

速報

大腸がん細胞における分子標的薬 foretinib 抵抗性獲得メカニズムの解明

永野ひかる[†], 松山知葉未, 間部由佳理, 砂川実乃莉, 檜垣七菜子, 吉田萌恵, 近藤茂忠

¹大阪府立大学総合リハビリテーション学研究所栄養支援系領域, 大阪府羽曳野市はびきの3丁目7番30号

受付: 2021年10月15日, 受理: 2021年10月26日

Elucidation of molecular mechanism of foretinib-induced adaptive resistance in colon cancer cells

Hikaru NAGANO[†], Chinami MATSUYAMA, Yukari MANABE, Minoru SUNAGAWA, Nanako HIGAKI, Moe YOSHIDA, Shigetada KONDO.

¹Department of Clinical Nutrition, Graduate School of Comprehensive Rehabilitation, Osaka Prefecture University

Received 15 October 2021; accepted 26 October 2021

Key words: がん分子標的薬, 大腸がん, 獲得耐性

1 緒言

がん分子標的薬は, がん患者の治療成績を飛躍的に向上させた新しい抗がん剤である。種々の増殖因子受容体が伝達する細胞増殖, 浸潤, 転移などのシグナルを直接特異的に阻害することで, 腫瘍縮小効果を示す。「夢の治療薬」として登場した分子標的薬であるが, 臨床の問題点として治療開始後数か月でほとんどの患者に薬剤抵抗性が出現することが報告されている¹⁻⁴。

近年, 分子標的薬抵抗性獲得のメカニズムとして, 別の増殖因子受容体をバイパス経路として活性化し, 分子標的薬により阻害された増殖因子受容体を代償していることが報告されている⁵。表皮細胞増殖因子受容体 (EGF-R) は肺がんや大腸がんにおいて, 過剰発現してがんの悪性化に関与している。分子標的薬によって EGF-R は長期間阻害されると, バイパス経路として, 細胞遊走や浸潤に関わる肝細胞増殖因子受容体 (HGF-R) や⁶, がん細胞生存やがん細胞増殖に関与するインスリン様増殖因子受容体 (IGF-1R) が活性化される⁷。また, 分子標的薬によって IGF-1R が長期間阻害されると, EGF-R がバイパス経路として活性化する⁸。

バイパス経路活性化によるがん分子標的薬抵抗性を解決するアプローチとして, 複数の異なる分子標的薬を多剤併用する研究が進んでいる。具体的には, 大腸がん, 肺がんで血管内皮細胞増殖因子受容体 (VEGF-R) 分子標的薬と EGF-R 分子標的薬の併用が行われている^{9,10}。加えて肺

がんにおいては EGF-R 分子標的薬と HGF-R 分子標的薬の併用が特に行われている¹¹。乳がんや肺がんにおいては IGF-1R 分子標的薬と EGF-R 分子標的薬の併用が実施されている^{7,8,12}。

我々はこれまでの研究で血管内皮細胞に作用し, がん血管新生を阻害する分子標的薬抗 VEGF-R 阻害薬 sunitinib ががん細胞に直接作用すること, がん細胞の VEGF-R が長期間阻害されるとバイパス経路として HGF-R 経路が活性化することを明らかにしてきた¹³⁻¹⁸。

本研究では, 大腸がん細胞が獲得した sunitinib 抵抗性克服のために, VEGF-R と HGF-R を阻害するチロシンキナーゼ阻害剤 foretinib を使用した結果, 大腸がんが新たに foretinib 耐性を獲得することを明らかにした。またそのメカニズムとして, HGF-R が EGF-R と複合体を形成し, 再活性化していることを見出した。

2 研究方法

2.1 試薬

分子標的薬として, VEGF-R チロシンキナーゼおよび HGF-R チロシンキナーゼ阻害剤である foretinib, および EGF-R チロシンキナーゼ阻害剤である erlotinib (いずれも Selleck Chemicals, Houston, USA) を使用した。ウェスタンブロット解析では, ウサギモノクローナル抗リン酸化 HGF-R 抗体 (D26), ウサギモノクローナル抗 HGF-R 抗体 (D1C2), ウサギモノクローナル抗リン酸化 EGF-R 抗体 (D7A5), ウサギモノクローナル抗 EGF-R 抗体 (D38B1),

[†]連絡著者 E-mail: nagano@rehab.osakafu-u.ac.jp

抗ウサギ IgG ホースラディッシュペルオキシダーゼ (HRP) 結合抗体 (#7074), 抗マウス IgG HRP 結合抗体 (#7076) (以上全て Cell Signaling Technology, Danvers, USA), およびマウスモノクローナル抗ヒト β -アクトリン抗体 (clone AC-74) (Sigma-Aldrich) を使用した。共免疫沈降解析では, マウスモノクローナル抗 HGF-R 抗体 (H-10), およびマウスモノクローナル抗 EGF-R 抗体 (528) (いずれも Santa Cruz Biotechnology, Dallas, USA) を使用した。

2.2 細胞培養

ヒト大腸がん細胞株 HCT116 は American Type Culture Collection (Rockville, USA) から入手し, 1% ウシ胎児血清 (FBS) (SAFC Biosciences; Merck KGaA, Darmstadt, Germany), 100U/ml ペニシリンおよび 0.1mg/ml ストレプトマイシン (Nacalai Tesque Inc., Kyoto, Japan) を含む RPMI-1640 培地 (Nacalai Tesque Inc.) で 37°C, 5% CO₂ 下で培養した (HCT/parent)。細胞への分子標的薬処理は全て, foretinib 10nM, erlotinib 5 μ M で行った。

2.3 foretinib 適応細胞の樹立

HCT116 に foretinib (10nM) に 3 か月間継続的に処理することで, foretinib 適応細胞 (HCT/foretinib) を樹立した¹¹。

2.4 ウェスタンブロット解析

ウェスタンブロット解析は文献 7 に則して解析を行った。細胞抽出液はライシスバッファー [125mM Tris-HCl (pH7.0), 4% (v/v) ドデシル硫酸ナトリウム (SDS), および 10% (v/v) グリセロール] を用いて抽出した。タンパク質濃度はピシニコニン酸タンパク質アッセイ (BCA) キット (Nakarai tesque Inc.) により決定した。タンパク質を SDS-PAGE サンプルバッファー [10% (v/v) グリセロールおよび 0.4% (v/v) メルカプトエタノール (2ME)] で SDS 化し, 総タンパク質 50 μ g/ウェルを 10% SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (PAGE) で分離した後, ポリフッ化ビニリデン膜 (Bio-Rad Laboratories, California, USA) へと転写した。メンブレンを 5% スキムミルクで室温, 1 時間ブロッキングした後, 一次抗体を 4°C にて 18 時間反応させた。使用した一次抗体は, ウサギモノクローナル抗リン酸化 HGF-R 抗体 (1:1000), ウサギモノクローナル抗 HGF-R 抗体 (1:1000), ウサギモノクローナル抗リン酸化 EGF-R 抗体 (1:1000), ウサギモノクローナル抗 EGF-R 抗体 (1:5000), およびマウスモノクローナル抗ヒト β -アクトリン抗体 (1:10000) である (カッコ内は希釈倍率)。その後, 二次抗体の抗ウサギ IgG HRP 結合抗体 (1:10000) および抗マウス IgG HRP 結合抗体 (1:10000) を, 27°C にて 1 時間反応させた。メンブレンを ECL ウェスタンブロット検出試薬 (GE Healthcare Life Sciences, Little Chalfont, UK) で化学発光させ, ChemiDog imaging system (Bio-Rad Laboratories) を用いて検出した。

2.5 遊走能の解析

遊走能の解析は文献 7 に則して行った。5 \times 10⁴ 個の細胞を, 1%FBS を含む RPMI-1640 培地 0.25ml で懸濁し, 8- μ m pore membrane chamber (ノンコーティング) (BD Bioscience, Franklin Lakes, USA) に播種した。下部コンパートメントには 4%FBS を含む RPMI-1640 培地を 0.75 ml 入れた。標準条件下 (37°C/5% CO₂) で 24 ~ 48 時間の培養後, 上部コンパートメントから下部コンパートメントに移動した遊走細胞を, ヘマカラーキット (Merck) で染色した。メンブレンをスライドガラスに封入し, BZ-X710 蛍光顕微鏡 (Keyence, Osaka, Japan) を用い観察した。遊走細胞の数は, 高倍率視野 (HPF) (20 倍) から 4 ~ 6 視野をランダムに選択し, カウントした。

2.6 共免疫沈降解析

共免疫沈降解析の手順は文献 7 に則して行った。細胞は HBSS (+) (Nakarai Tesque Inc.) で 2 回洗浄した後, ジチオビス (プロピオン酸スクシンイミジル) (DSP) (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) でタンパク質を架橋した。細胞をライシスバッファー [50mM HEPES (pH7.0), 150mM NaCl, 10mM EDTA, 1.5mM MgCl₂, 1% Nonidet P-40, 1% Triton X-100, 1mM フッ化フェニルメチルスルホン, 1mM オルトバナジン酸ナトリウム, 0.5% デオキシコール酸ナトリウム, 20mM フッ化ナトリウム, および 20mM ピロリン酸ナトリウム] を用いて氷上で抽出し, 得られた細胞抽出液を 27 ゲージの注射針を用いてホモジナイズした後, 16,000rpm, 4°C で 20 分間遠心した。BCA キットを用いて上清細胞抽出液のタンパク質濃度を決定した。総タンパク質 500 μ g に, マウスモノクローナル抗 HGF-R 抗体 (H-10), およびマウスモノクローナル抗 EGF-R 抗体 (528) をそれぞれ 2 μ g 加え, 緩やかに転倒混和しながら 4°C, 一晚反応させた。次にプロテイン G マグネットダイナビーズ (Thermo Fisher Scientific) を 4°C で 2 時間反応させた後, 免疫沈降物を洗浄し, SDS-PAGE サンプルバッファー [125mM Tris-HCl (pH7.0), 4% (v/v) ドデシル硫酸ナトリウム (SDS), 2% (v/v) メルカプトエタノール (2ME), および 10% (v/v) グリセロール] でタンパク質を SDS 化した。その後, ウェスタンブロット解析を行った。

2.7 統計処理

統計学的検討は Student t 検定を用い, 有意差判定は 1% とした。結果の誤差範囲は平均 \pm 標準偏差で表している。

3 結果

3.1 分子標的薬 foretinib (VEGF-R/HGF-R 阻害薬) に対する抵抗性の獲得

我々は VEGF-R 分子標的薬 (sunitinib) 長期間処理によって, 大腸がん細胞が sunitinib に対して抵抗性を獲得することを報告した。またそのメカニズムとして HGF-R バイパス経路の活性化することを見出した¹⁵。そこで本研

究では、VEGF-Rに加え、バイパス経路のHGF-Rを同時に阻害すると抵抗性は獲得されずに済むのかどうかを検討するため、VEGF-RとHGF-Rの両方を阻害できる分子標的薬 (foretinib) を用いた。

まず、ヒト大腸がん細胞株 HCT116 に foretinib を短期間 (24 時間) 処理した結果を示す。foretinib によって HGF-R の活性化は強く阻害され (Fig. 1A), 抵抗性獲得の細胞表現型である遊走能の活性化は見られなかった (Fig. 1B)。そこで次に、foretinib 長期処理 (3ヶ月) における抵

抗性出現を検討するため、HCT116 細胞を foretinib 存在下で3か月間培養し、foretinib 適応細胞 (HCT/foretinib) を樹立した¹⁵。foretinib 適応細胞ではコントロール細胞 (HCT/parent) と比較し、遊走能の著しい増大が見られ、foretinib 抵抗性を獲得していることが明らかになった (Fig. 1C)。これらの結果から、大腸がん細胞は VEGF-R と HGF-R の2つの経路を同時に阻害しても、長期間処理を継続すると sunitinib と同様に抵抗性を獲得することが示された。

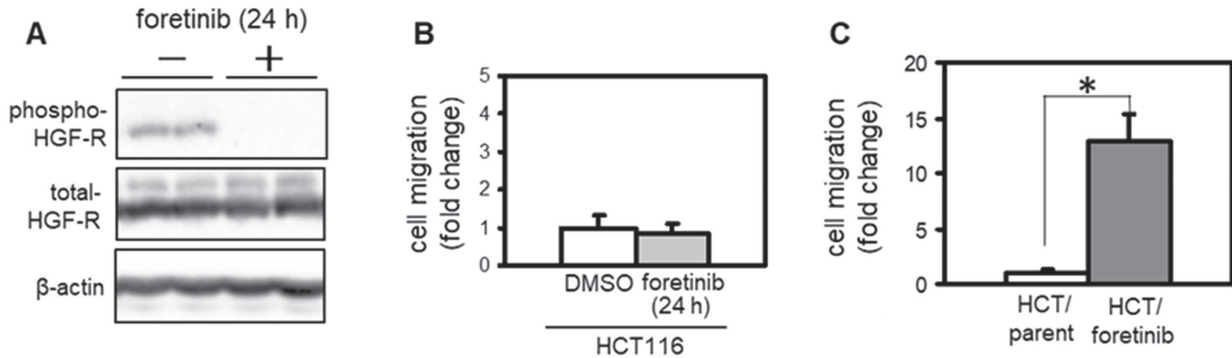


Fig. 1 分子標的薬 foretinib (VEGF-R/HGF-R 阻害薬) に対する抵抗性の獲得

(A, B) HCT116 細胞に foretinib を 24 時間処理し, (A) HGF-R およびリン酸化 HGF-R のウェスタンブロット解析と, (B) 遊走能の解析 ($n = 4$, means \pm SD) を行った. (C) HCT116 に foretinib を 3 か月間 (90 日間) 継続的に処理し, foretinib 適応細胞 (HCT/foretinib) を樹立した. コントロールとして HCT116 細胞の未処理群を HCT/parent 細胞とし, それぞれの遊走能を解析した ($n = 4$, means \pm SD). * $P < 0.01$ (Student t 検定)

3.2 foretinib 抵抗性の分子メカニズムの解明

foretinib 抵抗性獲得の分子機構を明らかにするため、foretinib の標的分子である HGF-R のリン酸化レベルの経時的な変化をウェスタンブロット解析にて検出した。foretinib 処理 15 日間時点では、HGF-R はほぼ完全に阻害されていた (Fig. 2A)。しかし、foretinib 処理期間が 60 日を超えると、HGF-R が再び活性化していることが明らかになった (Fig. 2A)。

増殖因子受容体である EGF-R は、肺がん細胞において HGF-R とヘテロ複合体を形成し、HGF-R をリガンド非依存的に活性化すること (トランスアクチベーション) が知られている¹⁹。そこで本研究で用いる foretinib 適応細胞においても同様の機構が働き、HGF-R が再活性化されたのではないかと仮説を立てた。この仮説を証明するため、EGF-R のリン酸化レベルの経時的な変化をウェスタンブロット解析で検討した。その結果、HGF-R の再活性化と EGF-R の活性化亢進が同時期に起こっていることが解った (Fig. 2B)。

foretinib 適応細胞における HGF-R の再活性化に EGF-R の活性化が必須であるのかどうかを検討するため、foretinib 適応細胞に EGF-R 特異的な分子標的薬 (erlotinib) を 24 時間処理し、EGF-R の活性化を完全に阻害した (Fig. 2C)。このとき HGF-R の活性化が維持されて

いるか解析したところ、完全に阻害されることが明らかになった (Fig. 2D)。これらの結果から、foretinib 適応細胞における HGF-R の再活性化は EGF-R 活性化に依存していることが解った。

次に、foretinib 適応細胞において HGF-R は EGF-R とヘテロ複合体を形成しているのか、またその場合ヘテロ複合体が HGF-R の再活性化に関与しているのかを解析するため、タンパク質の架橋を行い、共免疫沈降実験とウェスタンブロット解析を行った。HGF-R を HGF-R 特異的抗体で免疫沈降し、HGF-R と共沈降する EGF-R のタンパク量とそのリン酸化レベルをウェスタンブロット解析した。その結果、コントロール細胞と比較し、foretinib 適応細胞で HGF-R/EGF-R 複合体形成が増加していることが解った (Fig. 2E)。さらに、複合体を形成する EGF-R は活性化していた (Fig. 2E)。同様に EGF-R を EGF-R 特異的抗体で免疫沈降し、ヘテロ複合体形成能と HGF-R のリン酸化レベルを解析すると、EGF-R/HGF-R ヘテロ複合体の形成及び HGF-R のリン酸化は foretinib 適応細胞で増加していた (Fig. 2F)。これらの結果から、上述の仮説の通り、foretinib 適応細胞では HGF-R と EGF-R のヘテロ複合体の形成が促進される。さらに、トランスアクチベーションにより EGF-R/HGF-R の共活性化が促進されることが foretinib 抵抗性獲得のメカニズムであることが示唆され

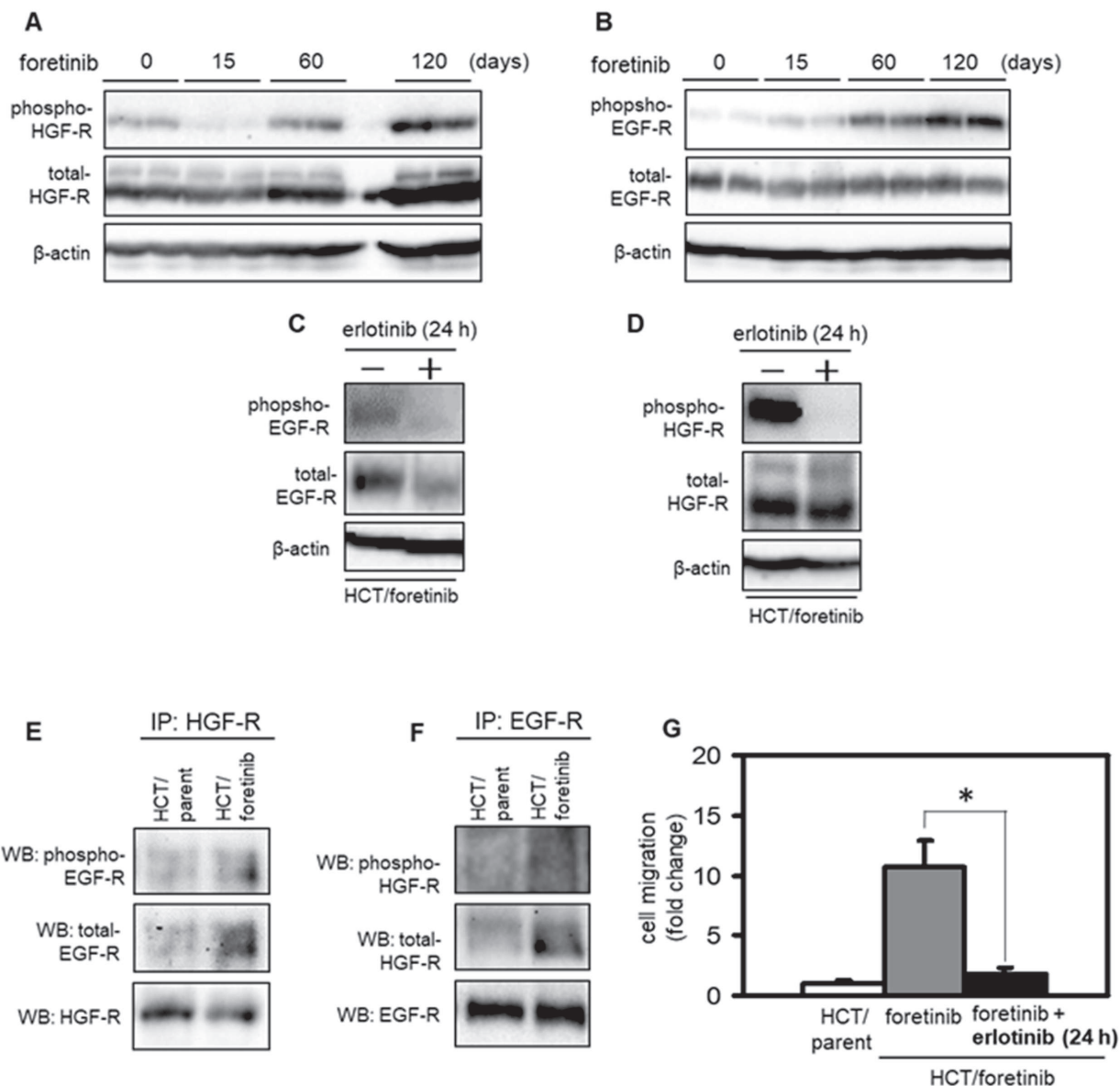


Fig. 2 foretinib 抵抗性の分子メカニズムの解明

(A, B) HCT116 細胞に foretinib を処理し、処理期間 0,15,60,120 日でサンプルを採取した。ウェスタンブロット解析により (A) リン酸化 HGF-R および HGF-R, (B) リン酸化 EGF-R および EGF-R の発現量の経時変化を測定した。(C,D) HCT/foretinib 細胞に erlotinib を 24 時間処理し、ウェスタンブロット解析により (C) リン酸化 EGF-R および EGF-R, (D) リン酸化 HGF-R および HGF-R の発現量を測定した。(E) HCT/parent 細胞および HCT/foretinib 細胞において、HGF-R を HGF-R 特異的抗体で免疫沈降し、HGF-R と共沈降する EGF-R およびリン酸化 EGF-R の量をウェスタンブロット解析した。(F) E と同様に、EGF-R を EGF-R 特異的抗体で免疫沈降し、EGF-R と共沈降する HGF-R およびリン酸化 HGF-R の量をウェスタンブロット解析した。(G) HCT/foretinib 細胞に erlotinib を (5 μ M) を 24 時間処理し、遊走能を解析した (n = 4, means \pm SD). *P < 0.01 (Student t 検定)

た。

さらに foretinib 適応細胞に erlotinib を併用し、VEGF-R, HGF-R, および EGF-R を全て同時に阻害すると、抵抗性の表現型である遊走能は抑制されるのかどうかを解析した。24 時間の erlotinib の併用は、遊走能の活性化をキャンセルした (Fig. 2G)。このことから、erlotinib の併用は、foretinib 抵抗性を解除できることが明らかとなった。

4 考察

本研究では、大腸がん細胞における分子標的薬に対する多剤抵抗性の出現とその分子機構を解明した。我々の研究グループを含め複数の研究グループが VEGF-R 分子標的薬である sunitinib への抵抗性を獲得したがん細胞において、阻害された VEGF-R 経路の代わりに HGF-R バイパス経路が活性化され、遊走、浸潤、および転移の活性化などが生じ、

がんが悪性化することが報告されている¹³⁻¹⁸。本研究では、大腸がん細胞が獲得した sunitinib 抵抗性を解除する方法として、VEGF-R および HGF-R バイパス経路の両方を阻害できる分子標的薬 foretinib を用いた。foretinib は短期間 (~15days) の使用では抗腫瘍効果を示したが、2か月以上の使用を続けると遊走能が亢進し、抵抗性が出現した。近年の研究で、VEGF-R に対する分子標的薬の他にも、数多くのがん分子標的薬に抵抗性が生じることが解っている⁴。分子標的薬抵抗性獲得メカニズムには、代償的な増殖因子受容体の遺伝子増幅、発現亢進、リン酸化の亢進などのバイパス経路の活性化が起こっていることが様々な研究グループにより明らかにされている⁵。抵抗性獲得の責任分子を標的とするアプローチが抵抗性を克服する研究として、数多く行われている^{7, 9-12, 20}。がん細胞が foretinib 抵抗性を獲得する1つのメカニズムとして、がん細胞が上皮間葉転換 (EMT) の形質を獲得することがこれまでに報告されているが²¹、それ以上の詳細な分子機構及びバイパス経路についてはこれまで明らかにされていなかった。

本研究では、foretinib 抵抗性獲得の責任分子が EGF-R であることを同定した。VEGF-R/HGF-R 共阻害実験により、HGF-R は EGF-R とヘテロ複合体を形成して、トランスアクチベーションにより自身の活性化を恒常的に維持していることを明らかにした。更に、foretinib と EGF-R に対する分子標的薬である erlotinib を併用し、抵抗性の責任分子である EGF-R と、VEGF-R および HGF-R をマルチに阻害した。その結果、抗腫瘍効果が得られ、foretinib 抵抗性を解除することができた。

分子標的薬の治療が当初は有効であった患者においても、治療開始後数か月で抵抗性を生じることが報告されている^{22, 23}。また、これまでの分子標的薬の多剤併用により抵抗性が克服される in vitro の結果も多く報告されているが、いずれの研究も数時間~数日の短期的な薬剤処理による結果であり、多剤併用の長期的な影響が考慮されていない。本研究の erlotinib 処理期間も 24 時間と短期間の処理にとどまっている。このことから、今後 erlotinib の併用を長期間続けていくと、foretinib 抵抗性と同様に erlotinib 抵抗性が引き起こされることは、予想に難くない。将来的には分子標的薬の多剤併用によるアプローチとは異なる全く別のアプローチを実施する必要があると考える。

5 結論

本研究では、がん細胞が VEGF-R 阻害剤である foretinib に対する抵抗性が EGF-R 阻害剤である erlotinib によって解除できることを示した。しかしながら、erlotinib 抵抗性が生じる可能性は大きく、今後、分子標的薬の多剤抵抗性を解除する新たなアプローチを探索する必要がある。

6 文献

- 1 Nahta R, Yu D, Hung MC, et al. (2006) Mechanisms of disease: Understanding resistance to HER2-targeted therapy in human breast cancer. *Nat Clin Pract Oncol*, 3: 269-280.
- 2 Zhang Z, Lee JC, Lin L, et al. (2012) Activation of the AXL kinase causes resistance to EGFR-targeted therapy in lung cancer. *Nat Genet*, 44: 852-860.
- 3 Bergers G, Hanahan D (2008) Modes of resistance to anti-angiogenic therapy. *Nat Rev Cancer*, 8: 592-603.
- 4 Engelman JA, Settleman J (2008) Acquired resistance to tyrosine kinase inhibitors during cancer therapy. *Curr Opin Genet Dev*, 18: 73-79.
- 5 Wood KC (2015) Mapping the pathways of resistance to targeted therapies. *Cancer Res*, 75: 4247-4251.
- 6 Bardelli A, Corso S, Bertotti A, et al. (2013) Amplification of the MET receptor drives resistance to anti-EGFR therapies in colorectal cancer. *Cancer Discov*, 3: 658-673.
- 7 Morgillo F, Woo JK, Kim ES, et al. (2006) Heterodimerization of insulin-like growth factor receptor/epidermal growth factor receptor and induction of survivin expression counteract the antitumor action of erlotinib. *Cancer Res*, 66: 10100-10111.
- 8 Riedemann J, Sohail M, Macaulay VM (2007) Dual silencing of the EGF and type 1 IGF receptors suggests dominance of IGF signaling in human breast cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 355: 700-706.
- 9 Ramalingam S, Forster J, Naret C, et al. (2008) Dual inhibition of the epidermal growth factor receptor with cetuximab, an IgG1 monoclonal antibody, and gefitinib, a tyrosine kinase inhibitor, in patients with refractory non-small cell lung cancer (NSCLC): A phase I study. *J Thorac Oncol*, 3: 258-264.
- 10 Falchook GS, Kurzrock R (2015) VEGF and dual-EGFR inhibition in colorectal cancer. *Cell Cycle*, 14: 1129-1130.
- 11 Leighl NB, Tsao MS, Liu G, et al. (2017) A phase I study of foretinib plus erlotinib in patients with previously treated advanced non-small cell lung cancer: Canadian cancer trials group IND. 196. *Oncotarget*, 8: 69651-69662.
- 12 Tandon R, Kapoor S, Vali S, et al. (2011) Dual epidermal growth factor receptor (EGFR)/insulin-like growth factor-1 receptor (IGF-1R) inhibitor: A novel approach for overcoming resistance in anticancer treatment. *Eur J Pharmacol*, 667: 56-65.
- 13 Shojaei F, Lee JH, Simmons BH, et al. (2010)

- HGF/c-Met acts as an alternative angiogenic pathway in sunitinib-resistant tumors. *Cancer Res*, 70: 10090-10100.
- 14 Shojaei F, Simmons BH, Lee JH, et al. (2012) HGF/c-Met pathway is one of the mediators of sunitinib-induced tumor cell type-dependent metastasis. *Cancer Lett*, 320: 48-55.
 - 15 Tomida C, Yamagishi N, Nagano H, et al. (2018) VEGF pathway-Targeting drugs induce evasive adaptation by activation of neuropilin-1/cMet in colon cancer cells. *Int J Oncol*, 52: 1350-1362.
 - 16 Sennino B, Ishiguro-Oonuma T, Schriver BJ, et al. (2013) Inhibition of c-met reduces lymphatic metastasis in RIP-Tag2 transgenic mice. *Cancer Res*, 73: 3692-3703.
 - 17 Sennino B, Ishiguro-Oonuma T, Wei Y, et al. (2012) Suppression of tumor invasion and metastasis by concurrent inhibition of c-Met and VEGF signaling in pancreatic neuroendocrine tumors. *Cancer Discov*, 2: 270-287.
 - 18 Lu KV, Chang JP, Parachoniak CA, et al. (2012) VEGF Inhibits Tumor Cell Invasion and Mesenchymal Transition through a MET/VEGFR2 Complex. *Cancer Cell*, 22: 21-35.
 - 19 Tanizaki J, Okamoto I, Sakai K, et al. (2011) Differential roles of trans-phosphorylated EGFR, HER2, HER3, and RET as heterodimerisation partners of MET in lung cancer with MET amplification. *Br J Cancer*, 105: 807-813.
 - 20 Zhang J, Jiang X, Jiang Y, et al. (2016) Recent advances in the development of dual VEGFR and c-Met small molecule inhibitors as anticancer drugs. *Eur J Med Chem*, 108: 495-504.
 - 21 Kim DC, Park KR, Jeong YJ, et al. (2016) Resistance to the c-Met inhibitor KRC-108 induces the epithelial transition of gastric cancer cells. *Oncol Lett*, 11: 991-997.
 - 22 Jayson GC, Kerbel R, Ellis LM, et al. (2016) Antiangiogenic therapy in oncology: current status and future directions. *Lancet*, 388: 518-529.
 - 23 Jayson GC, Hicklin DJ, Ellis LM (2012) Antiangiogenic therapy-evolving view based on clinical trial results. *Nat Rev Clin Oncol*, 9: 297-303.