

Focal Adhesion Kinase (FAK) と Insulin-like growth factor-I receptor (IGF-IR) に対するデュアルチロシンキナーゼ阻害剤の食道腺癌における抗腫瘍効果

渡辺 信之^{a*}, 高岡 宗徳^a, 櫻間 一史^a, 友野 靖子^c, 畠山 慎二^e, 大森 修^e,
元木 崇之^a, 白川 靖博^a, 山辻 知樹^a, 羽井 佐実^d, 松岡 順治^a, David G. Beer^f,
長塚 仁^b, 田中 紀章^a, 猶本 良夫^a

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 ^a消化器腫瘍外科, ^b口腔病理学, ^c重井医学研究所, ^d岡山市民病院 外科,
^eノバルティス ファーマ筑波研究所, ^fミシガン大学 胸部外科

キーワード: Focal Adhesion Kinase (FAK), バレット食道癌, FAK 阻害剤

Dual Tyrosine Kinase Inhibitor for Focal Adhesion Kinase and Insulin-like Growth Factor-I Receptor Exhibits an Anticancer Effect in Esophageal Adenocarcinoma in Vitro and in Vivo

Nobuyuki Watanabe^{a*}, Munenori Takaoka^a, Kazufumi Sakurama^a, Yasuko Tomono^c, Shinji Hatakeyama^e,
Osamu Ohmori^c, Takayuki Motoki^a, Yasuhiro Shirakawa^a, Tomoki Yamatsuji^a, Minoru Haisa^d, Junji Matsuoka^a,
David G. Beer^f, Hitoshi Nagatsuka^b, Noriaki Tanaka^a, Yoshio Naomoto^a

Departments of ^aGastroenterological Surgery, Transplant, and Surgical Oncology, ^bOral Pathology and Medicine, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, ^cShigei Medical Research Institute, ^dDepartment of Surgery, Okayama Citizens' Hospital, ^eTsukuba Research Institute, Novartis Pharma K.K., ^fDepartment of Surgery, Section of Thoracic Surgery, University of Michigan Medical School

はじめに

Focal Adhesion Kinase (FAK) は約1030のアミノ酸からなる非レセプター型チロシンキナーゼの一つであり、インテグリンや成長因子シグナルを調節し、細胞増殖、分化、アポトーシスなどにとって重要な役割を果たしている¹⁻⁵。FAK はインテグリンや成長因子シグナルから刺激を受けるとチロシン³⁹⁷の自己リン酸化

が起こり⁶、それに引き続きその他のリン酸化部位がリン酸化を受け、下流の AKT や MAPK ヘシグナルを伝達する⁷⁻¹¹。これらの事実に基づき、FAK は細胞増殖、生存、浸潤などの悪性腫瘍の特性において非常に重要な役割を果たしていると考えられる¹²⁻¹⁶。実際に、FAK が乳癌、甲状腺癌、卵巣癌、頭頸部癌、肝癌、膀胱癌、肺癌、大腸癌などの様々な癌腫で過剰発現しており、癌における FAK の発現状態が腫瘍の進展や臨床予後に密接に関連するという報告がみられる¹⁷⁻²⁶。しかし、FAK およびその周辺、下流のシグナルについては不明な点も多い。

消化器癌のなかでは食道扁平上皮癌において FAK の過剰発現が腫瘍浸潤、リンパ節転移に関連するとい

平成22年1月受理

*〒700-8558 岡山市北区鹿田町2-5-1

電話: 086-235-7257 FAX: 086-221-8775

E-mail: nobu_watanabe@hotmail.co.jp

プロフィール



渡辺 信之

昭和52年3月6日生

平成13年3月 岡山大学医学部卒業

平成20年9月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科修了

平成13年11月 香川労災病院勤務

平成15年11月 松山市民病院勤務

平成20年8月 香川労災病院勤務

現在に至る

う報告²⁶⁾がみられるが、Barrett 食道癌における FAK の発現とその機能についての報告はみられない。Barrett 食道は胃食道逆流症により正常扁平上皮が化生円柱上皮に置換された状態である^{27,28)}。また、Barrett 食道は食道腺癌の前癌病変であり、通常の30～125倍のリスクで発症する²⁷⁾。Barrett 食道癌は西欧諸国において増加傾向にあり²⁸⁾、5年生存率25%以下の未だ極めて予後不良な疾患である²⁷⁾。治療は手術以外に有効なものがなく、新規治療戦略の開発が望まれている。

我々のグループにおける FAK に関する先行研究では、大腸癌と食道扁平上皮癌の癌化過程において FAK の発現と活性化の増強がみられることを報告してきた²⁹⁾。それゆえに我々は FAK が他の癌腫と同様に Barrett 食道癌における細胞増殖や生存にとって非常に重要であると考えた。Barrett 食道癌の癌化における FAK の役割を調べるために、我々は Barrett 食道癌と Barrett 正常上皮の臨床サンプルにおける FAK の発現状態を検討した。そして、FAK に対する特異的 small molecule inhibitor (TAE226) を用いて FAK シグナルを阻害することが細胞増殖、細胞接着、細胞遊走にどのように影響するかを検討した。TAE226 は FAK を標的分子としてデザインされたチロシンキナーゼ阻害剤であり³⁰⁾、IGF-IR に対する追加的な抑制効果もある³¹⁾。IGF-IR は細胞増殖や生存にとって重要な分子を活性化する主要なレセプター型チロシンキナーゼの一つであり、Barrett 食道癌を含め、悪性腫瘍において発現上昇が確認されている³²⁾。TAE226 は脳腫瘍における抗腫瘍効果を示した報告^{30,31)}がみられるが、他の種類の悪性腫瘍に対する効果についての報告はなく、また効果の詳細なメカニズムについても解明

する必要がある。本研究における我々の目的は、1) FAK の Barrett 食道癌における役割を検討すること、2) TAE226 が消化器癌に対する新規治療戦略となるかを検討、3) TAE226 による抗腫瘍効果とメカニズムを特にアポトーシス経路に着目して解明すること、である。

Small molecule inhibitor, TAE226

従来の抗癌剤が DNA 合成や修復、細胞の分裂・増殖過程に作用し殺細胞作用を示し、癌細胞への特異性が低いのに対し、分子標的薬では癌細胞の増殖・転移などに関わる分子を選択的に阻害することで癌の増殖抑制・進展阻害を示すため、癌細胞への特異性が高いとされている。癌の分子標的薬剤には大きく小分子化合物とモノクローナル抗体がある。FAK 阻害剤はまだ臨床応用の段階ではないが、複数の FAK 阻害剤の開発報告があり、FAK を分子標的とした臨床応用が期待されている。

TAE226 はノバルティス・ファーマ社により開発された分子量541.87の FAK をターゲットとした分子標的薬である。FAK に特異的な阻害剤として開発されたが、IGF-IR に対してもある一定の阻害作用を有するとされている。TAE226 は FAK 活性化のトリガーに相当するチロシン397の自己リン酸化を阻害することによって、下流へのシグナル伝達を抑制する薬剤である。

Barrett 食道癌における FAK の役割

まず、Barrett 食道癌における FAK の発現状態を免疫染色にて検討した。Barrett 食道癌患者から外科的に切除した42サンプルを用いて FAK 抗体で染色し

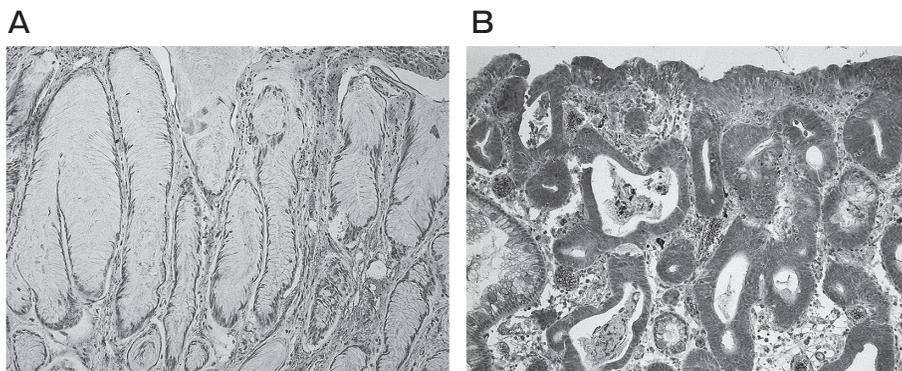


図1 A, B Barrett 食道上皮と食道腺癌における FAK の発現

た，観察部位は Barrett 上皮 (308視野)，Barrett 食道癌 (168視野)，食道扁平上皮 (93視野)，胃上皮 (56視野) であった。FAK の発現は非癌部と比較し癌部で増強していた (図 1 A, B)。 (++) 50%以上の発現部位は Barrett 上皮で17.9%であったのに対し，Barrett 食道癌では94.0%であった (図 1 C)。癌部における過剰発現傾向は明白であり，他の癌腫と同様に Barrett 食道癌においても FAK が過剰発現し，癌の進展に重要な役割を果たしていることが示唆された。また，興味深いのは食道扁平上皮では胃上皮と比較して FAK の発現が高い傾向がみられたことである (陽性が43.0%，強陽性が47.3%)。Barrett 上皮と胃上皮 (ともに円柱上皮) における FAK の発現レベルは同程度であり，扁平上皮で強発現を示したのは円柱上皮と扁

平上皮という組織学的な違いがあるのではないかと推測される (図 1 C)。

In vitro における TAE226の抗腫瘍効果

接着系の細胞は接着依存性に成長するため，インテグリンを介した細胞接着やその下流のシグナルに対して重要な役割を行っている FAK が阻害されると細胞増殖に悪影響をうけるということは容易に考えられる。

まず，TAE226による細胞増殖抑制効果を検討し，その後の実験に対する至適濃度を検討するために Barrett 食道癌細胞における TAE226の IC₅₀を測定した。SEG-1，FLO-1，BIC-1細胞を TAE226で48時間処理して測定した IC₅₀は SEG-1 で0.47 μM，FLO-1 で1.03 μM，BIC-1 で1.29 μMであった (図 2 A-

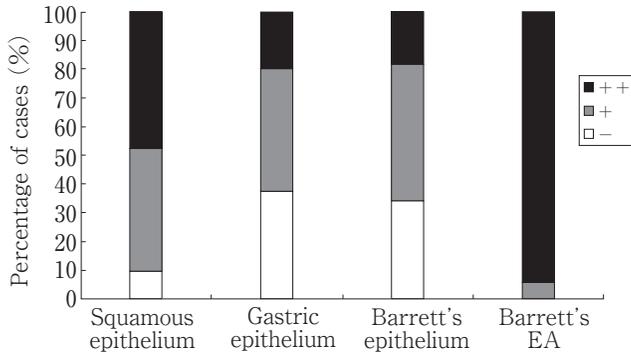


図 1 C 食道扁平上皮，胃上皮，Barrett 上皮，Barrett 食道癌における FAK の発現レベル

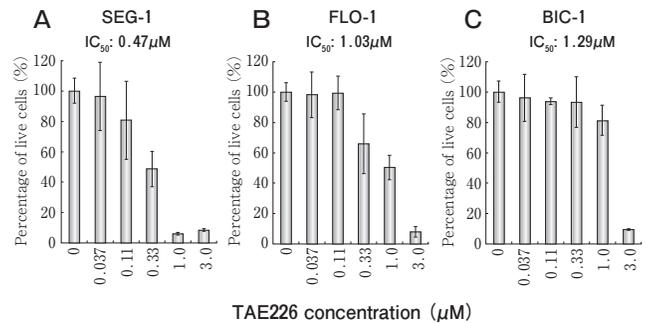


図 2 A, B, C SEG-1細胞，FLO-1細胞，BIC-1細胞における TAE226の細胞増殖抑制効果

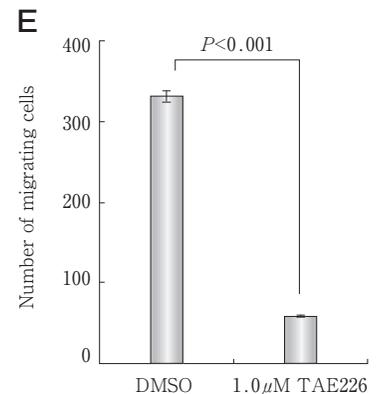
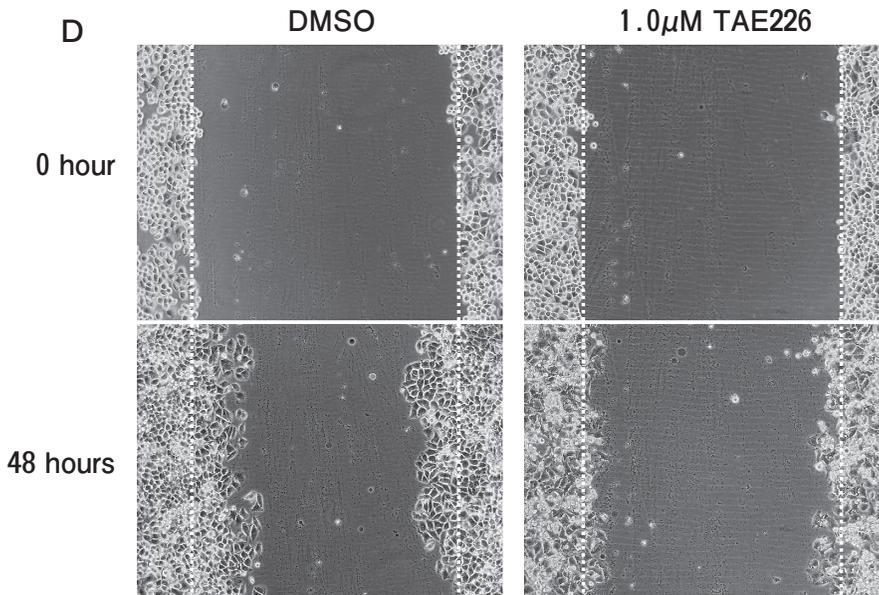


図 2 D, E TAE226の細胞遊走能抑制効果

C). SEG-1 細胞は3種類の細胞株のなかで最も感受性が高いと思われた。すべての細胞株で3.0 μ M TAE226の48時間の処理で90%以上の抑制効果が認められた(図2 A-C)。

次に、TAE226による細胞遊走能抑制効果を検討した。confluent 状態のSEG-1 細胞にスクラッチを加え、1.0 μ M TAE226およびDMSOで48時間処理した。図2 Dは Scratch assay の顕微鏡写真を示す。DMSOで処理したものは遊走した細胞が332 \pm 7個であったのに対し、TAE226で処理したものは59 \pm 1個であった(図2 E)。このことからTAE226によるFAKの阻害により細胞遊走能を抑制されることが示唆された。

FLO-1 細胞では3 μ M TAE226処理により遊走能が抑制された(73 \pm 26個 vs 41 \pm 11個)。

次にTAE226の細胞形態に与える影響を検討した。位相差顕微鏡で観察すると、細胞の単層配列構造が乱れ、細胞は円形化、内部構造も破壊された状態であり、細胞数も著明に減少していた。いくつかの細胞はプラスチックプレートから剥がれて縮まっており、FAKの阻害によって接着が弱まったものと考えられた(図3 A)。FAKの阻害による細胞形態の変化をさらに検討するために、アクチン(Red)、pFAK(Green)、核(Blue)を3重染色し共焦点レーザー顕微鏡にて観察した。FAK活性がある細胞はアクチンファイバーの

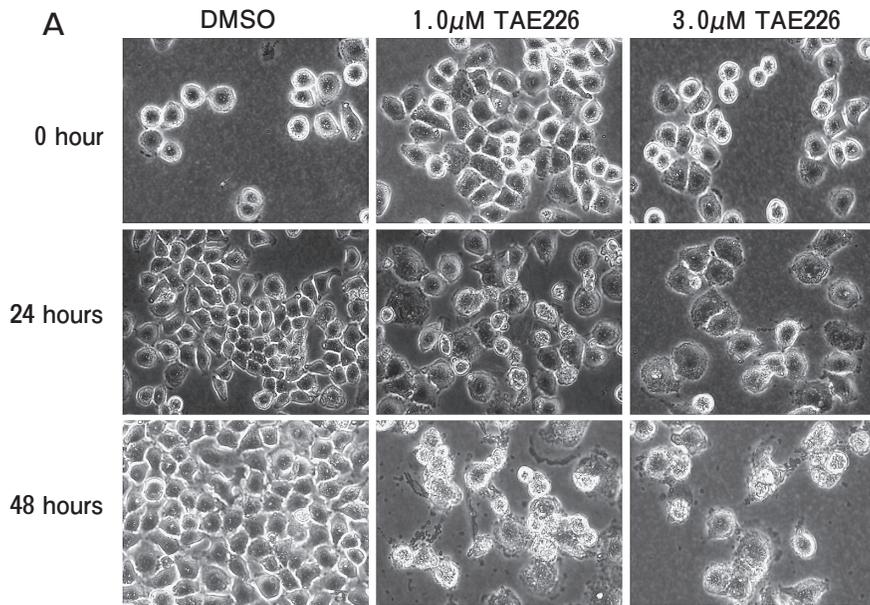


図3 A TAE226の細胞形態に対する効果(位相差顕微鏡観察)

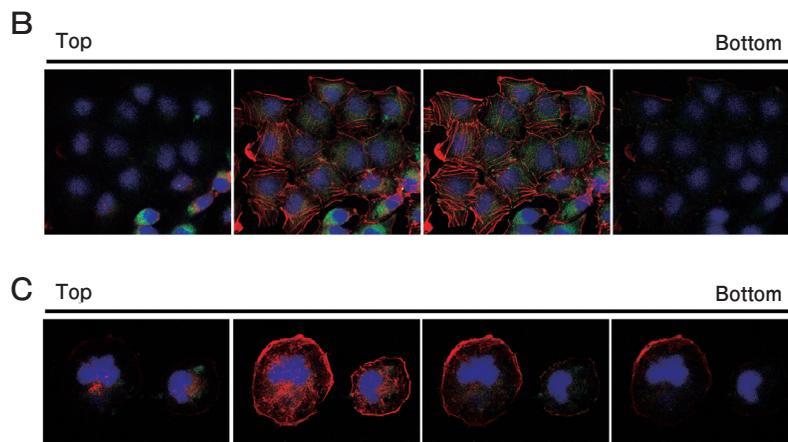


図3 B, C TAE226の細胞形態に対する効果(共焦点レーザー顕微鏡観察)

構造が正常に保たれており，FAK のリン酸化はアクチンファイバーの両端に局在しており，このことから活性化 FAK は細胞構造を維持するために接着点に局在していることがわかる (図 3 B)．TAE226 処理により，アクチン構造の消失，接着障害，FAK の活性化阻害が認められた (図 3 C)．

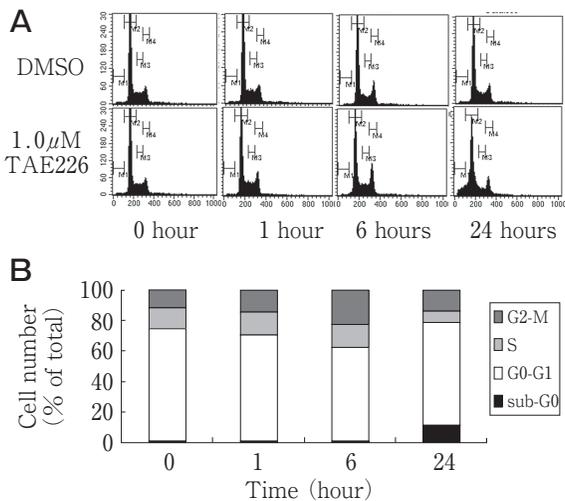


図 4 A, B TAE226 の細胞周期に与える影響

FAK 阻害による効果は主に AKT-BAD-Caspase を経由したアポトーシス誘導であった

FAK 阻害が細胞死を誘導するかどうかを検討するために細胞周期の分布をフローサイトメトリーにて検討した．図 4 A, B に示すように，TAE226 処理により sub-G0 相の増加が認められた．G1 相や G2/M 相の分布においては明らかな変化を認めなかった．この結果から sub-G0 相細胞が増加するという事は FAK 阻害剤により細胞死が増加するということを示しているのではないかと推測する．次の疑問として TAE226 処理によりアポトーシスをきたすかどうかということである．この疑問に対し，TUNEL 染色を行った (図 4 C)．TAE226 により 24 時間以内に TUNEL 陽性細胞の増加を認め，TAE226 による FAK の活性化阻害によって Barrett 食道癌細胞はアポトーシスに誘導された (図 4 D)．

TAE226 誘導性のアポトーシスがどのようなシグナル経路でおこなわれるのかということを検討するために，ウェスタンブロットによって FAK の下流のシグナル分子を解析した．TAE226 は濃度・時間依存性に FAK のリン酸化を阻害した (図 5 A, B)．AKT の活性化も同様に抑制されたが，ERK 活性の抑制は軽度であっ

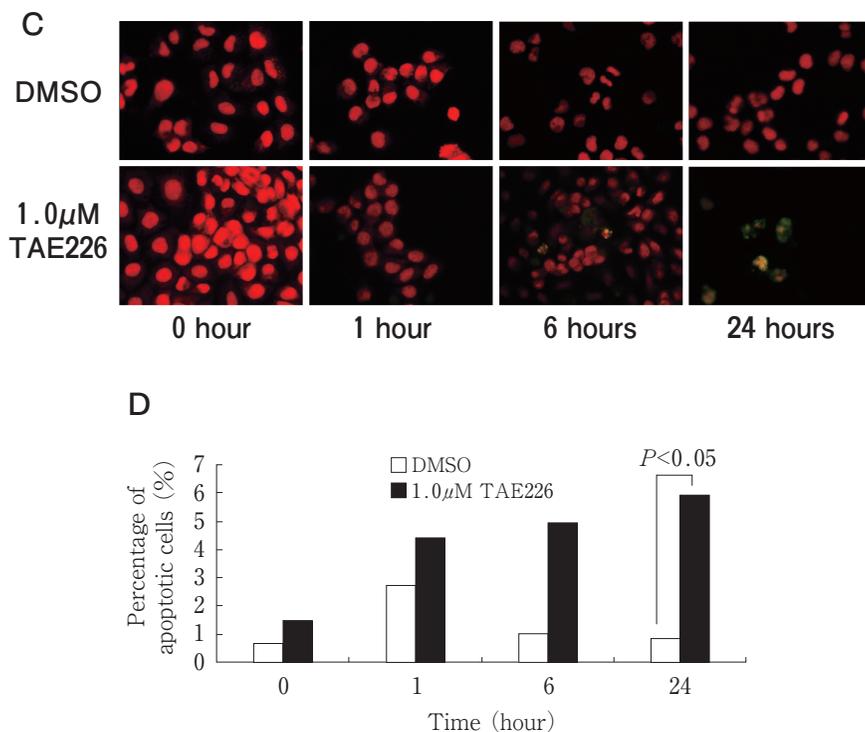


図 4 C, D TAE226 によるアポトーシス誘導効果

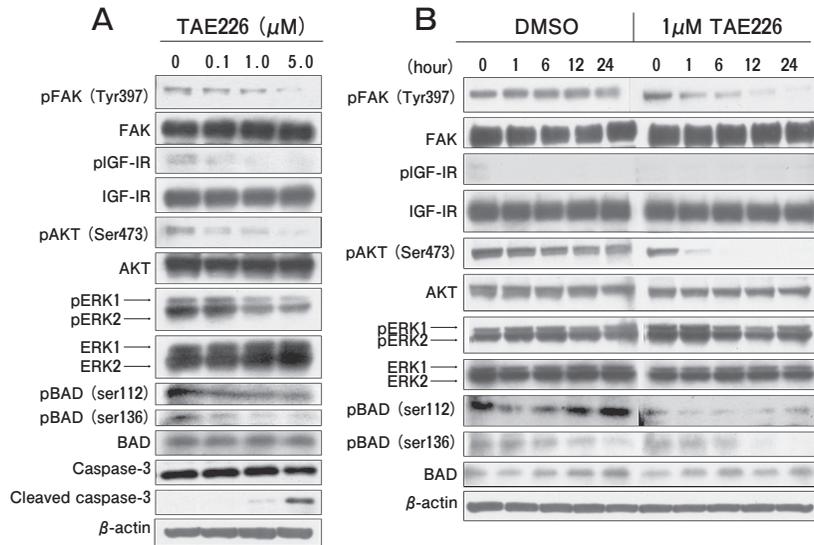


図 5 A, B アポトーシスへの経路

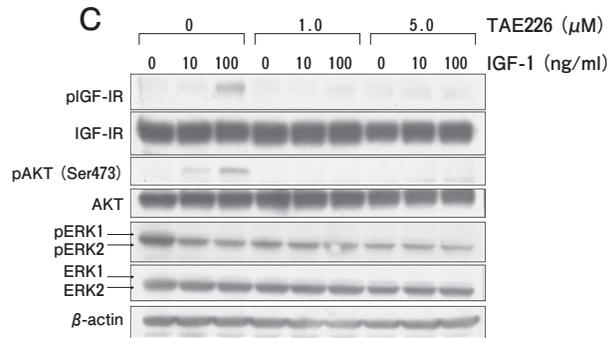


図 5 C TAE226の IGF-1R 抑制効果

た. BAD のリン酸化は細胞の生存にとって重要な調節因子であり, その上流の AKT や MAPK により調節をうける. BAD のリン酸化は Serine136 では抑制されたが Serine112 ではされなかった. このことから, TAE226 による FAK 活性の抑制により AKT のリン酸化抑制が occurり, BAD (Ser136) のリン酸化が抑制されアポトーシスが誘導されたものと考えられた. さらに下流のアポトーシス経路を検討した. Caspase 依存性のアポトーシスにとって重要な Caspase-3 (これは BAD の調節をうける) は TAE226 処理により活性化された. この結果から TAE226 による FAK 阻害により AKT-BAD-Caspase を経由したアポトーシスであることが示された.

TAE226 は IGF-1R に対してもある一定の抑制効果をもつ (FAK に対するよりも 25 倍低い) という報告がある. AKT は IGF-1R のようなレセプター型チロシンキナーゼの主要な下流分子である. IGF-1R の阻害によ

っても AKT-BAD-Caspase を経由した TAE226 誘導性のアポトーシスをきたすともいえる. SEG-1 細胞においては通常の培養条件では IGF-1R のリン酸化はわずかにみられるのみであり, それは TAE226 の処理によりシャットダウンされる. それゆえに細胞を IGF-I で刺激を行い, IGF-1R を活性化させて TAE226 処理を行い, IGF-1R 特異的な抑制効果を検討した. 図 5 C に示すように 100 ng/ml の IGF-I で IGF-1R は活性化状態となるが, TAE226 処理により IGF-I によって活性化される IGF-1R と AKT の活性化抑制がみられた. すなわち, TAE226 は Barrett 食道癌細胞において細胞増殖, 遊走能に対し強い抑制効果を有し, FAK と IGF-1R シグナルをとともに抑制することにより AKT-BAD-Caspase を経由したアポトーシスを誘導すると考えられた.

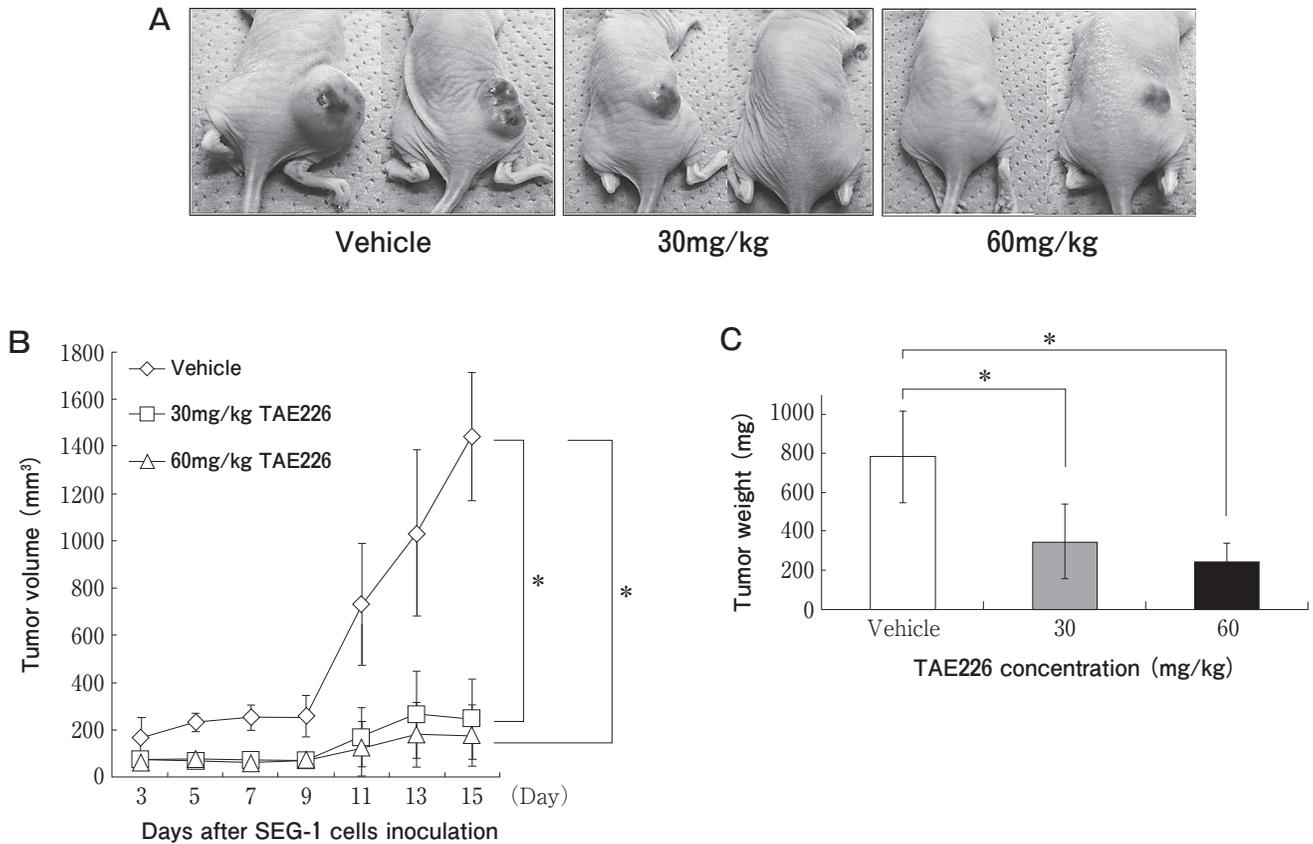


図 6 A, B, C TAE226の In vivo における抗腫瘍効果

TAE226の経口投与により皮下腫瘍の増大を抑制する

ヌードマウスにSEG-1細胞の皮下腫瘍を作成し (Day 0), 翌日からTAE226 (0, 30, 60mg/kg) の経口投与を14日間 (1日1回) 行った (図6A). 腫瘍体積は週に2回測定し, 15日目に腫瘍を摘出して腫瘍重量を測定した. 腫瘍体積も腫瘍重量もコントロールと比較してTAE226投与群で有意に抑制効果を示した (図6B, C). 明らかな副作用は認められず, また今回の検討では明らかな濃度依存性の効果は認められなかった.

新規標的分子としてのFAK阻害剤の可能性

我々はTAE226によるFAK阻害により非常に予後不良な疾患であるBarrett食道癌に対する治療戦略になりうることを示した. 臨床サンプルを用いた免疫組織学的解析によりBarrett食道癌におけるFAKの発現上昇を明らかにしたことは初めての報告であり (図1A-C), Barrett食道癌においても, すでに報告されている他の癌腫と同様に癌のprogressionにおいて

FAKが重要な役割を果たしていることが示唆された. *In vitro* においてTAE226処理により有意に細胞増殖, 遊走能を抑制し, アポトーシスを誘導した. そしてそれは主にAKT-BAD-Caspaseを介したアポトーシスであった. また, TAE226によりFAKを介して接着斑を安定化するアクチン構造が消失し細胞骨格が失われる様子を詳細に捉えることに成功した. もう一つの重要な知見は, マウス皮下腫瘍モデルに対するTAE226投与にて, 重大な毒性を生じることなく著明な抗腫瘍効果を明らかにしたことである. *In vivo* においては用量依存性の効果は認められず, 癌腫によっては低用量のTAE226で十分に効果を発揮する可能性が示唆される. これらの結果から新たな癌治療としてFAKを標的とすることが可能になるのではないかと考える.

TAE226はIGF-IRに対してもある一定の阻害効果を有する. 図5Cで示したようにTAE226の効果はIGF-IRシグナルを一部分は介しているということは無視できない. 一つの化学化合物で癌のprogressionに関連する2つの主要なシグナル経路を抑制できると

いうことは非常に意義深い。なぜなら、多くの癌は複数のシグナルにより調節を受けており³³⁾、遺伝子変異をきたすことで容易に薬剤耐性を獲得するためである^{34,35)}。また、癌治療においてさらに効果が期待できる戦略は他剤との併用療法である。今後、TAE226と他剤との併用効果についての検討を行う必要があると思われる。

FAKは癌のprogressionにおける細胞増殖、遊走能、浸潤能にとって重要な分子であることが知られているため、FAKをターゲットとすることは優れた治療法となりうる可能性がある。実際に、多くの化学化合物が癌に特異的な機能をターゲットとして開発されてきている。TAE226は特異的にFAKをターゲットとした分子標的薬である。我々はTAE226によるFAK阻害により非常に予後不良な疾患であるBarrett食道癌に対する治療戦略になりうることを示した。

今回の実験においてはSEG-1細胞が他の細胞と比べてTAE226に最も感受性が認められた。この感受性の違いは遺伝子背景の違いによる可能性が考えられた。SEG-1細胞はwild type p53であり、FLO-1、BIC-1はmutant p53であるという報告がある³⁶⁾。様々な報告³⁷⁻³⁸⁾にもあるようにp53ステータスは抗癌剤に対する感受性に非常に影響すると考えられる。

文 献

- Schaller MD, Borgman CA, Cobb BS, Vines RR, Reynolds AB, Parsons JT : pp125FAK a structurally distinctive protein-tyrosine kinase associated with focal adhesions. *Proc Natl Acad Sci USA* (1992) 89, 5192-5196.
- Hanks SK, Calalb MB, Harper MC, Patel SK : Focal adhesion protein-tyrosine kinase phosphorylated in response to cell attachment to fibronectin. *Proc Natl Acad Sci USA* (1992) 89, 8487-8491.
- Schaller MD : The focal adhesion kinase. *J Endocrinol* (1996) 150, 1-7.
- Parsons JT : Focal adhesion kinase : the first ten years. *J Cell Sci* (2003) 116, 1409-1416.
- Sonoda Y, Matsumoto Y, Funakoshi M, Yamamoto D, Hanks SK, Kasahara T : Anti apoptotic Role of Focal Adhesion Kinase (FAK). Induction of inhibitor-of-apoptosis proteins and apoptosis suppression by the overexpression of FAK in a human leukemic cell line, HL-60. *J Biol Chem* (2000) 275, 16309-16315.
- Matkowskyj KA, Keller K, Glover S, Kornberg L, Tran-Son-Tay R, Benya RV : Expression of GRP and its receptor in well-differentiated colon cancer cells correlates with the presence of focal adhesion kinase phosphorylated at tyrosines 397 and 407. *J Histochem Cytochem* (2003) 51, 1041-1048.
- Schlaepfer DD, Hunter T : Signal transduction from the extracellular matrix - a role for the focal adhesion protein-tyrosine kinase FAK. *Cell Struct Funct* (1996) 21, 445-450.
- Schlaepfer DD, Hauck CR, Sieg DJ : Signaling through focal adhesion kinase. *Prog Biophys Mol Biol* (1999) 71, 435-478.
- Sieg DJ, Hauck CR, Ilic D, Klingbeil CK, Schaefer E, Damsky CH, Schlaepfer DD : FAK integrates growth-factor and integrin signals to promote cell migration. *Nat Cell Biol* (2000) 2, 249-257.
- Parsons JT, Martin KH, Slack JK, Taylor JM, Weed SA : Focal adhesion kinase : a regulator of focal adhesion dynamics and cell movement. *Oncogene* (2000) 19, 5606-5613.
- Schwartz MA, Ginsberg MH : Networks and crosstalk : integrin signaling spreads. *Nat Cell Biol* (2002) 4, E65-68.
- Gabarra-Niecko V, Schaller MD, Unty JM : FAK regulates biological processes important for the pathogenesis of cancer. *Cancer Metastasis Rev* (2003) 22, 359-374.
- Owens LV, Xu L, Craven RJ, Dent GA, Weiner TM, Kornberg L, Liu ET, Cance WG : Overexpression of the focal adhesion kinase (p125FAK) in invasive human tumors. *Cancer Res* (1995) 55, 2752-2755.
- McLean GW, Carragher NO, Avizienyte E, Evans J, Brunton VG, Frame MC : The role of focal-adhesion kinase in cancer - a new therapeutic opportunity. *Nat Rev Cancer* (2005) 5, 505-515.
- Schlaepfer DD, Mitra SK : Multiple connections link FAK to cell motility and invasion. *Curr Opin Genet Dev* (2004) 14, 92-101.
- Kornberg LJ : Focal adhesion kinase and its potential involvement in tumor invasion and metastasis. *Head Neck* (1998) 20, 745-752.
- Kim SJ, Park JW, Yoon JS, Mok JO, Kim YJ, Park HK, Kim CH, Byun DW, Lee YJ, Jin SY, Suh KI, Yoo MH : Increased expression of focal adhesion kinase in thyroid cancer : immunohistochemical Study. *J Korean Med Sci* (2004) 19, 710-715.
- Sood AK, Coffin JE, Schneider GB, Fletcher MS, DeYoung BR, Gruman LM, Gershenson DM, Schaller MD, Hendrix MJ : Biological significance of focal adhesion kinase in ovarian cancer. *Am J Pathol* (2004) 165, 1087-1095.
- Kornberg LJ : Focal adhesion kinase expression in oral cancers. *Head Neck* (1998) 20, 634-639.
- Cance WG, Harris JE, Iacocca MV, Roche E, Yang X, Chang J, Simkins S, Xu L : Immunohistochemical analyses of focal adhesion kinase expression in benign and

- malignant human breast and colon tissues : correlation with preinvasive and invasive phenotypes. *Clin Cancer Res* (2000) 6, 2417-2423.
- 21) Lark AL, Livasy CA, Calvo B, Caskey L, Moore DT, Yang X, Cance WG : Overexpression of focal adhesion kinase in primary colorectal carcinomas and colorectal liver metastases : immunohistochemistry and real-time PCR analyses. *Clin Cancer Res* (2003) 9, 215-222.
 - 22) Theocharis SE, Kouraklis GP, Kakisis JD, Kanelli HG, Apostolou FE, Karatzas GM, Koutselines AS : Focal adhesion kinase expression is not a prognostic predictor in colon adenocarcinoma patients. *Eur J Surg Oncol* (2003) 29, 571-574.
 - 23) Itoh S, Maeda T, Shimada M, Aishima S, Shirabe K, Tanaka S, Maehara Y : Role of expression of focal adhesion kinase in progression of hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* (2004) 10, 2812-2817.
 - 24) Furuyama K, Doi R, Mori T, Toyoda E, Ito D, Kami K, Koizumi M, Kida A, Kawaguchi Y, Fujimoto K : Clinical significance of focal adhesion kinase in resectable pancreatic cancer. *World J Surg* (2006) 30, 219-226.
 - 25) Carelli S, Zadra G, Vaira V, Falleni M, Bottiglieri L, Nosotti M, Di Giulio AM, Gorio A, Bosari S : Up-regulation of focal adhesion kinase in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* (2006) 53, 263-271.
 - 26) Miyazaki T, Kato H, Nakajima M, Sohda M, Fukai Y, Masuda N, Manda R, Fukuchi M, Tsukada K, Kuwano H : FAK overexpression is correlated with tumour invasiveness and lymph node metastasis in oesophageal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* (2003) 89, 140-145.
 - 27) Koppert LB, Wijnhoven BP, van Dekken H, Tilanus HW, Dinjens WN : The molecular biology of esophageal adenocarcinoma. *J Surg Oncol* (2005) 92, 169-190.
 - 28) Maley CC, Rustgi AK : Barrett's esophagus and its progression to adenocarcinoma. *J Natl Compr Canc Netw* (2006) 4, 367-374.
 - 29) Murata T, Naomoto Y, Yamatsuji T, Okawa T, Shirakawa Y, Gunduz M, Nobuhisa T, Takaoka M, Sirmali M, Nakajima M, Ohno Y, Tanaka N : Localization of FAK is related with colorectal carcinogenesis. *Int J Oncol*. (2008) 791-796.
 - 30) Shi Q, Hjelmeland AB, Keir ST, Song L, Wickman S, Jackson D, Ohmori O, Bigner DD, Friedman HS, Rich JN : A novel low-molecular weight inhibitor of focal adhesion kinase, TAE226, inhibits glioma growth. *Mol Carcinog* (2007) 46, 488-496.
 - 31) Liu TJ, LaFortune T, Honda T, Ohmori O, Hatakeyama S, Meyer T, Jackson D, de Groot J, Yung WK : Inhibition of both focal adhesion kinase and insulin-like growth factor-I receptor kinase suppresses glioma proliferation in vitro and in vivo. *Mol Cancer Ther* (2007) 6, 1357-1367.
 - 32) Irvani S, Zhang HQ, Yuan ZQ, Cheng JQ, Karl RC, Jove R, Coppola D : Modification of insulin-like growth factor I receptor, c-Src, and Bcl-XL protein expression during the progression of Barrett's neoplasia. *Hum Pathol* (2003) 34, 975-982.
 - 33) Leonetti C, Zupi G : Targeting different signaling pathways with antisense oligonucleotides combination for cancer therapy. *Curr Pharm Des* (2007) 13, 463-470.
 - 34) Ritchie E, Nichols G : Mechanisms of resistance to imatinib in CML patients : a paradigm for the advantages and pitfalls of molecularly targeted therapy. *Curr Cancer Drug Targets* (2006) 6, 645-657.
 - 35) Weisberg E, Manley PW, Cowan-Jacob SW, Hochhaus A, Griffin JD : Second generation inhibitors of BCR-ABL for the treatment of imatinib-resistant chronic myeloid leukaemia. *Nat Rev Cancer* (2007) 7, 345-356.
 - 36) Mahidhara RS, Queiroz De Oliveira PE, Kohout J, Beer DG, Lin J, Watkins SC, Robbins PD, Hughes SJ : Altered trafficking of Fas and subsequent resistance to Fas-mediated apoptosis occurs by a wild-type p53 independent mechanism in esophageal adenocarcinoma. *J Surg Res* (2005) 123, 302-311.
 - 37) Wang W, McLeod HL, Cassidy J, Collie-Duguid ES : Mechanisms of acquired chemoresistance to 5-fluorouracil and tomudex : thymidylate synthase dependent and independent networks. *Cancer Chemother Pharmacol* (2007) 59, 839-845.
 - 38) Luqmani YA : Mechanisms of drug resistance in cancer chemotherapy. *Med Princ Pract* (2005) 14, 35-48. Bush JA, Li G : Cancer chemoresistance : the relationship between p53 and multidrug transporters. *Int J Cancer* (2002) 98, 323-330.