

悪性黒色腫におけるシグナル伝達

横 山 悟

悪性黒色腫（メラノーマ）は、日本でも近年増加傾向にあり、またその転移能が高いこと、転移が見つかった患者の5年生存率が低いこと（ステージ3, 4の5年生存率はそれぞれ50%, 10%である）、化学療法、放射線治療が効きにくいことから、悪性度の高い腫瘍として知られている。しかし近年、60%ほどの悪性黒色腫で見られる *BRAF* 変異に特異的な阻害剤が開発され、臨床で使われるようになっており、悪性黒色腫におけるシグナル伝達系の解明がとて重要な研究分野となっている。そこで、本総説では、悪性黒色腫で多くの変異が見られるシグナル経路（*NRAS*-*BRAF*-*MITF*）について解説する。

1. はじめに

日本で最も多い死亡原因の一つが悪性腫瘍（がん）であり、世界中で見ても死因の13%は悪性腫瘍で占められている（2008年WHOより）。その治療には、外科的治療、化学療法または放射線治療などが存在するが、最近特に注目を集めているのが、腫瘍特異的タンパク質を標的とする分子標的薬である。今後、更なる分子標的薬の開発、新規治療法の開発に向けて、腫瘍特異的がん遺伝子の同定、またはその細胞内シグナル伝達経路の解明はとて重要な研究分野である。そこで本稿では、特に悪性黒色腫におけるシグナル伝達について紹介したい。

2. 悪性黒色腫

悪性黒色腫は、メラニン産生細胞（メラノサイト）に由来する悪性腫瘍と考えられ、そのメラニン色素産生能により最も早期に発見できる悪性腫瘍の一つでもある。また、発見が遅れた場合の予後が極めて悪いこと（ステージ3, 4の5年生存率はそれぞれ50%, 10%である）、化学療法・放射線治療が効きにくいことも悪性黒色腫の特徴の一つで

ある。悪性黒色腫の発生には、遺伝的要因（皮膚の色・日焼けのしやすさ、または *CDK4*^{1,2)}/*CDKN2A*^{3,4)}/*MITF*^{5,6)}の変異の有無）や環境要因などが複雑に関与している。悪性腫瘍におけるがん遺伝子は多く知られているが、悪性黒色腫におけるがん遺伝子として知られているのは、数種類の遺伝子である^{7,8)}。まだ議論の余地が残るものも含めると、受容体型チロシンキナーゼ（RTKと略、*KIT*・*c-MET*・*EGFR*・*ERBB4*）や *NRAS*・*BRAF*・*MAP3K5*/*MAP3K9*などのMAPキナーゼ（MAPK経路）、それ以外では、*CDKN2A*・*CDK4*・*GNAQ*・*PTEN*・*GOLPH3*・*NEDD9*・*MITF* などである（図1）。RTKに関する詳細は周らの稿を参照していただきたい。今回はその中から、メラノサイトの分化に関与し悪性黒色腫特異的がん遺伝子である転写因子 *MITF*、悪性黒色腫で多く見られる *BRAF* 変異、*NRAS* 変異について紹介したい。

3. *MITF*

*MITF*は塩基性ヘリックス・ループ・ヘリックス・ロイシンジッパー型の転写因子であり（図2）、小眼球症を呈するマウスから同定されたことから *microphthalmia-associated transcription factor* と命名された遺伝子である。*MITF*には少なくとも九つのアイソフォームがあり、そのプロモーターの違いにより、アイソフォームの発現パターンは組織特異性を示すことが知られている^{9,10)}（図2）。特にメラノサイトにおいては、エクソン1Mを有するM-*MITF*と呼ばれるアイソフォームを発現し、mi/miマウスが白毛

富山大学和漢医薬学総合研究所病態生化学分野（〒930-0194 富山市杉谷 2630）

Signal transduction in melanoma

Satoru Yokoyama (Division of Pathogenic Biochemistry, Institute of Natural Medicine, University of Toyama, 2630 Sugitani, Toyama 930-0194, Japan)

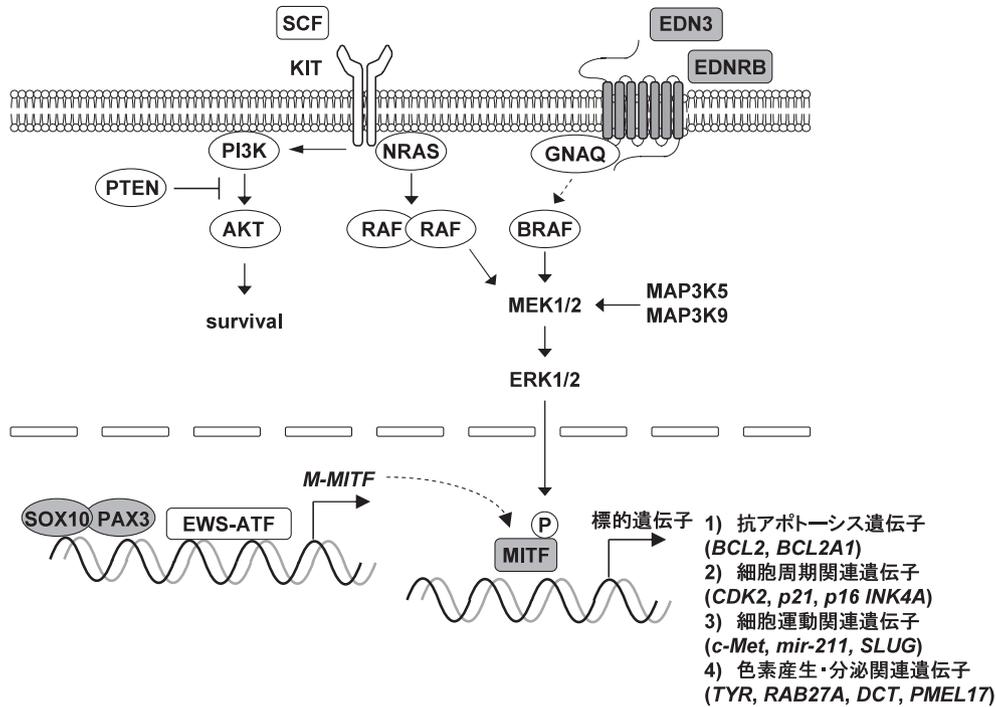


図1 悪性黒色腫におけるがん関連遺伝子シグナル伝達経路

KIT 受容体からのシグナルは NRAS-MEK-ERK, PI3K-AKT の二つの生存シグナルを伝える。また EDNRB からシグナルは ERK の活性化を起こし、MITF のリン酸化を誘導する。NRAS からは主に CRAF を介したシグナルが伝わり、BRAF とは異なるシグナル経路を通るものと考えられる。また、既に報告されている MITF の標的遺伝子群は、主に四つに分類され、それぞれ悪性黒色腫の生存、メラノサイトの分化に関わる重要な役割を果たす。グレーの枠で囲まれた遺伝子は、Waardenburg 症候群関連遺伝子である。

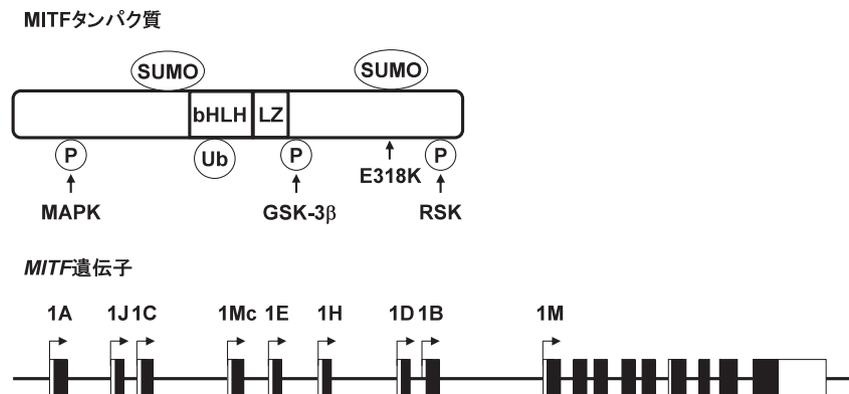


図2 MITF タンパク質, MITF 遺伝子の模式図

MITF タンパク質は MAPK, GSK-3 β , RSK などのキナーゼによりリン酸化される。またユビキチン化, SUMO 化されることも知られている。筆者らが同定した新規 MITF 変異 E318K は SUMO 化に影響を与え、悪性黒色腫の発生に関わることが明らかとなっている。MITF 遺伝子は、そのエクソン 1 の違いにより、少なくとも九つのアイソフォームが知られている。メラノサイト特異的なエクソン 1M は、最も下流にあるエクソン 1 である。

であることから、*mitf* がメラノサイトの生存に重要であることが明らかとなった^{11,12)}。

ヒトにおける *MITF* 変異は、白髪・虹彩色素異常・難聴を 3 主徴とする Waardenburg 症候群を発症する¹³⁾。この

Waardenburg 症候群に関わる遺伝子には、転写因子 *MITF*、*SOX10*^{14,15)}、*PAX3*¹⁶⁾、*SLUG*¹⁷⁾、リガンドとその受容体である *EDN3*^{18,19)}/*EDNRB*^{20,21)} が知られている (図 1)。これらの遺伝子変異により同様の色素異常症を呈することか

ら、これら遺伝子間の相互作用がメラノサイトの発生・分化に重要であることが容易に考えられる。実際、*M-MITF*のプロモーター領域には、SOX10とPAX3の結合領域が存在し、MITFの発現を転写レベルで制御していることが知られている^{16,22}。*SLUG*は、MITFの標的遺伝子であるという報告もある¹⁷。また、EDN3/EDNRBを介したシグナルにより、MITFがリン酸化されることから、このシグナル伝達は、MITFの機能制御に関わることが明らかにされている²³。またCantrellら²⁴、筆者ら²⁵は、SOX10がEDNRBの発現を転写レベルで制御することを明らかにし、Waardenburg症候群に関わる遺伝子群の複雑な制御機構を明らかにした。悪性黒色腫のシグナル伝達はその起源であるメラノサイトとの共通な点が多く、これらWaardenburg症候群に関わる遺伝子群も悪性黒色腫において何らかの役割を果たしていると考えられる。

がん遺伝子としてのMITF研究は、2005年にGarrawayら²⁶により初めて報告された。Garrawayらは、約20%の悪性黒色腫において遺伝子コピー数が増加していること、またMITFの強制発現により不死化メラノサイトが腫瘍化すること、さらにはMITFの機能抑制により悪性黒色腫がアポトーシスを起こすことから悪性黒色腫特異的がん遺伝子であることを明らかにした。さらに最近、筆者らが、悪性黒色腫におけるMITFの新規変異E318Kを同定し^{5,6}、MITFのSUMO化の重要な役割を明らかにした(図2)。また明細胞肉腫で見られるEWS-ATF1の融合タンパク質がMITFの転写を促進することから、MITFは明細胞肉腫においてもがん遺伝子として重要な役割を果たしていると考えられている²⁷。

MITFはNRASあるいはBRAFにより活性化されることが知られているERKにより、リン酸化されることが報告されており²⁸、NRAS/BRAF/MITFのシグナル伝達が悪性黒色腫の発生において、またその治療において重要である。

MITFが転写因子であることから、その下流遺伝子がこれまでに多く報告されており、特にそれら標的遺伝子は大きく四つに分類できる(図1)。1) 抗アポトーシス遺伝子(*BCL2*¹²、*BCL2A1*²⁹など)、2) 細胞周期関連遺伝子(*CDK2*³⁰、*p21*³¹など)、3) 細胞運動関連遺伝子(*c-Met*³²、*mir-211*³³)、4) 色素産生・分泌関連遺伝子(*TYR*³⁴、*RAB27A*³⁵など)である。1)～3)は、悪性黒色腫の増殖や転移能に関係があることから、さらに多くの新規標的遺伝子を同定し、それら遺伝子を標的とする薬剤の開発は魅力的である。

4. 薬剤標的としてのMITF

MITFは転写因子であり、BRAFなどのキナーゼと違い、薬剤標的とすることは困難である。そこで筆者らは、MITFの転写を抑制することによる悪性黒色腫の成長阻害

を目指し研究を行ってきた。今回は、ヒストンデアセチラーゼ(HDAC)阻害剤によるMITFの転写抑制³⁶、低酸素によるMITFの転写抑制機構³⁷について詳細を述べる(図3)。

筆者らは、ゼブラフィッシュの実験でHDAC阻害剤が色素形成に異常をきたすという報告³⁸からMITFがHDAC阻害剤で抑制されるのではないかと仮説を立て研究を進めた。特にメラノサイト特異的なM-MITFの発現が、トリコスタチンAを含むHDAC阻害剤により抑制されること、また、明細胞肉腫においても同様に抑制が見られることを発見した。またSOX10発現抑制がMITFの抑制につながる可能性を示唆した。*in vivo*での実験においても、HDAC阻害剤が悪性黒色腫の増殖を抑制することを確認し、HDAC阻害剤によるMITFの発現抑制が悪性黒色腫の治療につながる可能性を示唆した。

また、低酸素時に誘導される低酸素誘導因子1 α (HIF1 α)の発現がMITFの発現と逆相関することから、HIF1 α の誘導がMITFの発現を抑制するのではないかと仮説を立てた。そこでHIF1 α の分解を阻害するプロリル-4-ヒドロキシラーゼ(PHD)阻害剤であるジメチルオキサリルグリシン(DMOG)を用いて、MITFの発現抑制を確認した。またDMOGがDEC1を介したMITFの発現抑制を促し、悪性黒色腫の増殖を阻害することを明らかにした。以上の結果より、PHD阻害剤の悪性黒色腫の治療につながる可能性を示唆した。

また筆者らは最近、MITFの新規標的遺伝子としてBCL2A1²⁹、PGC1 α ³⁹を同定し、MITFが標的遺伝子の発現誘導を介して悪性黒色腫の薬剤耐性機構に重要な役割を示していることを明らかにした。

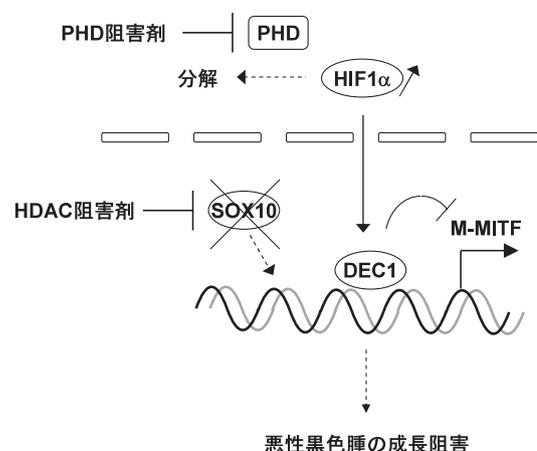


図3 HDAC阻害剤、PHD阻害剤によるMITF発現抑制機構
HDAC阻害剤は、MITFの上流遺伝子であるSOX10の発現を抑制することにより、M-MITFの転写を抑制する。また、プロリルヒドロキシラーゼ(PHD)阻害剤は、HIF1 α の安定化を誘導し、その下流標的遺伝子であるDEC1の発現を誘導する。DEC1はM-MITFのプロモーター上に結合し、M-MITFの転写を抑制する。その結果として、悪性黒色腫の成長が阻害される。

5. BRAF

RAFは、RASにより活性化され、下流のMAPKにシグナルを伝えるセリン/トレオニンキナーゼの一種である。ヒト悪性黒色腫の約60%がBRAFに変異を持つことが報告されており、その大部分が600番目のコドンであるバリンがグルタミン酸に置換されているBRAF V600E変異である⁴⁰⁾。

BRAF V600Eは色素性母斑においても見られることから、この変異は悪性黒色腫において早期に起こる遺伝子変異であると考えられる⁴¹⁾。また、ヒト不死化メラノサイトを用いた研究においても、BRAF V600Eのみでは腫瘍の形成が見られないことから、BRAF V600E単独変異では悪性黒色腫が発生しないのではないかと考えられる²⁶⁾。

BRAF V600Eのシグナル伝達の重要性は、その阻害剤であるベムラフェニブ (vemurafenib) がアメリカ食品医薬品局 (FDA) による承認を受け、悪性黒色腫患者に投与され始めていることから容易に想像できる^{42,43)}。特にこのBRAF V600E阻害剤は、これまでの化学療法ではほとんど効果が見られなかった悪性黒色腫において、初めて効果が見られた阻害剤であり、筆者もとても驚いたことを記憶している。すでに臨床で用いられているBRAF阻害剤であるが、現在BRAF研究の分野で多くの研究者が注目しているのが、耐性機構である。これまでにいくつかの耐性機構の可能性が示されている。一つは、BRAF阻害剤により、BRAFとCRAFの結合が増強されRASからのシグナルをCRAFを介して促進するという機構である⁴⁴⁾。また、BRAFが阻害されることでCRAFが活性化されるという機構もある⁴⁵⁾。さらに遺伝子変異であるBRAF遺伝子の増幅による耐性機構⁴⁶⁾、下流のMEK1活性化による耐性機構⁴⁷⁾、あるいは、上流のNRASやPDGF-R⁴⁸⁾・IGF-1R⁴⁷⁾の活性化による耐性機構などが報告されており、詳細なメカニズムの解明が待たれるところである。

6. NRAS

低分子型RASファミリーは、細胞外の増殖因子の刺激を細胞内に伝える重要な分子であり、HRAS, KRAS, NRASの三つの遺伝子が知られている。RASの恒常的活性化型変異は多くの腫瘍で見られ、特にKRAS変異は、50%以上の悪性腫瘍で見られる⁴⁹⁾。NRASの恒常的活性化型変異は、悪性黒色腫において早期に同定されたがん遺伝子の一つであり、悪性黒色腫の約10~15%で見られる⁵⁰⁾。NRASシグナルは、RAF/MAPKへのシグナル以外に細胞増殖に関わるホスファチジルイノシトール3-キナーゼ (PI3K)/AKT経路も活性化する (図1参照)。いくつかの悪性腫瘍でPI3K遺伝子であるPIK3CAががん遺伝子として報告されているが、悪性黒色腫においては、PTENの

消失によるPI3K経路の活性化が30~50%の悪性黒色腫で見られる⁵¹⁾。RASの変異が悪性腫瘍において多く見られることから、薬剤によりRASを阻害する研究がなされているが、現在までのところRASを直接的に標的とする薬剤は存在せず、今後の課題である。最近、遺伝子改変マウスモデルを用いて、NRAS変異を持つ悪性黒色腫においては、NRAS経路の下流に存在するMEK阻害剤とCDK4阻害剤の併用により、相乗効果が得られるという報告があり⁵²⁾、今後の展開が待たれるところである。

7. おわりに

ここまでメラノサイトの分化に関わるMITF遺伝子制御、悪性黒色腫のがん遺伝子としてのMITF制御、またBRAF, NRAS変異について簡単に述べさせていただいた。

今回述べたようなMITFを含むWaardenburg症候群の原因遺伝子のように、原因遺伝子間に複雑なシグナル伝達経路がある病態は多く存在すると思われる。それらのシグナル伝達経路の詳細が明らかになり、今後その治療法へ少しでも有用な情報を得られることを期待する。

また、悪性黒色腫特異的がん遺伝子としてのMITFについては、HDAC阻害剤やPHD阻害剤以外の他薬剤を用いたMITF発現抑制や、さらには薬剤標的となりうる新規下流標的遺伝子の同定、また、直接的に転写因子の機能を抑制する薬剤の開発など、まだまだ研究の余地が残されている分野である。BRAF阻害剤の耐性機構についても、今後の悪性黒色腫の治療においてとても重要な研究である。

最後に、今回の総説を読んだ読者の皆様方に「シグナル伝達経路」について興味を持っていただけることを期待すると共に、今後の悪性黒色腫研究の更なる発展を期待する。

文 献

- 1) Wolfel, T., Hauer, M., Schneider, J., Serrano, M., Wolfel, C., Klehmann-Hieb, E., De Plaen, E., Hankeln, T., Meyer zum Buschenfelde, K.H., & Beach, D. (1995) *Science*, 269, 1281-1284.
- 2) Zuo, L., Weger, J., Yang, Q., Goldstein, A.M., Tucker, M.A., Walker, G.J., Hayward, N.K., & Dracopoli, N.C. (1996) *Nat. Genet.*, 12, 97-99.
- 3) Cannon-Albright, L.A., Goldgar, D.E., Meyer, L.J., Lewis, C. M., Anderson, D.E., Fountain, J.W., Hegi, M.E., Wiseman, R. W., Petyy, E.M., Bale, A.E., Olopade, O.I., Diaz, M.O., Kwiatkowski, D.J., Piepkorn, M.W., Zone, J.J., & Skolnick, M. H. (1992) *Science*, 258, 1148-1152.
- 4) Hussussian, C.J., Struwing, J.P., Goldstein, A.M., Higgins, P. A., Ally, D.S., Sheahan, M.D., Clark, W.H., Jr., Tucker, M.A., & Dracopoli, N.C. (1994) *Nat. Genet.*, 8, 15-21.
- 5) Yokoyama, S., Woods, S.L., Boyle, G.M., Aoude, L.G., MacGregor, S., Zismann, V., Gartside, M., Cust, A.E., Haq, R., Harland, M., Taylor, J.C., Duffy, D.L., Holohan, K., Dutton-Regester, K., Palmer, J.M., Bonazzi, V., Stark, M.S.,

- Symmons, J., Law, M.H., Schmidt, C., Lanagan, C., O'Connor, L., Holland, E.A., Schmid, H., Maskiell, J.A., Jetann, J., Ferguson, M., Jenkins, M.A., Kefford, R.F., Giles, G.G., Armstrong, B.K., Aitken, J.F., Hopper, J.L., Whiteman, D.C., Pharoah, P.D., Easton, D.F., Dunning, A.M., Newton-Bishop, J. A., Montgomery, G.W., Martin, N.G., Mann, G.J., Bishop, D. T., Tsao, H., Trent, J.M., Fisher, D.E., Hayward, N.K., & Brown, K.M. (2011) *Nature*, 480, 99–103.
- 6) Bertolotto, C., Lesueur, F., Giuliano, S., Strub, T., de Lichy, M., Bille, K., Dessen, P., d'Hayer, B., Mohamdi, H., Remenieras, A., Maubec, E., de la Fouchardière, A., Molinié, V., Vabres, P., Dalle, S., Poulalhon, N., Martin-Denavit, T., Thomas, L., Andry-Benzaquen, P., Dupin, N., Boitier, F., Rossi, A., Perrot, J.L., Labeille, B., Robert, C., Escudier, B., Caron, O., Brugières, L., Saule, S., Gardie, B., Gad, S., Richard, S., Couturier, J., The, B.T., Ghiorzo, P., Pastorino, L., Puig, S., Badenas, C., Olsson, H., Ingvar, C., Rouleau, E., Lidereau, R., Bahadoran, P., Vielh, P., Corda, E., Blanché, H., Zelenika, D., Galan, P.; French Familial Melanoma Study Group, Aubin, F., Bachollet, B., Becuwe, C., Berthet, P., Bignon, Y.J., Bonadona, V., Bonafe, J.L., Bonnet-Dupeyron, M.N., Cambazard, F., Chevrant-Breton, J., Coupier, I., Dalac, S., Demange, L., d'Incan, M., Dugast, C., Faivre, L., Vincent-Fétita, L., Gauthier-Villars, M., Gilbert, B., Grange, F., Grob, J. J., Humbert, P., Janin, N., Joly, P., Kerob, D., Lasset, C., Leroux, D., Levang, J., Limacher, J.M., Livideanu, C., Longy, M., Lortholary, A., Stoppa-Lyonnet, D., Mansard, S., Mansuy, L., Marrou, K., Matéus, C., Maugard, C., Meyer, N., Nogues, C., Souteyrand, P., Venat-Bouvet, L., Zattara, H., Chaudru, V., Lenoir, G.M., Lathrop, M., Davidson, I., Avril, M.F., Demenais, F., Ballotti, R., & Bressac-de Paillerets, B. (2011) *Nature*, 480, 94–98.
 - 7) Chin, L., Garraway, L.A., & Fisher, D.E. (2006) *Genes Dev.*, 20, 2149–2182.
 - 8) Dutton-Regester, K. & Hayward, N.K. (2012) *Pigment Cell Melanoma Res.*, 25, 144–154.
 - 9) Levy, C., Khaled, M., & Fisher, D.E. (2006) *Trends Mol. Med.*, 12, 406–414.
 - 10) Udono, T., Yasumoto, K., Takeda, K., Amae, S., Watanabe, K., Saito, H., Fuse, N., Tachibana, M., Takahashi, K., Tamai, M., & Shibahara, S. (2000) *Biochim. Biophys. Acta*, 1491, 205–219.
 - 11) Tachibana, M., Perez-Jurado, L.A., Nakayama, A., Hodgkinson, C.A., Li, X., Schneider, M., Miki, T., Fex, J., Francke, U., & Arnheiter, H. (1994) *Hum. Mol. Genet.*, 3, 553–557.
 - 12) McGill, G.G., Horstmann, M., Widlund, H.R., Du, J., Motyckova, G., Nishimura, E.K., Lin, Y.L., Ramaswamy, S., Avery, W., Ding, H.F., Jordan, S.A., Jackson, I.J., Korsmeyer, S.J., Golub, T.R., & Fisher, D.E. (2002) *Cell*, 109, 707–718.
 - 13) Tachibana, M., Takeda, K., Nobukuni, Y., Urabe, K., Long, J. E., Meyers, K.A., Aaronson, S.A., & Miki, T. (1996) *Nat. Genet.*, 14, 50–54.
 - 14) Kuhlbrodt, K., Schmidt, C., Sock, E., Pingault, V., Bondurand, N., Goossens, M., & Wegner, M. (1998) *J. Biol. Chem.*, 273, 23033–23038.
 - 15) Southard-Smith, E.M., Angrist, M., Ellison, J.S., Agarwala, R., Baxevasis, A.D., Chakravarti, A., & Pavan, W.J. (1999) *Genome Res.*, 9, 215–225.
 - 16) Watanabe, A., Takeda, K., Ploplis, B., & Tachibana, M. (1998) *Nat. Genet.*, 18, 283–286.
 - 17) Sánchez-Martín, M., Rodríguez-García, A., Pérez-Losada, J., Sagraera, A., Read, A.P., & Sánchez-García, I. (2002) *Hum. Mol. Genet.*, 11, 3231–3236.
 - 18) Ederly, P., Attie, T., Amiel, J., Pelet, A., Eng, C., Hofstra, R.M. W., Martelli, H., Bidaud, C., Munnich, A., & Lyonnet, S. (1996) *Nat. Genet.*, 12, 442–444.
 - 19) Hofstra, R.M.W., Osinga, J., Tan-Sindhunata, G., Wu, Y., Kamsteeg, E.-J., Stulp, R.P., van Ravenswaaij-Arts, C., Majoor-Krakauer, D., Angrist, M., Chakravarti, A., Meijers, C., & Buys, C.H.C.M. (1996) *Nat. Genet.*, 12, 445–447.
 - 20) Puffenberger, E.G., Hosoda, K., Washington, S.S., Nakao, K., deWit, D., Yanagisawa, M., & Chakravarti, A. (1994) *Cell*, 79, 1257–1266.
 - 21) Hosoda, K., Hammer, R.E., Richardson, J.A., Baynash, A.G., Cheung, J.C., Giaid, A., & Yanagisawa, M. (1994) *Cell*, 79, 1267–1276.
 - 22) Bondurand, N., Pingault, V., Goerich, D.E., Lemort, N., Sock, E., Le Caignec, C., Wegner, M., & Goossens, M. (2000) *Hum. Mol. Genet.*, 9, 1907–1917.
 - 23) Sato-Jin, K., Nishimura, E.K., Akasaka, E., Huber, W., Nakano, H., Miller, A., Du, J., Wu, M., Hanada, K., Sawamura, D., Fisher, D.E., & Imokawa, G. (2008) *FASEB J.*, 22, 1155–1168.
 - 24) Cantrell, V.A., Owens, S.E., Chandler, R.L., Airey, D.C., Bradley, K.M., Smith, J.R., & Southard-Smith, E.M. (2004) *Hum. Mol. Genet.*, 13, 2289–2301.
 - 25) Yokoyama, S., Takeda, K., & Shibahara, S. (2006) *FEBS J.*, 273, 1805–1820.
 - 26) Garraway, L.A., Widlund, H.R., Rubin, M.A., Getz, G., Berger, A.J., Ramaswamy, S., Beroukhi, R., Milner, D.A., Granter, S. R., Du, J., Lee, C., Wagner, S.N., Li, C., Golub, T.R., Rimm, D.L., Meyerson, M.L., Fisher, D.E., & Sellers, W.R. (2005) *Nature*, 436, 117–122.
 - 27) Davis, I.J., Kim, J.J., Oszolak, F., Widlund, H.R., Rozenblatt-Rosen, O., Granter, S.R., Du, J., Fletcher, J.A., Denny, C.T., Lessnick, S.L., Linehan, W.M., Kung, A.L., & Fisher, D.E. (2006) *Cancer Cell*, 9, 473–484.
 - 28) Wu, M., Hemesath, T.J., Takemoto, C.M., Horstmann, M.A., Wells, A.G., Price, E.R., Fisher, D.Z., & Fisher, D.E. (2000) *Genes Dev.*, 14, 301–312.
 - 29) Haq, R., Yokoyama, S., Hawryluk, E.B., Jönsson, G.B., Frederick, D.T., McHenry, K., Porter, D., Tran, T.N., Love, K. T., Langer, R., Anderson, D.G., Garraway, L.A., Duncan, L.M., Morton, D.L., Hoon, D.S., Wargo, J.A., Song, J.S., & Fisher, D.E. (2013) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 110, 4321–4326.
 - 30) Du, J., Widlund, H.R., Horstmann, M.A., Ramaswamy, S., Ross, K., Huber, W.E., Nishimura, E.K., Golub, T.R., & Fisher, D.E. (2004) *Cancer Cell*, 6, 565–576.
 - 31) Carreira, S., Goodall, J., Aksan, I., La Rocca, S.A., Galibert, M.D., Denat, L., Larue, L., & Goding, C.R. (2005) *Nature*, 433, 764–769.
 - 32) McGill, G.G., Haq, R., Nishimura, E.K., & Fisher, D.E. (2006) *J. Biol. Chem.*, 281, 10365–10373.
 - 33) Levy, C., Khaled, M., Iliopoulos, D., Janas, M.M., Schubert, S., Pinner, S., Chen, P.H., Li, S., Fletcher, A.L., Yokoyama, S., Scott, K.L., Garraway, L.A., Song, J.S., Granter, S.R., Turley, S.J., Fisher, D.E., & Novina, C.D. (2010) *Mol. Cell*, 40, 841–849.
 - 34) Yasumoto, K., Yokoyama, K., Shibata, K., Tomita, Y., & Shibahara, S. (1994) *Mol. Cell Biol.*, 14, 8058–8070.
 - 35) Chiaverini, C., Beuret, L., Flori, E., Busca, R., Abbe, P., Bille, K., Bahadoran, P., Ortonne, J.P., Bertolotto, C., & Ballotti, R. (2008) *J. Biol. Chem.*, 283, 12635–12642.
 - 36) Yokoyama, S., Feige, E., Poling, L.L., Levy, C., Widlund, H.

- R., Khaled, M., Kung, A.L., & Fisher, D.E. (2008) *Pigment Cell Melanoma Res.*, **21**, 457–463.
- 37) Feige, E., Yokoyama, S., Levy, C., Khaled, M., Igras, V., Lin, R.J., Lee, S., Widlund, H.R., Granter, S.R., Kung, A.L., & Fisher, D.E. (2011) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, E924–E933.
- 38) Gurvich, N., Berman, M.G., Wittner, B.S., Gentleman, R.C., Klein, P.S., & Green, J.B. (2005) *FASEB J.*, **19**, 1166–1168.
- 39) Haq, R., Shoag, J., Andreu-Perez, P., Yokoyama, S., Edelman, H., Rowe, G.C., Frederick, D.T., Hurley, A.D., Nellore, A., Kung, A.L., Wargo, J.A., Song, J.S., Fisher, D.E., Arany, Z., & Widlund, H.R. (2013) *Cancer Cell*, **23**, 302–315.
- 40) Davies, H., Bignell, G.R., Cox, C., Stephens, P., Edkins, S., Clegg, S., Teague, J., Woffendin, H., Garnett, M.J., Bottomley, W., Davis, N., Dicks, E., Ewing, R., Floyd, Y., Gray, K., Hall, S., Hawes, R., Hughes, J., Kosmidou, V., Menzies, A., Mould, C., Parker, A., Stevens, C., Watt, S., Hooper, S., Wilson, R., Jayatilake, H., Gusterson, B.A., Cooper, C., Shipley, J., Hargrave, D., Pritchard-Jones, K., Maitland, N., Chenevix-Trench, G., Riggins, G.J., Bigner, D.D., Palmieri, G., Cossu, A., Flanagan, A., Nicholson, A., Ho, J.W., Leung, S.Y., Yuen, S.T., Weber, B.L., Seigler, H.F., Darrow, T.L., Paterson, H., Marais, R., Marshall, C.J., Wooster, R., Stratton, M.R., & Futreal, P.A. (2002) *Nature*, **417**, 949–954.
- 41) Pollock, P.M., Harper, U.L., Hansen, K.S., Yudt, L.M., Stark, M., Robbins, C.M., Moses, T.Y., Hostetter, G., Wagner, U., Kakareka, J., Salem, G., Pohida, T., Heenan, P., Duray, P., Kallioniemi, O., Hayward, N.K., Trent, J.M., & Meltzer, P.S. (2003) *Nat. Genet.*, **33**, 19–20.
- 42) Flaherty, K.T., Puzanov, I., Kim, K.B., Ribas, A., McArthur, G.A., Sosman, J.A., O'Dwyer, P.J., Lee, R.J., Grippo, J.F., Nolop, K., & Chapman, P.B. (2010) *N. Engl. J. Med.*, **363**, 809–819.
- 43) Chapman, P.B., Hauschild, A., Robert, C., Haanen, J.B., Ascierto, P., Larkin, J., Dummer, R., Garbe, C., Testori, A., Maio, M., Hogg, D., Lorigan, P., Lebbe, C., Jouary, T., Schadendorf, D., Ribas, A., O'Day, S.J., Sosman, J.A., Kirkwood, J.M., Eggermont, A.M., Dreno, B., Nolop, K., Li, J., Nelson, B., Hou, J., Lee, R.J., Flaherty, K.T., McArthur, G. A.; BRIM-3 Study Group (2011) *N. Engl. J. Med.*, **364**, 2507–2516.
- 44) Nazarian, R., Shi, H., Wang, Q., Kong, X., Koya, R.C., Lee, H., Chen, Z., Lee, M.K., Attar, N., Sazegar, H., Chodon, T., Nelson, S.F., McArthur, G., Sosman, J.A., Ribas, A., & Lo, R. S. (2010) *Nature*, **468**, 973–977.
- 45) Montagut, C., Sharma, S.V., Shioda, T., McDermott, U., Ulman, M., Ulkus, L.E., Dias-Santagata, D., Stubbs, H., Lee, D.Y., Singh, A., Drew, L., Haber, D.A., & Settleman, J. (2008) *Cancer Res.*, **68**, 4853–4861.
- 46) Shi, H., Moriceau, G., Kong, X., Lee, M.K., Lee, H., Koya, R. C., Ng, C., Chodon, T., Scolyer, R.A., Dahlman, K.B., Sosman, J.A., Kefford, R.F., Long, G.V., Nelson, S.F., Ribas, A., & Lo, R.S. (2012) *Nat. Commun.*, **3**, 724.
- 47) Villanueva, J., Vultur, A., Lee, J.T., Somasundaram, R., Fukunaga-Kalabis, M., Cipolla, A.K., Wubbenhorst, B., Xu, X., Gimotty, P.A., Kee, D., Santiago-Walker, A.E., Letrero, R., D'Andrea, K., Pushparajan, A., Hayden, J.E., Brown, K.D., Laquerre, S., McArthur, G.A., Sosman, J.A., Nathanson, K.L., & Herlyn, M. (2010) *Cancer Cell*, **18**, 683–695.
- 48) Nazarian, R., Shi, H., Wang, Q., Kong, X., Koya, R.C., Lee, H., Chen, Z., Lee, M.K., Attar, N., Sazegar, H., Chodon, T., Nelson, S.F., McArthur, G., Sosman, J.A., Ribas, A., & Lo, R. S. (2010) *Nature*, **468**, 973–977.
- 49) Karnoub, A.E. & Weinberg, R.A. (2008) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **9**, 517–531.
- 50) Tsao, H., Zhang, X., Fowlkes, K., & Haluska, F.G. (2000) *Cancer Res.*, **60**, 1800–1804.
- 51) Tsao, H., Zhang, X., Benoit, E., & Haluska, F.G. (1998) *Oncogene*, **16**, 3397–3402.
- 52) Kwong, L.N., Costello, J.C., Liu, H., Jiang, S., Helms, T.L., Langsdorf, A.E., Jakubosky, D., Genovese, G., Muller, F.L., Jeong, J.H., Bender, R.P., Chu, G.C., Flaherty, K.T., Wargo, J. A., Collins, J.J., & Chin, L. (2012) *Nat. Med.*, **18**, 1503–1510.