA-4 与其配体相互作用,从而增强 T 细胞的活化和增殖。2011 年 FDA 批准了其用于治疗无法手术切除的晚期黑色素瘤,2015 年又批准其用于 III 期黑色素瘤患者的辅助治疗,以降低术后复发风险。

依匹单抗的 III 期临床试验即表明了其治疗有效性。676 例既往治疗失败的晚期黑色素瘤患者按 3:1:1 的比例随机分入联合组、易普利姆玛组,以及 gp100 组。结果显示中位 OS 分别为 10、10.1 个月、6.4 个月;ORR 分别为 5.7%、10.9%、1.5%^[26]。另一 III 期临床试验共入组 502 例未接受过治疗的晚期黑色素瘤患者,按 1:1 随机给予易普利姆玛+DTIC 或者 DTIC 单药治疗。结果显示联合组的 OS 显著延长(11.2 个月 vs 9.1 个月),同时联合组有着更高的生存率^[27]。对于术后辅助治疗的研究则表明,接受治疗组 PFS 显著提高(26.1 个月 vs 17.1 个月),同时治疗组复发风险降低 25%^[28]。

2.2.2 PD-1 单抗

PD-1 是 T 细胞表面的抑制性分子, T 细胞表面 PD1 与肿瘤细胞的 PD-L1 结合, 则会导致 T 细胞失能。抗 PD-1 单克隆抗体竞争性结合 PD-1, 从而解除了肿瘤细胞对 T 细胞的抑制, 杀伤肿瘤细胞。

派姆单抗是针对 PD-1 的高选择性人型 IgG4 抗体。2014 年 FDA 批准其用于对其他治疗无应答的晚期黑色素瘤患者。I 期临床试验结果提示 ORR 均达到 26%, 肿瘤缩小持续至少 1.4~8.5 个月^[29]。另一试验证明派姆单抗延长晚期黑色素瘤患者的 PFS 和 OS, 并减少相关不良反应。834 例 *BRAF* 突变的晚期黑色素瘤患者, 按派姆单抗 2 周组、3 周组或依匹单抗治疗后, 6 个月无进展生存率分别为 47.3%、46.4% 和 26.5%, 12 个月总生存率分别为 74.1%、74.1% 和 58.2%^[30]。

2014 年 12 月 22 日, 美国 FDA 批准了纳武单抗(全人型 IgG4 抗体)用于治疗无法手术切除或转移性黑色素瘤患者。I 期临床试验即显示临床获益。107 例复发的黑色素瘤患者分别接受不同剂量纳武单抗治疗, 结果显示全组中位 OS 为 16.8 个月, ORR 为 30.8%, 1 年、2 年、3 年的生存率分别为 62%、44% 和 40%; 同时 PD-L1(+) 与(-) 的患者 PFS 分别为 9.1 个月及 1.9 个月, 说明肿瘤表面 PD-L1(+) 有可能作为使用抗 PD-1 抗体的疗效预测指标之一^[31]。另一试验中进一步证实了纳武单抗能显著改善患者 OS 及 PFS, 418 例患者在给予纳武单抗或 DTIC 治疗, 1 年生存率分别为 72.9% 和 42.1%, 中位 PFS 分别为 5.1 个月和 2.2 个月, ORR 分别为 40% 和 13.9%^[32]。而对于依匹单抗治疗无效的黑色素瘤患者, 纳武单抗也显示出良好的治疗前景。III 期临床研究共入组 405 例依匹单抗耐药的转移性黑色素瘤患者, 按照 2:1 分组随机接受纳武单抗或 DTIC/卡铂联合紫杉醇化疗, 结果显示单抗组 ORR 高于化疗组(32% vs 11%), 不良反应率也明显降低(9% vs 31%)^[33]。

尽管约 75% 对 PD-1 抑制剂有效的患者在持续用药后可存在较持久的疗效, 但晚期可因免疫逃逸而致黑色素瘤延迟复发^[34]。

2.2.3 CTLA-4 抑制剂和 PD-1 抗体联合/序贯治疗

为了给患者带来更多的生存获益, 更多的免疫联合治疗也在积极探索中。86 例晚期黑色素瘤患者予以依匹单抗和纳武单抗联合或序贯给药, 结果显

示, 联合组有着更好的临床获益, ORR 分别为 40% vs 20%^[35]。另一项研究共入组 142 例晚期患者, 结果显示联合组的 ORR 为 60%, 单药组(依匹单抗)仅为 11%, PFS 分别为 8.9 个月、4.7 个月^[36]。另有研究表明 PD-L1 阴性患者联合用药获益更多, 945 例初治晚期黑色素瘤患者, 按 1:1:1 接受联合组、依匹单抗组和纳武单抗组治疗, 中位 PFS 分别为 11.5、2.9 和 6.9 个月, 而在 PD-L1 阴性患者中, 联合组 PFS 要显著长于单药组(11.2 vs 5.3 个月)^[37]。最近 ASCO 大会也公布了标准剂量的派姆单抗和小剂量依匹单抗联合治疗晚期黑色素瘤不仅安全, 疗效也佳, ORR 达 57%^[38]。

2.2.4 PD-L1(PD-1 配体)

PD-L1 为跨膜蛋白, 表达于抗原提呈细胞以及诸如黑色素瘤、非小细胞肺癌等实体肿瘤细胞内。PD-L1 或 PD-L2 与 T 细胞上的 PD-1 相结合, 可引起 T 细胞活性下调, 引起免疫逃逸。目前多个有关抗 PD-L1 的药物也都处于研发之中^[39]。

3 生物治疗

3.1 T-Vec

T-Vec 是一种经过基因修饰的 1 型单纯疱疹病毒(HSV-1), 它可以在肿瘤细胞内复制并表达免疫激活蛋白粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)。注射到黑色素瘤病灶中可造成肿瘤细胞的溶解, 从而使肿瘤细胞破裂, 释放出肿瘤源性抗原和 GM-CSF, 加速抗肿瘤的免疫应答。

2015 年 10 月 27 日, FDA 批准了 talimogene laherparepvec(Imlygic)用于首次术后复发的黑色素瘤患者不可切除病灶的局部治疗, 这也是首个获得 FDA 批准的溶瘤病毒类治疗药物。III 期临床试验中 436 例转移性黑色素瘤患者接受 T-Vec 或 GM-CSF 治疗, 结果显示 T-Vec 组持续缓解率显著高于 GM-CSF 组, 29.1% 的患者获得 CR, 70.8% 的患者获得 PR; 中位 OS 为 23.3 vs 18.9 个月^[40]。依匹单抗联合 T-Vec 治疗晚期黑色素瘤患者时, 19 例患者中 ORR 达到 50%, 4 例达 CR, 且缓解期长达 1 年, 74% 的病灶有缩小, 31% 完全消退^[41]。

3.2 PV-10

PV-10(10% rose bengal)是一种水溶性的氧杂

葱染料,PV-10注射于肿瘤病灶后,聚集在肿瘤细胞溶酶体内,导致肿瘤迅速裂解,继而引发肿瘤特异性T细胞介导的免疫反应。Ⅱ期研究共80例患者接受治疗,ORR达51%,中位疗效持续时间为4.0个月,其中42例患者观察到“旁观者效应”,即非注射病灶26%达到CR,7%获得PR^[42]。

一项研究表明,对晚期转移性黑色素瘤患者注射PV-10,不仅临床获益,还有免疫获益。8例患者在病变区域注射PV-10后,均可见肿瘤部分消退,其中4例获得病理上的CR的患者均为曾经接受过BRAF抑制剂或PD-1免疫治疗的转移性复发患者^[43]。

3.3 CVA21 (CAVATAK)

CVA21 (CAVATAK)是一种经生物选择具有溶瘤和免疫治疗活性的病毒株。通过特异性的病毒衣壳和细胞表面的病毒受体相结合,病毒基因组脱壳穿入从而摧毁细胞。黑色素瘤细胞表达相应的病毒受体较周围正常组织明显升高,有利于CAV21病毒进入肿瘤细胞通过子代病毒的高效播散,迅速发挥生物学作用,溶解肿瘤细胞同时,也发挥旁观者效应。Ⅱ期研究57例黑色素瘤患者CVA21注射,结果显示21例患者PFS达到6个月,ORR达28.1%。目前CVA21联合其它药物的研究也正在进行中。

4 展 望

黑色素瘤是一种恶性程度极高的实体肿瘤,自从2011年依匹单抗等药物经FDA批准上市后,黑色素瘤的小分子靶向治疗和免疫治疗的发展就一直处于前位,药物研发上的巨大成功,带来的是患者死亡率大大减少,特别是免疫治疗在黑色素瘤领域的成功,也为其它恶性肿瘤的治疗带来了巨大的启示。目前免疫药物联合/序贯治疗、靶向治疗的耐药研究、新型免疫药物的开发、生物标志物的探索等,均是未来发展的热点。但目前我国与国外治疗差距仍然悬殊,8款FDA批准的药物除了部分在我国已在开始临床试验,均尚未在我国上市,中国患者的生存率与国外也相差甚远,我国黑色素瘤患者病理类型、基因突变情况等与国外也不尽相同,因此需要更多的研究为中国黑色素瘤患者靶向、免疫、生物治疗的应用提供可靠的依据。

参考文献:

- [1] Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012 [J]. *Int J Cancer*, 2014, 136(5): E359-E386.
- [2] Melanoma Expert Committee of CSCO. Clinical practice guidelines in oncology: melanoma [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2015: 20-22. [CSCO黑色素瘤专家委员会. 中国黑色素瘤诊治指南[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 20-22.]
- [3] Bradish JR, Montironi R, Lopez-Beltran A, et al. Towards personalized therapy for patients with malignant melanoma: molecular insights into the biology of BRAF mutations [J]. *Future Oncol*, 2013, 9(2): 245-253.
- [4] Davies H, Bignell GR, Cox C, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. [J]. *Nature*, 2002, 417(6892): 949-954.
- [5] Si L, Kong Y, Xu X, et al. Prevalence of BRAF V600E mutation in Chinese melanoma patients: Large scale analysis of BRAF and NRAS mutations in a 432-case cohort [J]. *Eur J Cancer*, 2012, 48(1): 94-100.
- [6] Chapman PB, Hauschild A, Robert C, et al. Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation [J]. *N Eng J Med*, 2011, 364(26): 2507-2516.
- [7] Sosman JA, Kim KB, Schuchter L, et al. Survival in BRAF V600-mutant advanced melanoma treated with vemurafenib [J]. *N Eng J Med*, 2012, 366(8): 707-714.
- [8] Hauschild A, Grob JJ, Demidov LV, et al. Dabrafenib in BRAF-mutated metastatic melanoma: a multicentre, open-label, phase 3 randomised controlled trial [J]. *Lancet*, 2012, 380(9839): 358-365.
- [9] Long GV, Trefzer U, Davies MA, et al. Dabrafenib in patients with Val600Glu or Val600Lys BRAF-mutant melanoma metastatic to the brain (BREAK-MB): a multicentre, open-label, phase 2 trial [J]. *Lancet Oncol*, 2012, 13(11): 1087-1095.
- [10] Shen FW, Ye L, Liu JG, et al. Progress in small-molecule targeted therapy for the treatment of melanoma [J]. *Chinese Journal of New Drugs*, 2015, 3: 281-287. [申付文, 叶立, 刘敬阁, 等. 黑色素瘤小分子靶向药物研究进展[J]. 中国新药杂志, 2015, 3: 281-287.]
- [11] Flaherty KT, Robert C, Hersey P, et al. Improved survival with MEK inhibition in BRAF-mutated melanoma [J]. *N Engl J Med*, 2012, 367(2): 107-114.
- [12] Wagle N, Emery C, Berger MF, et al. Dissecting therapeutic resistance to RAF inhibition in melanoma by tumor genomic profiling [J]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(22): 3085-3096.
- [13] Chen L, Zhao DC, Liu LW, et al. Progress in molecular pathological diagnosis and individualized treatment of melanoma [J]. *Chinese Journal of Pathology*, 2014(9): 52-52. [程亮, 赵大春, 刘力玮, 等. 黑色素瘤的分子病理诊断和个体化治疗进展[J]. 中华病理学杂志, 2014(9): 52-52.]
- [14] Flaherty KT, Infante JR, Daud A, et al. Combined BRAF

- and MEK inhibition in melanoma with BRAF V600 mutations.[J]. *N Engl J Med*, 2012, 367(18):91-92.
- [15] Robert C, Karaszewska B, Schachter J, et al. Improved overall survival in melanoma with combined dabrafenib and trametinib[J]. *N Engl J Med*, 2014, 372(1):30-39.
 - [16] Larkin J, Ascierto PA, Dréno B, et al. Combined vemurafenib and cobimetinib in BRAF-mutated melanoma[J]. *N Engl J Med*, 2014, 371(20):1867-1876.
 - [17] Went PT, Dirnhofer S, Bundi M, et al. Prevalence of KIT expression in human tumors [J]. *J Clin Oncol*, 2004, 22(22):4514-4522.
 - [18] Curtin JA, Busam K, Pinkel D, et al. Somatic activation of KIT in distinct subtypes of melanoma.[J]. *J Clin Oncol*, 2006, 24(26):4340-4346.
 - [19] Li L, Kong Y, Li HF, et al. C-KIT gene amplification in 262 Chinese melanoma patients. [J]. *Chinese Clinical Oncology*, 2010, 15(5):385-389. [李丽, 孔燕, 李海夫, 等. 262例中国人黑色素瘤 C-KIT 基因扩增分析[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2010, 15(5):385-389.]
 - [20] 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]. *J Clin Oncol*, 2011, 29(21):2904-2909.
 - [21] Kong Y, Si L, Li Y, et al. Analysis of mTOR gene aberrations in melanoma patients and evaluation of their sensitivity to PI3K-AKT-mTOR pathway inhibitors[J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(4):1018-1027.
 - [22] Peyton JD, Spigel DR, Burris HA, et al. Phase II trial of bevacizumab and everolimus in the treatment of patients with metastatic melanoma: preliminary results [J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(Suppl 15):abstr 9027.
 - [23] Cui C, Mao L, Chi Z, et al. A phase II , randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter trial of Endostar in patients with metastatic melanoma. [J]. *Mol Ther*, 2013, 21(7):1456-1463.
 - [24] Kim KB, Sosman JA, Fruehauf JP, et al. BEAM: a randomized phase II study evaluating the activity of bevacizumab in combination with carboplatin plus paclitaxel in patients with previously untreated advanced melanoma[J]. *Eur J Cancer Suppl*, 2009, 7(3):34-41.
 - [25] Mcmasters KM, Egger ME, Edwards MJ, et al. Final results of the sunbelt melanoma trial: a multi-institutional prospective randomized phase iii study evaluating the role of adjuvant high-dose interferon alfa-2b and completion lymph node dissection for patients staged by sentinel lymph node biopsy[J]. *J Clin Oncol*, 2016, 37(1):S35.
 - [26] Hodi FS, O'day SJ, MC Dermott DF, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma [J]. *N Engl J Med*, 2010, 363(8):711-723.
 - [27] Robert C, Thomas L, Bondarenko I, et al. Ipilimumab plus dacarbazine for previously untreated metastatic melanoma. [J]. *N Engl J Med*, 2011, 364(26):2517-2526.
 - [28] Eggermont AMM, Chiarion-Sileni V, Grob JJ, et al. Adjuvant ipilimumab versus placebo after complete resection of high-risk stage III melanoma(EORTC 18071): a randomised, double-blind, phase 3 trial [J]. *Lancet Oncol*, 2015, 16(5):522-530.
 - [29] Robert C, Ribas A, Wolchok JD, et al. Anti-programmed-deathreceptor-1 treatment with pembrolizumab in ipilimumab-refractory advanced melanoma: a randomised dose-comparison cohort of a phase 1 trial[J]. *Lancet*, 2014, 384:1109-1117.
 - [30] Robert C, Schachter J, Long GV, et al. Pembrolizumab versus ipilimumab in advanced melanoma. [J]. *Br J Cancer*, 2015, 105(1):177-184.
 - [31] Schaller M, Bigler C, Danner D, et al. Survival, durable tumor remission, and long-term safety in patients with advanced melanoma receiving nivolumab.[J]. *J Clin Oncol*, 2014, 32(10):1020-1030.
 - [32] Robert C, Long G V, Brady B, et al. Nivolumab in previously untreated melanoma without BRAF mutation[J]. *N Engl J Med*, 2014, 372(4):320-330.
 - [33] Ascierto PA. Immunotherapies and novel combinations: the focus of advances in the treatment of melanoma [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2015, 64(3):271-274.
 - [34] Zaretsky JM, Garciadiaz A, Shin DS, et al. Mutations associated with acquired resistance to PD-1 blockade in melanoma.[J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(9):819-829.
 - [35] Wolchok JD, Kluger H, Callahan MK, et al. Nivolumab plus ipilimumab in advanced melanoma. [J]. *N Engl J Med*, 2013, 369(2):122-133.
 - [36] Postow, Michael A, Chesney J, et al. Nivolumab and ipilimumab versus ipilimumab in untreated melanoma [J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(21):2006-2017.
 - [37] Valsecchi ME. Combined nivolumab and ipilimumab or monotherapy in untreated melanoma.[J]. *N Engl J Med*, 2015, 373(1):23-34.
 - [38] Long GV, Atkinson V, Cebon JS, et al. Pembrolizumab plus ipilimumab for advanced melanoma: results of the keynote-029 expansion cohort[J]. *J Clin Oncol*, 2016, 34:9506.
 - [39] Lu YY, Guo XL. Advance development of immunotherapy on malignant melanoma with targeting inhibition of PD-L1/PD-1[J]. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 2015, 50(22):1931-1935. [鹿玉印, 郭秀丽. 靶向抑制 PD-L1/PD-1 的免疫治疗恶性黑色素瘤新进展[J]. *中国药学杂志*, 2015, 50(22):1931-1935.]
 - [40] Andtbacka RH, Kaufman HL, Collichio F, et al. Talimogene laherparepvec improves durable response rate in patients with advanced melanoma [J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(25):2780-2788.
 - [41] Puzanov I, Milhem MM, Minor D, et al. Talimogene laherparepvec in combination with ipilimumab in previously untreated, unresectable stage III B-IV melanoma[J]. *J Clin Oncol*, 2016, 34(22):2619-2626.
 - [42] Thompson JF, Agarwala SS, Smithers BM, et al. Phase 2 study of intralesional PV-10 in refractory metastatic melanoma[J]. *Ann Surg Oncol*, 2014, 22(7):2135-2142.
 - [43] Sarnaik A, Crago G, Liu H, et al. Assessment of immune and clinical efficacy after intralesional PV-10 in injected and uninjected metastatic melanoma lesions.[J]. *Cytokine*, 2013, 64(1):1-10.