

患者腫瘍移植モデルにおける分子標的治療薬の細胞内薬物動態解析に基づく創薬開発

濱田 哲 暢

Drug Development Based on Intracellular Pharmacokinetic Analysis of Molecular Target Drug in Mice Bearing Patient-derived Xenograft Model

Akinobu Hamada

Division of Molecular Pharmacology, National Cancer Center Research Institute;
5-1-1 Tsukiji, Chuo-ku, Tokyo 104-0045, Japan.

(Received August 27, 2019)

Traditionally, anticancer drug discovery research has been conducted based on immortalized cancer cell lines, either cultured *in vitro* or grown *in vivo*. In the USA and Europe, patient derived xenograft (PDX) model is rapidly expelling traditional *in vitro* and *in vivo* models due to the good predictability of clinical outcome and its nature of retaining characteristics and heterogeneity in the original tumor. Furthermore, a significant association was also reported between drug responses in patient and corresponding PDX as high as 87%. We are preparing a PDX model for Japanese cancer patients including drug resistance examples and rare cancers. Using the established PDX model, we confirmed the possibility that the tumor microenvironment might affect the efficacy and distribution of drugs even if the target receptor is expressed in tumor sites as compared to the cell line (CDX) model, which has been widely used in drug discovery. Interestingly, although expressing a target receptor in viable tumor cells, we also have found a PDX model with a lower distribution of molecular target drug. Therefore we will evaluate the usefulness of the PDX model in drug development by exploring new biomarkers and elucidating the mechanisms of drug resistance in target tumors. Moreover, pharmacodynamic system will allow us to visualize the exposure and distribution of drugs in tumors at macro and micro levels. Finally, we evaluate relations between distribution of drugs in the tumor microenvironment including target tumor cells, neovessels, stromal cells, immune cells, and fibroblasts.

Key words——patient derived xenograft (PDX); heterogeneity; anticancer agent; pharmacodynamic; microenvironment

1. はじめに

がん治療開発において新規薬剤開発の発展が不可欠である。従来型の殺細胞型抗がん薬に加えて、分子標的治療薬、宿主の免疫応答性に反応する免疫チェックポイント薬剤、細胞療法治療が開発されており競争が激しい。早期に有望な医薬品候補化合物を見い出し、有効性を予測するシステム開発の開発は喫緊の課題である。¹⁾ 一般に、創薬研究における *in vivo* 薬効評価モデルの多くは、樹立細胞株系を免疫不全マウスに移植した cell line-derived xenograft (CDX) モデルであり、がん組織構造体の不均一性を反映した非臨床モデル開発が望まれ

る。²⁾ 本稿では、薬効試験への応用が期待されるがん患者由来の動物モデルの開発と発展が著しい薬物イメージングについて概説し、両者を組み合わせた創薬開発応用への筆者の研究室の戦略をまとめる。

2. 創薬開発の目利きと見極め

医薬品開発コストが上昇し続けていることから、新薬候補化合物を医薬品としての可能性を早期に見極め、開発初期から医薬品候補を絞り込み、「Go」or「No Go」を決定する指標の開発が急務である。1990年代では、薬剤開発中止の原因の1つは、主に薬物動態・薬剤学的な特性に起因するものである。¹⁾ 選択された化合物の安定性あるいは半減期・吸収性に難があるためとされてきた。2000年以降は、それらを予測する手法が開発されたが、後期相での開発失敗は、投資金額も大きいことから、有効性・安全性に係わる予測システム開発が望まれる。以上の背景から、薬剤作用機序を確認する proof of

国立がん研究センター研究所分子薬理研究分野 (〒104-0045 東京都中央区築地 5-1-1)

*e-mail: akhamad@ncc.go.jp

本総説は、日本薬学会第139年会シンポジウム S45 で発表した内容を中心に記述したものである。

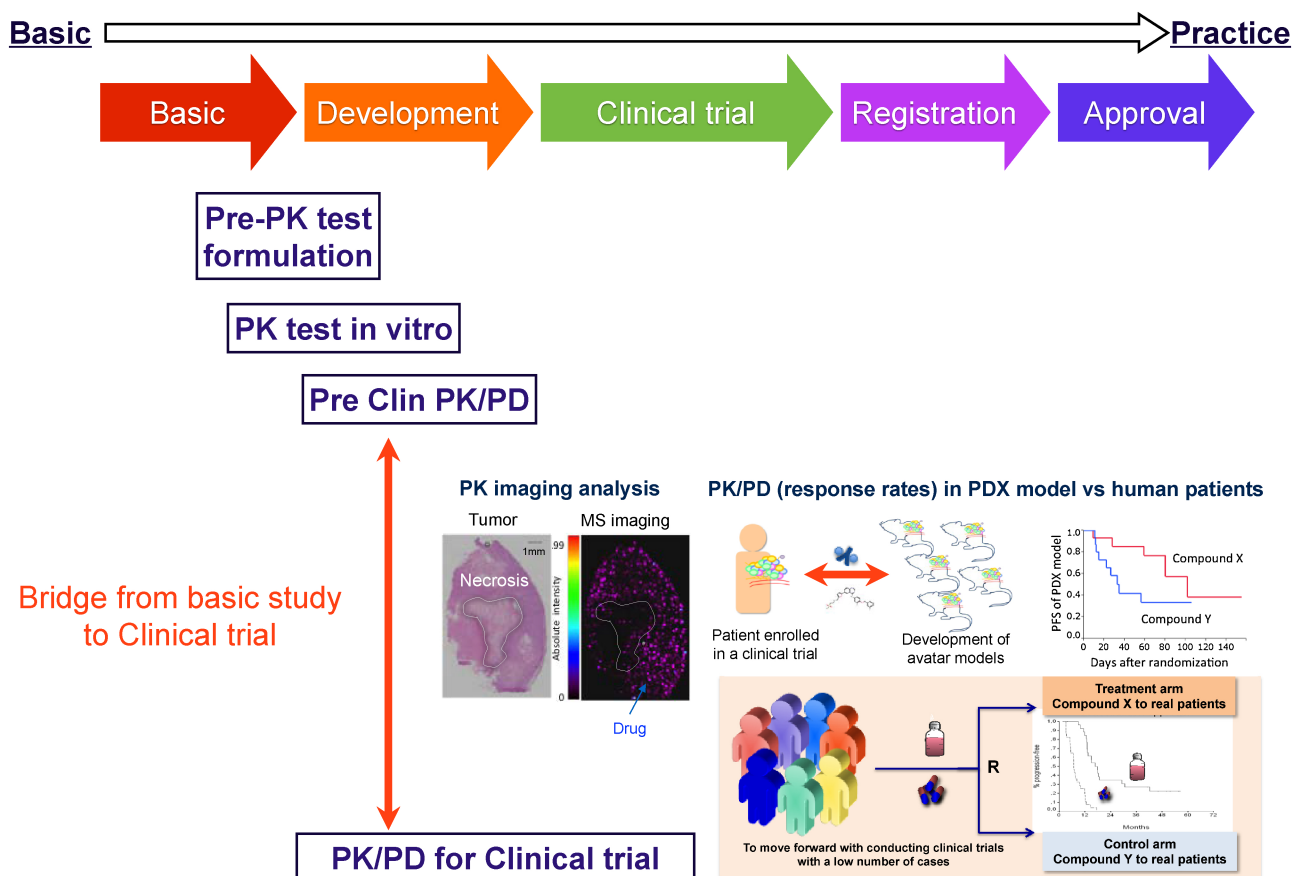


Fig. 1. Role of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics (PK/PD) Study in Pharmaceutical Research and Drug Development Process

(Color figure can be accessed in the online version.)

concept (POC) を取得することは、創薬研究開発におけるマイルストーンの 1 つとして重要である。

3. 抗がん薬創薬開発における薬物動態研究の応用

抗がん薬の創薬開発プロセスにおける薬物動態研究の役割をまとめる (Fig. 1)。第 I 相臨床試験において、動物からヒトへつなぐ最初の研究が臨床薬理研究とされており、候補化合物のヒトへの最初の適用として薬物動態解析が実施されることから、動物並びにヒトにおける薬物血中濃度と薬物動態解析結果は、医薬品開発プロセスにおける基礎と臨床をつなぐ橋渡しに重要な役目を持つ。薬物血中濃度と薬力学作用との相関解析、有効性・安全性が期待される濃度の推定 (目標薬物濃度)、薬物代謝あるいは薬物輸送タンパク同定などのデータは、創薬開発において重要な評価項目である。非臨床並びに患者を対象とする臨床薬理研究では、全身血中濃度循環を指標とするクリアランス、最高血中濃度、定常状

態血中濃度、薬物血中濃度・時間曲線下面積など薬物動態パラメータが取得される。薬力学作用は、薬物反応性・有害作用を指標するものが多い。しかしながら、多くの固形腫瘍を対象とした臨床研究により、腫瘍縮小効果と薬物血中濃度の相関が認められないことが経験されているため、腫瘍組織における薬物分布の詳細な解析が求められる。よって、ヒトの腫瘍の不均一性を表す評価モデルの開発が必須である。特に、薬剤標的腫瘍組織における薬物分布解析は、標的受容体に結合する分子標的薬のコンセプトを検証する POC になることが期待できる。筆者らは、標的部位の薬物動態可視化の技術開発として薬物イメージングの研究を進めており、³⁻⁹⁾ 非臨床から臨床研究への橋渡しの手法の 1 つとして薬剤開発に応用し、後述する動物モデルを用いた薬効試験と薬物イメージング試験を実施している。

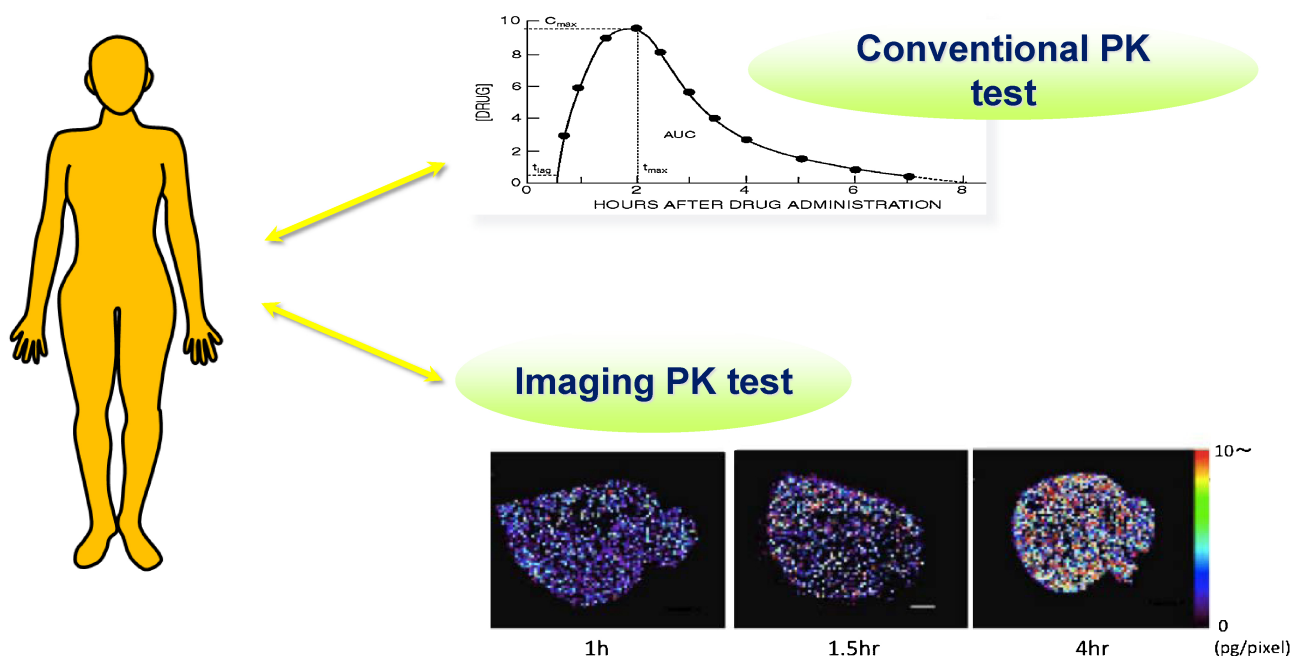


Fig. 2. Conventional PK and Imaging PK Test

The plasma concentration of a drug often does not correlate well with the quantity of drug distributed in target tissue. Imaging PK test is a complementary technology that enables visualization of the quantity and distribution of the drugs. (Color figure can be accessed in the online version.)

4. 薬物イメージングの drug delivery system (DDS)/抗がん薬創薬研究への応用

標的腫瘍組織への薬物デリバリー低下は、治療効果の低下に直接的につながるため、DDS研究で重要な研究指標と推察される。腫瘍組織への薬剤デリバリーの低下は、治療効果の低下につながると推定されるが詳細な解明は不十分である。さらに、腫瘍組織における薬剤デリバリーの不均一性が解釈を困難とする。¹⁰⁾ 治療効果は腫瘍への薬剤デリバリーと相関するが、腫瘍細胞間質組織の生理的・構造的要因（炎症、壊死の有無）、腫瘍細胞における薬物代謝・解毒・薬物輸送タンパク、化合物の物理化学的性質（分子量、溶解度、電荷）、腫瘍血管の透過性の変化・毛細血管構造異常が影響する。しかしながら、これまで多くの薬剤感受性・抵抗性の研究では、標的腫瘍の遺伝子変異解析、タンパク発現解析などが主流であるため、変化を予測するのが困難である。よって、細胞レベルでの薬剤分布の空間情報に影響を与えずに評価することが求められる。腫瘍細胞・組織をターゲットとするDDS製剤において組織・細胞レベルでの薬剤分布の空間情報である薬物イメージング技術は、創薬デザインにおいて重要な指標になると期待される (Fig. 2)。

薬物イメージング技術は2つに分けられ、生体を

非侵襲的に観察できる *in vivo* 生体イメージングである、positron emission tomography, magnetic resonance spectrometry imaging, 及び、侵襲的であるが詳細な解析も可能とする *in vitro* 分子イメージングである whole-body autoradiography, mass spectrometry imaging (MSI), fluorescence microscopy などに分けることができる。¹¹⁾ それぞれの手法には一長一短があるため、複数の解析手法にて評価することが望ましい。筆者の研究室では、従来薬物動態研究で汎用されてきた高速液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析を用いて、腫瘍組織濃度を測定し、薬物イメージングで得られた結果を検証している。³⁾ しかしながら、腫瘍組織は、不均一であるため、組織の一部を採取しホモジナイズされた腫瘍組織中濃度は組織の正確な薬剤分布を示すことは不可能である。標的細胞に対する薬剤局在を解析する手法として、MSIは、対象薬物の標識化が不要であり、手術あるいは生検で得られた生体試料を用いて、組織中の薬物を直接可視化するため応用の幅が大きい。

DDS研究への応用では、抗がん薬パクリタキセルを製剤学的工夫であるミセル化により腫瘍内取込の増大現象の可視化が報告されている。¹²⁾ 分子標的治療薬を対象とした研究では、エルロチニブが腫瘍

組織に選択的に分布することを臨床並びに動物モデルで明らかにされ、⁸⁾ エルロチニブの特異的な毒性である皮膚障害発症例においては、真皮に比較し、角質層において薬剤分布濃度が高い傾向が認められている。⁹⁾ ラパチニブ投与後のイヌ肝臓内の未変化体及び代謝物 M10 (Z-Oxime) の分布の可視化解析により、未変化体ラパチニブと代謝物 M10 の生体分布が明らかに異なり、肝障害による炎症部位に選択的に M10 が分布することが報告されている。¹³⁾ さらに、難治がんの 1 つである膠芽腫発症マウスモデルにおけるエリブリン投与治療では、選択的に腫瘍転移部位に薬剤が分布することを確認している。⁴⁾

腫瘍組織・病変部位への薬物取り込み量を可視化されることは、DDS 研究だけでなく、薬剤開発において強いインパクトを与える。2次元で得られる画像上の薬物濃度を示すシグナル強度が定量性確認は重要な事項である。すなわち、薬物イメージング解析において議論となるのは、画像が示す定量性の信頼性であるため、複数の切片を利用してイメージング解析画像と信頼性・堅牢性が高い LC-MS/MS を用いた測定結果と比較することが必要である。⁴⁾ さらに、生体試料の採取方法、前処理方法（凍結、ホルマリン固定の可否）、検体調製測定条件、内部標準物質の有無が必要であり、発展途上の技術であることを強調しておきたい。

5. 臨床に近い動物モデルの必要性

一般に、非臨床試験を通過して臨床試験に移行し、承認を受ける確率は 5% 程度と報告されている。これは他の領域の薬剤開発の 11% と比較しても低い。従来、抗がん薬の薬剤スクリーニング、ドラッグデザインでは、ヌードマウスにヒト腫瘍から樹立された腫瘍細胞株を移植するモデルが用いられてきた。ヒト腫瘍細胞株として、米国立がん研究所 (National Cancer Institute; NCI) が開発した NCI-60 cell line、がん研究会が開発した J-FCR39 が広く知られている。樹立細胞株は、がん患者の手術検体や胸水、腹水等から採取されたがん細胞が *in vitro* で無限増殖が可能となったものであるため、遺伝学的背景が均一な細胞集団であるため、再現性が高い非臨床試験が可能といわれている。さらに、細胞株移植動物モデルは、比較的作製が容易であるメリットがある。しかし、長年の継代培養に伴

う腫瘍特性の変化、腫瘍の不均一性、間質・血管等が認められないため、患者腫瘍とは生育環境が異なっていることが課題である。2016 年に NCI は、抗がん薬スクリーニングにおいて、NCI-60 の使用を再検討すると発表した。¹⁴⁾ Precision medicine では、当然のことであるが、腫瘍細胞のドライバー遺伝子変異が薬剤選択の指標である。既に、肺がん領域では、組織型に加えて遺伝子変異に基づくサブカテゴリに分類され、各カテゴリに割り当てる分子標的薬治療が主流である。一方、樹立細胞株は、何世代にわたり培養されていることから、樹立当初の腫瘍特性が維持されないため、ドライバー変異に基づく創薬スクリーニングに適さない可能性が指摘されている。がん患者由来の腫瘍組織片を直接、高度免疫不全マウスに移植して作製する patient derived xenograft (PDX) model が注目されている。¹⁵⁻¹⁷⁾ 腫瘍本来の生物学的特性として、組織学的特性、ゲノム情報、及びがん細胞の heterogeneity が高度に保存される。網羅的遺伝子発現データ解析結果により、オリジナル腫瘍が有するドライバー遺伝子及びシグナル伝達経路活性の大部分は保存されていることから、高い治療効果予測能を有することが期待される。事実、PDX と臨床の治療効果一致率は 80% 以上との報告もあり、5% 程度といわれる細胞株移植モデルと比較すると驚異的な高さである。臨床試験に進める薬剤 (Go or No Go) を効率的に決定できれば、患者の負担削減だけでなく、開発コストの削減も期待できる。

6. PDX モデルの作製と活用

PDX モデルの作製にあたっては、移植する腫瘍の種類、形状、移植部位並びにマウスの種類を選択が重要である。悪性度が高い進行がん、原発と比較し転移腫瘍組織においてマウスへの生着率が高く、生着に必要な時間は、通常 2-4 ヶ月必要である。腫瘍生検や手術で得られた患者腫瘍を数 mm 角に切出した組織片を使用するのが一般的であるが、その他、胸水、腹水、さらには、血中循環腫瘍細胞を用いた PDX の作製についても報告がある。使用マウスは、NOG, NSG マウスなど、免疫機能が著しく不活化される高度免疫不全マウスが汎用される (Table 1)。¹⁸⁾ 移植腫瘍組織の生着率は、腫瘍の種類に異なり、悪性黒色腫や大腸がんでは 80% 以上、乳がんでは約 30% の生着率と報告されている。ま

Table 1. List of Immunodeficient Mouse Strains

	NOG NSG NOJ	NOD Rag-2/ γ c KO Rag-2/Jak3 KO	BALB/c Rag-2/ γ c KO Rag-2/Jak3 KO	NOD/Scid	BALB/c Nude
B cell	Absent	Absent	Absent	Absent	Present
T cell	Absent	Absent	Absent	Absent	Absent
Dendritic cells	Defective	Defective	Present	Defective	Present
Macrophages	Defective	Defective	Present	Defective	Present
NK cells	Absent	Absent	Absent	Defective	Present
Compliment	Absent	Absent	Present	Absent	Present
Lymphoma incidence	Low	Low	Low	High	Low

Modified from The Jackson Laboratory's JAX® Mice and Services website, (<https://www.jax.org/jax-mice-and-services/find-and-order-jax-mice/most-popular-jax-mice-strains/immunodeficient-mouse-and-xenograft-host-comparisons>).

た、乳がんの皮下移植では30%程度の生着率しか得られないが、同所移植では60%以上の生着率が得られる。¹⁶⁾

7. 国立がん研究センターにて整備されている日本人由来 PDX ライブラリー (J-PDX) とトランスレーショナルリサーチへの応用

平成29年度に国立研究開発法人日本医療研究開発 (Japan Agency for Medical Research and Development; AMED) 医療研究開発革新基盤創成 (Cyclic Innovation for Clinical Empowerment; Ci-CLE) 事業の支援を受けて「がん医療推進のための日本人がん患者由来 PDX ライブラリー (J-PDX) 整備事業」を開始している。この事業では、難治性及び治療抵抗性となった腫瘍組織や希少がんから採取された PDX ライブラリーの整備を進めている。J-PDX ライブラリーでは、樹立前後の臨床情報と PDX の解析情報 (病理組織学的情報、治療応答情報、がんゲノム情報、各種オミックス情報等) の一元管理を目指しており、患者情報が紐付けられることから個人情報保護に特に注意を払っている。すなわち、患者個々の治療歴やゲノム情報、オミックス解析等を連結させて保管することが肝要である。さらに、検体採取後も臨床経過が情報として追加されるため、患者情報は国立がん研究センターにて適切に管理している。

本研究事業では、新規抗がん薬開発のための臨床試験と並行する PDX モデルを用いた非臨床試験 (Co-Clinical study, Avatar study) の実施を目指している。^{2,19)} 本コンセプトは、非臨床 (治験に参加

するがん患者由来の樹立 PDX マウスによる非臨床試験) と臨床試験を同時に進行させる臓器横断臨床試験 (avatar preclinical trial using personalized patients-derived xenograft model in early drug development of a new candidate drug; Answer Study) を進行中である (Fig. 3)。動物モデルの治療効果と薬物イメージングを併用して臨床試験で直接的に比較することから、動物モデルの有用性を直接的に比較可能であるだけでなく、治療前あるいは治療抵抗性を示したときの PDX の作製が可能であるため、POC の確認あるいは薬剤不応性・耐性メカニズムの研究に有用である。

8. 創薬研究における PDX 利用の課題

臨床において増殖や浸潤の過程で腫瘍組織の遺伝子上のダイナミックな変化が生じるため、PDX がヒトの完全な代替になるとは考え難いが、現時点では最も固形腫瘍の特性を反映するモデルの1つである。PDX 作製に加えて PDX モデルを用いた薬理試験について、樹立方法と実施方法の標準化は発展途上であり、データ信頼性・再現性・客観性の確保を図るために作業手順の標準化や品質保証等に係わるレギュラトリーサイエンスに手法開発が求められる。²⁰⁾ 移植成功率が10-50%と幅があり、がんの種類によって大きく異なるため、標準的プロトコル確立が喫緊の課題である。また、継代毎にクローンが選択されることから、がん患者オリジナル腫瘍との比較解析が求められる。PDX の継代回数と感受性の変化、増殖率の変化に意見がまとまっていない。さらに、病理像が同じといえども、増殖スピードが

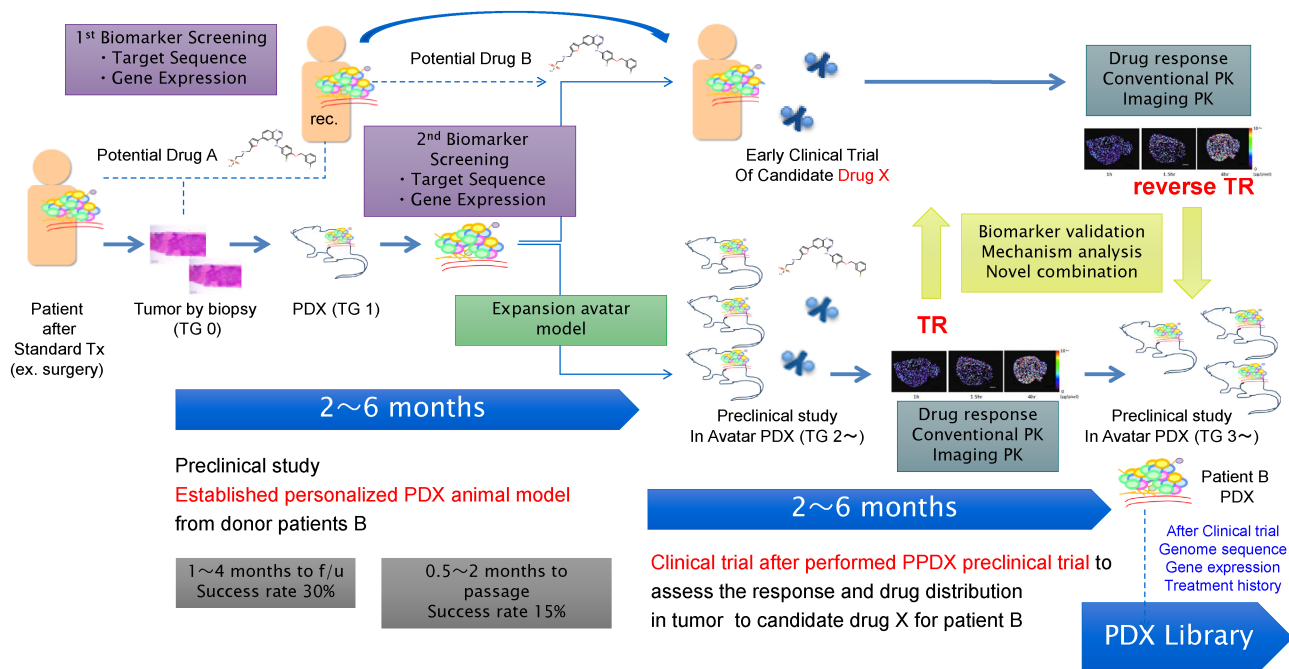


Fig. 3. Avatar Preclinical Trial Using Personalized Patients-derived Xenograft Model in Early Drug Development of a New Candidate Drug: Answer Study

If the tumor derived from the donor patient has a target X driver gene mutation, this patient group could be enrolled in a future clinical trial to a new candidate drug of target X driver gene mutation. The translational researcher evaluates the efficacy of drug X in personalized PDX models before starting a clinical study to estimate clinical efficacy. Drug X: small molecule, antibody, antibody-drug conjugates. (Color figure can be accessed in the online version.)

増大することは、腫瘍特性の変化が予想されるが、現時点では、継代回数の制限が現実的である。ヨーロッパのアカデミアを中心とする PDX を利用するコンソーシアムである EurOPDX は、腫瘍間質がヒトからマウスに置換され、腫瘍細胞と間質の相互作用に対して乖離を生じさせる可能性があることから、継代回数が 5 回以下の PDX を薬理試験などに用いることを推奨している。その他、継代回数とゲノム変異の変化が報告されたことから注意が必要である。²¹⁾

腫瘍の皮下又は同所移植は、腫瘍微小環境を正確に反映しないため、腫瘍微小環境の解析が重要である。ドナー患者腫瘍の間質組織と腫瘍組織を同時に移植したとしても、経時的にヒト間質はマウス間質に置き換わるとから、腫瘍細胞以外の間質・血管を標的とする薬剤スクリーニングに適さない可能性がある。また、悪性度が高く容易に転移する腫瘍細胞特性が、アバターモデルにて反映されるか未知数である。時間の経過とともに、ドライバー遺伝子の突然変異の蓄積が予想される。PDX モデルがドナー患者で観察される突然変異と同様の変異を生じるか評価すべきと考える。

患者由来の PDX モデルを創薬研究へ有効活用するためには、産業利用を前提とした研究体制の整備が必須である。PDX モデルの樹立・保存・維持管理には、高コストの超免疫不全動物を使用すること、樹立期間が長いこと (3 ヶ月から 1 年)、患者試料を提供するための医療機関での手続き (倫理審査、患者への説明・同意の取得等) の煩雑さ、がん患者組織と PDX モデルの相互解析 (ゲノム解析、病理学的解析等) が必須である。なお、最も重要なことは、無償で将来の研究活動に利活用することから、個人を識別することができないように厳重な匿名化処理と管理体制が必須である。なお、筆者の研究室では、PDX に加えて患者検体を取り扱うトランスレーショナルリサーチにおいて、医師・薬剤師・検査技師などの医療職免許保有者を担当者として原則任命している。

9. まとめ

PDX の細胞株にない特性について紹介したが、あくまでもヒトの代替に過ぎないことを理解すべきであり、100%の互換は不可能である。投与された薬剤の生体内の薬物代謝・輸送経路は、マウス生体

内で行われることから、薬物相互作用や宿主に対する薬剤毒性の予測は不可能であること、ヒトの異物に対する免疫応答性は複雑であることから、免疫チェックポイント薬剤への外挿は困難であることを強調しておきたい。また、レギュラトリーサイエンスの観点から非臨床薬理試験におけるPDXの利用に関するガイドラインが未整備であるため、実際の臨床効果の予測性は未確定な部分が多い。しかしながら、PDXモデルを用いた創薬研究には、解決すべき課題も指摘されるが、基礎と臨床をつなぐ手法の1つと期待される。高品質で樹立・管理されたPDX株を用いたオミックス解析を実施し、薬物標的探索、薬剤治療抵抗性メカニズム解明と耐性機構の同定に利活用されることで創薬開発の成功確率の向上と効率化につながり、結果的にがん患者へ日本発の新規医薬品を届けることが加速されることを期待している。

謝辞 本論文は、国立研究開発法人日本医療研究開発の医療研究開発革新基盤創成事業「がん医療推進のための日本人がん患者由来PDXライブラリー整備事業」の成果の一部をまとめたものである。

利益相反 開示すべき利益相反はない。

REFERENCES

- 1) Kola I., Landis J., *Nat. Rev. Drug. Discov.*, **3**, 711–715 (2004).
- 2) Hidalgo M., Amant F., Biankin A. V., Budinská E., Byrne A. T., Caldas C., Clarke R. B., de Jong S., Jonkers J., Mælandsmo G. M., Roman-Roman S., Seoane J., Trusolino L., Villanueva A., *Cancer Discov.*, **4**, 998–1013 (2014).
- 3) Nishidate M., Hayashi M., Aikawa H., Tanaka K., Nakada N., Miura S. I., Ryu S., Higashi T., Ikarashi Y., Fujiwara Y., Hamada A., *Drug Metab Pharmacokinet.*, **34**, 209–216 (2019).
- 4) Takahashi M., Miki S., Fujimoto K., Fukuoaka K., Matsushita Y., Maida Y., Yasukawa M., Hayashi M., Shinkyo R., Kikuchi K., Mukasa A., Nishikawa R., Tamura K., Narita Y., Hamada A., Masutomi K., Ichimura K., *Cancer Sci.*, **110**, 2247–2257 (2019).
- 5) Nishimura M., Hayashi M., Mizutani Y., Takenaka K., Imamura Y., Chayahara N., Toyoda M., Kiyota N., Mukohara T., Aikawa H., Fujiwara Y., Hamada A., Minami H., *Oncotarget*, **9**, 18540–18547 (2018).
- 6) Nishidate M., Yamamoto K., Masuda C., Aikawa H., Hayashi M., Kawanishi T., Hamada A., *Sci. Rep.*, **7**, 16763 (2017).
- 7) Ryu S., Hayashi M., Aikawa H., Okamoto I., Fujiwara Y., Hamada A., *Br. J. Pharmacol.*, **175**, 29–37 (2018).
- 8) Tsubata Y., Hayashi M., Tanino R., Aikawa H., Ohuchi M., Tamura K., Fujiwara Y., Isobe T., Hamada A., *Sci. Rep.*, **3**, 12622 (2017).
- 9) Aikawa H., Hayashi M., Ryu S., Yamashita M., Ohtsuka N., Nishidate M., Fujiwara Y., Hamada A., *Sci. Rep.*, **6**, 23749 (2016).
- 10) Morton J. J., Bird G., Refaeli Y., Jimeno A., *Cancer Res.*, **76**, 6153–6158 (2016).
- 11) Schwamborn K., Caprioli R. M., *Nat. Rev. Cancer*, **10**, 639–646 (2010).
- 12) Yasunaga M., Furuta M., Ogata K., Koga Y., Yamamoto Y., Takigahira M., Matsumura Y., *Sci. Rep.*, **3**, 3050 (2013).
- 13) Castellino S., Groseclose M. R., Wagner D., *Bioanalysis*, **3**, 2427–2441 (2011).
- 14) Ledford H., *Nature*, **530**, 391 (2016).
- 15) Byrne A. T., Alf  rez D. G., Amant F., Annibaldi D., Arribas J., Biankin A. V., Bruna A., Budinsk   E., Caldas C., Chang D. K., Clarke R. B., Clevers H., Coukos G., Dangles-Marie V., Eckhardt S. G., Gonzalez-Suarez E., Hermans E., Hidalgo M., Jarzabek M. A., de Jong S., Jonkers J., Kemper K., Lanfranccone L., M  landsmo G. M., Marangoni E., Marine J. C., Medico E., Norum J. H., Palmer H. G., Peeper D. S., Pelicci P. G., Piris-Gimenez A., Roman-Roman S., Rueda O. M., Seoane J., Serra V., Soucek L., Vanhecke D., Villanueva A., Vinolo E., Bertotti A., Trusolino L., *Nat. Rev. Cancer*, **17**, 254–268 (2017).
- 16) Izumchenko E., Paz K., Ciznadija D., Sloma I., Katz A., Vasquez-Dunddel D., Ben-Zvi I., Stebbing J., McGuire W., Harris W., Maki R., Gaya A., Bedi A., Zacharoulis S., Ravi R., Wexler L. H., Hoque M. O., Rodriguez-Galindo C., Pass H., Peled N., Davies A.,

- Morris R., Hidalgo M., Sidransky D., *Ann. Oncol.*, **28**, 2595–2605 (2017).
- 17) Gao H., Korn J. M., Ferretti S., Monahan J. E., Wang Y., Singh M., Zhang C., Schnell C., Yang G., Zhang Y., Balbin O. A., Barbe S., Cai H., Casey F., Chatterjee S., Chiang D. Y., Chuai S., Cogan S. M., Collins S. D., Damassa E., Ebel N., Embry M., Green J., Kauffmann A., Kowal C., Leary R. J., Lehar J., Liang Y., Loo A., Lorenzana E., Robert McDonald E., McLaughlin M. E., Merkin J., Meyer R., Naylor T. L., Patawaran M., Reddy A., Röelli C., Ruddy D. A., Salangsang F., Santacrose F., Singh A. P., Tang Y., Tinetto W., Tobler S., Velazquez R., Venkatesan K., Von Arx F., Wang H. Q., Wang Z., Wiesmann M., Wyss D., Xu F., Bitter H., Atadja P., Lees E., Hofmann F., Li E., Keen N., Cozens R., Jensen M. R., Pryer N. K., Williams J. A., Sellers W. R., *Nat. Med.*, **21**, 1318–1325 (2015).
- 18) Okada S., Vaeteewoottacharn K., Kariya R., *Chem. Pharm. Bull.*, **66**, 225–230 (2018).
- 19) Malaney P., Nicosia S. V., Davé V., *Cancer Lett.*, **344**, 1–12 (2014).
- 20) Mattar M., McCarthy C. R., Kulick A. R., Qeriqi B., Guzman S., de Stanchina E., *Front. Oncol.*, **19**, 19 (2018).
- 21) Ben-David U., Ha G., Tseng Y. Y., Greenwald N. F., Oh C., Shih J., McFarland J. M., Wong B., Boehm J. S., Beroukhir R., Golub T. R., *Nat. Genet.*, **49**, 1567–1575 (2017).