

Санкт-Петербургский  
клинический  
научно-практический центр  
специализированных видов  
медицинской помощи  
(онкологический)  
(Санкт-Петербург, Россия)

Санкт-Петербургский  
государственный  
университет  
(Санкт-Петербург, Россия)

НИИ онкологии  
им. Н.Н. Петрова  
Минздрава России  
(Санкт-Петербург, Россия)

## ФУНДАМЕНТАЛЬНАЯ ОНКОЛОГИЯ В 2016 ГОДУ: ОБЗОР НАИБОЛЕЕ ИНТЕРЕСНЫХ ОТКРЫТИЙ\*

Е.Н. Имянитов

### BASIC SCIENCE IN ONCOLOGY: YEAR 2016 OVERVIEW

Е.Н. Имянитов

Профессор, доктор медицинских наук,  
член-корреспондент РАН, НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова Минздрава России,  
Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр  
специализированных видов медицинской помощи (онкологический),  
Санкт-Петербургский государственный университет,  
197758, Россия, Санкт-Петербург, пос. Песочный, Ленинградская ул., д. 68А, лит. А.  
Тел.: 8 (812) 439-95-55. E-mail: evgeny@imyanitov.spb.ru.

E.N. Imyanitov

Professor, Doctor of Medicine, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences,  
N.N. Petrov Research Institute of Oncology, St. Petersburg Clinical Research Center  
of Specialized Types of Care (Oncology), Saint Petersburg State University,  
197758, Russia, St. Petersburg, Pesochny, Leningradskaya St., 68A, lit. A.  
Phone: 8 (812) 439-95-55. E-mail: evgeny@imyanitov.spb.ru.

Данный обзор посвящен наиболее интересным событиям в фундаментальной онкологии за 2016 год. Рассматриваются новые аспекты процесса метастазирования. Представлены новые сведения о роли генных перестроек в патогенезе рака. Значительная часть обзора посвящена прогрессу в изучении BRCA1/2-ассоциированных опухолей. Обобщены результаты наиболее интересных исследований в области иммуноонкологии.

**Ключевые слова:** онкология, новые аспекты процесса метастазирования, интересные события в фундаментальной онкологии, BRCA1/2-ассоциированные опухоли.

This review summarizes the most interesting findings for basic science in oncology made within the year 2016. New mechanisms of metastatic spread are discussed. There are unexpected data regarding contribution of gene translocations in cancer pathogenesis. Progress in the studies of BRCA1/2-related cancers is presented. Novel findings in immunooncology are reviewed.

**Keywords:** oncology, mechanisms of metastatic spread, interesting findings for basic science in oncology, BRCA1/2-related cancers.

### Новые нюансы в понимании механизмов метастазирования

Метастатическое распространение опухолевых очагов является главной причиной неблагоприятного исхода онкологических заболеваний. Наблюдения за естественным ходом течения большинства случаев рака интуитивно согласуются с «линейной» моделью опухолевой прогрессии – действительно, как правило, вначале формируется первичный очаг опухолевого роста и только потом к этому процессу присоединяется метастатическое поражение отдаленных органов. Данное убеждение в определенной степени под-

\* Данная работа поддержана грантом РФФИ 15-04-01744.

крепляется исследованиями молекулярной биологии опухолей; например, т.н. «драйверные» («стволовые») мутации, которым отводится ключевая роль в процессе злокачественной трансформации, практические всегда демонстрируют конкордантность статуса между первичной опухолью и метастазами. Тем не менее, существует немало наблюдений, ставящих «линейную» модель опухолевой прогрессии под сомнение. Самым главным аргументом является низкая эффективность мероприятий по ранней диагностике рака: многие исследования показывают, что скрининг действительно увеличивает количество онкологических больных, у которых опухоль выявляется на ранней стадии, но при этом лишь пограничным образом отражается на снижении показателей онкологической смертности. «Линейная» модель не может объяснить ряд хорошо известных клинических феноменов, например, относительно частое образование метастазов у пациентов с неинвазивными опухолями или существование метастатических карцином с невыясненным первичным очагом [21, 24]. Помимо этого, в «линейную» модель явно не вписываются некоторые результаты исследований циркулирующих клеток опухолей: в частности, циркулирующие клетки рака молочной железы, являющиеся источником метастатической диссеминации, зачастую содержат меньше генетических повреждений, чем сама первичная опухоль [25, 26]. Создается ощущение, что формирование первичной опухоли и образование метастатических очагов могут являться не последовательными, а параллельными процессам. Несколько исследований, выполненных в прошедшем году, подтверждают существование «параллельной» модели опухолевой прогрессии [15]. Hosseini et al. [9] и Harper et al. [8] изучали прогрессию HER2-позитивных карцином у мышей. Было выявлено, что циркулирующие опухолевые клетки (disseminated cancer cells, DCC) появляются в периферической крови заметно раньше, чем формируется видимое первичное новообразование. Более того, DCC, выявленные на ранних, «невидимых» стадиях прогрессии неопластического процесса, характеризуются более высоким метастатическим потенциалом по сравнению с диссеминированными клетками, которые открепилась от уже «созревшей» опухоли; в то же время, «ранние» DCC уступают «зрелым» циркулирующим клеткам в способности формировать опухолевые очаги на месте инъекции. Таким образом, способность к локальному инвазивному росту и способность к метастазированию являются разными компонентами злокачественного фенотипа. Hosseini et al. [9] установили, что эффект ранней диссеминации в значительной мере связан с воздействием прогестерона. Клетки, экспрессирующие рецептор прогестерона (PgR), реагируют на воздействии данного гормона и секретуют лиганды – WNT4 и RANKL. Именно паракринное влияние этих лигандов возбуждает способность к миграции у соседних клеток. Данный биологический феномен угасает по мере роста

первичной опухоли – это связано с тем, что увеличение клеточной массы приводит к перепрограммированию профиля экспрессии микроРНК и угнетению экспрессии PgR. В целом, данная серия работ подчеркивает, что изучение молекулярно-биологических особенностей «зрелых» опухолей не в полной мере отражает все аспекты прогрессии опухолевых клонов. По-видимому, анализ диссеминированных опухолевых клеток должен составлять отдельное направление экспериментальной онкологии.

С этими наблюдениями согласуются результаты, полученные Pascual et al. [20]. При изучении карцином ротовой полости было установлено, что источником метастазирования может являться достаточно небольшая популяция клеток, характеризующаяся экспрессией рецептора жирных кислот CD36 и низкой скоростью пролиферации. Присутствие в рационе подопытных животных большого количества жиров провоцировало метастазирование экспериментальных карцином. Применение антител к CD36 сопровождалось практически полным предотвращением метастатического распространения опухолей у мышей. Высокая экспрессия CD36 коррелировала с плохим прогнозом заболевания у онкологических пациентов.

### Новые роли генных транслокаций

Генные транслокации играют существенную роль в патогенезе опухолей человека. Многие из них приводят к образованию химерных онкогенов, активируя функцию последних. Например, транслокации генов ALK, ROS и RET, наблюдаемые в карциномах легкого и других разновидностях опухолей, высвобождают киназную функцию перечисленных рецепторов из-под негативного контроля. В результате формируется автономный сигнал к клеточному делению, который не зависит от воздействия внешних факторов. Именно активация киназной функции транслоцированных онкогенов стала мишенью для эффективной противоопухолевой терапии – в настоящее время в клинике активно используются ингибиторы ABL, ALK, ROS, RET и т.д.

В 2016 г. лаборатория, возглавляемая Pier Paolo Pandolfi и хорошо известная своими сенсационными открытиями, опубликовала еще одно совершенно нетривиальное исследование [7]. Ученые обнаружили, что в результате транслокаций могут образовываться не только хорошо известные химерные онкобелки, но и новый класс молекул – химерные кольцевые РНК. Механизм образования кольцевых химерных ДНК связан с изменением взаиморасположения комплементарных повторяющихся последовательностей ДНК в результате транслокации интронов вовлеченных генов. Существенно, что химерные кольцевые РНК могут принимать непосредственное участие в патогенезе злокачественной трансформации: эксперименты показывают, что эти молекулы обладают трансформирующей активностью в экспериментах с

культурами клеток. Более того, химерные кольцевые РНК оказывают влияние на формирование чувствительности или резистентности новообразований к противоопухолевой терапии. Механизмы, благодаря которым химерные кольцевые РНК проявляют свои биологические эффекты, остаются неясными.

В целом, лавина данных о роли «новых» разновидностей РНК в процессах канцерогенеза продолжает нарастать: например, Leucci et al. [16] продемонстрировали значимость длинной некодирующей РНК SAMSON в патогенезе агрессивных разновидностей меланом. Эффект этой РНК достигается за счет взаимодействия с белком p32, который участвует в поддержании гомеостаза митохондрий.

В контексте упомянутого выше открытия онкогенных кольцевых РНК [7] следует обратить внимание на ряд клинических наблюдений, для которых в настоящее время отсутствует аргументированное объяснение. Например, Yoshida et al. [29] анализировали эффективность лечения пациентов, получающих кризотиниб в связи присутствием в опухоли легкого транслокации в гене ALK. Оказалось, что длительный ответ наблюдался только у тех пациентов, карциномы которых содержали т.н. первый вариант перестройки. Новообразования с другими, более редкими вариантами транслокаций, характеризовались значительно меньшей чувствительностью к терапии. Феномен различной чувствительности к кризотинибу опухолей, содержащих разные варианты перестроек ALK, согласуется с результатами экспериментов на клеточных культурах. Не исключено, что здесь могут играть роль совершенно новые механизмы, например, различия в способности образовывать химерные кольцевые РНК. В любом случае, работа Yoshida et al. [29] указывает на недостаточную информативность «золотого стандарта» ALK-тестирования – FISH-диагностики. Действительно, FISH может выявлять сам факт присутствия транслокации, но данный метод не обладает способностью идентифицировать вариант генной перестройки. Если данные Yoshida et al. [29] подтвердятся, генотипирование точки разрыва и идентификация гена-партнера могут стать обязательными компонентами ALK-тестирования [17].

В целом, выявление транслокаций в условиях исследовательской деятельности и повседневной клинической практики сталкивается с определенными техническими трудностями. Появление принципиально новых технологий, особенно секвенирования нового поколения, позволило установить, что генные перестройки встречаются в опухолях человека значительно чаще, чем считалось ранее. Более того, для многих химерных онкогенов уже существуют эффективные терапевтические подходы. Например, Bender et al., 2016 продемонстрировали, что примерно в 10% глиобластом детского возраста наблюдаются активирующие перестройки гена MET [11]. Ген MET по своей структуре очень похож на ген ALK – следует

упоминать, что упомянутый выше препарат кризотиниб изначально разрабатывался как ингибитор именно киназы MET [17]. Примечательно, что в работе Bender et al., 2016 назначение кризотиниба ребенку с MET-транслоцированной глиобластомой сопровождалось заметным лечебным эффектом [11].

### Новые сведения о биологической роли и клинической значимости мутаций в генах BRCA1 и BRCA2

Несмотря на то, что гены BRCA1 и BRCA2 принимают участие в широком спектре клеточных функций, в частности, в процессах репарации ДНК, спектр BRCA1/2-индуцированных опухолей характеризуется удивительной органоспецифичностью и ограничивается преимущественно карциномами молочной железы, яичника и желудка. Ряд исследований свидетельствуют о том, что «тропность» мутаций BRCA1/2 к тканям молочной железы объясняется взаимодействиями этих белков с эндокринными процессами. Nolan et al. [18] изучали люминальные клетки молочной железы, полученные от носительниц мутаций в гене BRCA1. Они обратили внимание на тот факт, что субпопуляция этих клеток экспрессирует прогестерон-регулируемый рецептор RANK. Примечательно, что именно RANK+ клетки напоминали по своему фенотипу базальный эпителий, характеризовались нарушениями репарации ДНК и обладали значительной пролиферативной активностью. Применение ингибитора лиганда RANK (RANKL) – препарата деносуаб – препятствовало пролиферативному эффекту прогестерона на эту категорию клеток. Более того, деносуаб замедлял образование опухолей у BRCA1-гетерозиготных мышей. В рамках пилотного клинического исследования деносуаб продемонстрировал способность снижать пролиферацию клеток молочной железы у носительниц мутаций в гене BRCA1. Таким образом, угнетение сигнального каскада RANK представляется потенциально эффективной стратегией лекарственной профилактики наследственного рака молочной железы [19].

Соматическая инактивация оставшегося аллеля генов BRCA1/2 в опухолевых клетках приводит к появлению уникального терапевтического окна, связанного с опухоль-специфическим дефектом репарации двуниевых разрывов ДНК [12]. Именно эта особенность объясняет необычно высокую чувствительность BRCA1/2-ассоциированных опухолей к некоторым цитостатическим препаратам. Более того, в литературе описано несколько случаев полного излечения наследственных опухолей молочной железы на фоне применения высокодозной терапии. Boudin et al. [2] опубликовали результаты первого систематического анализа ретроспективных данных в отношении применения высокодозной терапии при метастатическом раке молочной железы, в котором учитывался статус генов BRCA1 и BRCA2. Это исследование убедительно

подтвердило, что высокодозная терапия действительно может рассматриваться как метод выбора при лечении BRCA1/2-ассоциированных раков – именно эта группа пациенток характеризовалась заметным увеличением безрецидивного периода и общей продолжительности жизни.

В целом, т.к. мутации в генах BRCA1/2 и некоторых других, близких по своим функциям генов наследственного рака, сопряжены с новыми возможностями лечения онкологических больных, целый ряд исследований направлен на систематический поиск подобных мутаций в различных категориях опухолей. Pritchard et al. [22] выявили наследственные мутации в генах репарации ДНК у 11,8% пациентов с метастатическим раком предстательной железы; этот показатель более чем вдвое превышал частоту наследственных мутаций у больных с локализованной формой заболевания. Hugo et al. [10] продемонстрировали клинически значимую частоту мутаций гена BRCA2 в меланомах, причем присутствие этих событий коррелировало с ответом опухолей на терапию антагонистами PD1.

### Новые подходы к пониманию биологических особенностей и принципов лечения KRAS-мутированных опухолей

Мутации в генах семейства RAS наблюдаются примерно в 70% опухолей толстой кишки, 15% меланом, 15–30% карцином легкого и т.д. Создание RAS-специфических ингибиторов сталкивается со значительными трудностями, поэтому постоянно ведется поиск альтернативных подходов к лечению RAS-мутированных неоплазм. Ambrogio et al. [1] проанализировали транскриптомные профили KRAS-индуцированных опухолей легкого у мышей и выявили признаки активации тирозинкиназы DDR1. Ингибитор этого рецептора – дасатиниб – уже применяется в клинической практике для лечения лейкозов. Назначение дасатиниба экспериментальным мышам сдерживало рост KRAS-мутированных карцином, при этом противоопухолевый эффект усиливался при сочетанном угнетении сигнального каскада Notch. Другая, сходная по своему замыслу, работа продемонстрировала избирательную чувствительность опухолей с мутациями в гене KRAS к ингибитору белка XPO1 – препарату Selinexor [14].

Уникальный случай лечения пациентки с KRAS-мутированной опухолью толстой кишки описан Tran et al. [27]. Авторы выполнили забор ткани из метастатических очагов и произвели анализ цитотоксических Т-лимфоцитов. Были отобраны клоны, которые специфически распознают мутированный KRAS, и далее эти лимфоциты были размножены в условиях клеточной культуры. Инфузия KRAS-специфических Т-лимфоцитов привела к регрессу метастатических очагов. Впоследствии один из очагов снова стал прогрессировать; его анализ показал, что резистентные

к иммунотерапии клетки толстой кишки утратили аллель HLA-C\*08:02, который участвовал в презентации KRAS-мутированного фрагмента иммунным клеткам.

### Новости иммуноонкологии

Модуляторы иммунного ответа открыли новую эпоху в онкологии. К сожалению, их применение в определенной мере компрометируется отсутствием предиктивных маркеров, пригодных для повседневной клинической диагностики. Анализ результатов клинических испытаний продемонстрировал зависимость противоопухолевого эффекта иммуномодуляторов от общего количества мутаций в опухолевых клетках, спектра неоантигенов, определенных экспрессионных профилей и т.д. Тем не менее, эти лабораторные тесты практически невозможно применять для практических целей, т.к. значительные трудности сопряжены не только с самим лабораторным анализом, но и с обработкой и интерпретацией получаемых данных. На этом фоне перспективной представляется работа, продемонстрировавшая ассоциацию между присутствием мутаций в генах серпинов и ответом на анти-CTLA4 терапию [23]. Мутации в генах SERPINB3 и SERPINB4 наблюдаются примерно в 15–25% меланом. Их присутствие, по-видимому, ассоциировано с относительной иммуногенностью опухолей. Существенно, что анализ нуклеотидной последовательности SERPINB3 и SERPINB4 может входить в спектр стандартных молекулярно-диагностических мероприятий.

Хорошо известно, что многие опухоли демонстрируют необычно длительные периоды ремиссии в ответ на назначение модуляторов иммунного ответа. Тем не менее, по мере наблюдения за подобными пациентами становится очевидным, что в значительном количестве случаев применение иммуномодуляторов сопровождается возникновением резистентности к лечению. Zaretsky et al. [30] выполнили полноэкзомный анализ очагов меланомы, которые стали прогрессировать на фоне изначально успешного лечения пембролизумабом. Двое из четырех проанализированных рецидивов опухолевого роста продемонстрировали биаллельную инактивацию киназ JAK (JAK1 и JAK2, соответственно). Результатом этих мутаций являлась утрата чувствительности опухолевых клеток к интерферону-гамма. У третьего пациента была выявлена мутация в гене бэта-2-микроглобулина. Следствием этой мутации являлась утрата экспрессии белков большого комплекса гистосовместимости I на поверхности клетки, что, в свою очередь, свидетельствует о нарушении процессов презентации опухолевых антигенов. Эти данные хорошо согласуются с результатами целого ряда экспериментов, выполненных на экспериментальных моделях.

Интересно, что активность противоопухолевого иммунитета может в определенной мере модулиро-

ваться хорошо известными ферментами, в частности, киназами. Например, Dorand et al. [6] установили, что инактивация циклин-зависимой киназы 5 (CDK5) сопровождается изменением в сигнальном каскаде интерферона-гамма и утратой экспрессии PD-L1 опухолевыми клетками. Угнетение CDK5 в эксперименте на мышах приводило к регрессии медуллобластом. Данное исследование может иметь определенные клинические перспективы, т.к. создание специфических фармакологических ингибиторов киназ становится в той или иной мере рутинным технологическим процессом. В этом контексте представляется уместным упомянуть еще одно исследование, продемонстрировавшее иммуномодулирующую активность протеинкиназ. Jiang et al. [13] изучали прогрессию экспериментальной карциномы поджелудочной железы у мышей. Они продемонстрировали, что этот процесс в значительной мере опосредуется тирозинкиназой FAK, которая экспрессируется опухолевыми клетками и приводит к образованию фиброза и возникновению перитуморальной иммуносупрессии. Применение фармакологического ингибитора FAK приводило к замедлению неопластического роста и сопровождалось лимфоцитарной инфильтрацией опухолевых очагов. Более того, инактивация FAK потенцировала противоопухолевое воздействие иммуномодулирующих препаратов.

Hugo et al. [10] анализировали транскриптомные профили меланом, которые подвергались лечению комбинацией пембролизумаба и ниволумаба. Было установлено, что резистентность к иммунотерапии ассоциируется с экспрессией тех же групп генов, которые активируются по мере утраты эффективности BRAF- и MEK-специфической терапии. Эти эксперименты позволяют понять, почему применение иммунотерапии после использования ингибиторов

BRAF зачастую характеризуется недостаточной эффективностью.

Yang et al. [28] изучали цитотоксические свойства CD8+ Т-лимфоцитов. Удалось установить, что эти клетки активируются в случае подавления фермента метаболизма холестерина, АТАС1. Примечательно, что уже существует фармакологический ингибитор АТАС1, который проходил клинические испытания у больных атеросклерозом. Данный ингибитор (avasimibe) демонстрировал противоопухолевую активность по отношению к экспериментальным меланомам у мышей. Более того, он обладал потенцирующим эффектом в отношении анти-PD1 антител.

### Новые мишени для противоопухолевой терапии

Следует вкратце остановиться на нескольких интересных работах, которые предлагают новые молекулярные мишени для подавления опухолевого роста. В частности, большое внимание вызывают исследования, посвященные поиску новых мишеней «трижды-негативного» рака молочной железы. Brasó-Maristany et al. [3] смогли установить, что для многих новообразований данной категории характерна активация киназы PIM1. Использование PIM-ингибитора, препарата AZD1208, замедляло пролиферацию клеток рака молочной железы в условиях клеточной культуры и угнетало рост ксенографтов у мышей. Другим важным событием является разработка и успешные предклинические испытания PT2399 – фармакологического ингибитора ключевого онкобелка светлоклеточной карциномы почки, HIF2- $\alpha$  [4]. Dombi et al. [5] продемонстрировали клиническую эффективность ингибитора киназы MEK, селуметиниба, для лечения новообразований у пациентов с нейрофиброматозом.

### Список литературы

1. Ambrogio C., Gómez-López G., Falcone M., Vidal A., Nadal E., Crosetto N., Blasco R.B., Fernández-Marcos P.J., Sánchez-Céspedes M., Ren X., Wang Z., Ding K., Hidalgo M., Serrano M., Villanueva A., Santamaría D., Barbacid M. Combined inhibition of DDR1 and Notch signaling is a therapeutic strategy for KRAS-driven lung adenocarcinoma. *Nat Med.* 2016 Mar; 22(3): 270-7.
2. Boudin L., Gonçalves A., Sabatier R., Moretta J., Sfumato P., Asseeva P., Livon D., Bertucci F., Extra J.M., Tarpin C., Houvenaeghel G., Lambaudie E., Tallet A., Resbeut M., Sobol H., Charafe-Jauffret E., Calmels B., Lemarie C., Boher J.M., Viens P., Eisinger F., Chabannon C. Highly favorable outcome in BRCA-mutated metastatic breast cancer patients receiving high-dose chemotherapy and autologous hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2016 Aug; 51(8): 1082-6.
3. Brasó-Maristany F., Filosto S., Catchpole S., Marlow R., Quist J., Francesch-Domenech E., Plumb D.A., Zakka L., Gazinska P., Lippardi G., Meier P., Gris-Oliver A., Cheang M.C., Perdrix-Rosell A., Shafiq M., Noël E., Patel N., McEachern K., Scaltriti M., Castel P., Noor F., Buus R., Mathew S., Watkins J., Serra V., Marra P., Grigoriadis A., Tutt A.N. PIM1 kinase regulates cell death, tumor growth and chemotherapy response in triple-negative breast cancer. *Nat Med.* 2016 Nov; 22(11): 1303-1313.
4. Cho H., Du X., Rizzi J.P., Liberzon E., Chakraborty A.A., Gao W., Carvo I., Signoretti S., Bruick R.K., Josey J.A., Wallace E.M., Kaelin W.G. On-target efficacy of a HIF-2 $\alpha$  antagonist in preclinical kidney cancer models. *Nature.* 2016 Nov 3; 539(7627): 107-111.
5. Dombi E., Baldwin A., Marcus L.J., Fisher M.J., Weiss B., Kim A., Whitcomb P., Martin S., Aschbacher-Smith L.E., Rizvi T.A., Wu J., Ersbler R., Wolters P., Therrien J., Glod J., Belasco J.B., Schorry E., Brofferio A., Starosta A.J., Gillespie A., Doyle A.L.,

Ratner N., Widemann B.C. Activity of Selumetinib in Neurofibromatosis Type 1-Related Plexiform Neurofibromas. *N Engl J Med.* 2016 Dec 29; 375(26): 2550-2560.

6. Dorand R.D., Nibale J., Myers J.T., Barkauskas D.S., Avril S., Chirieleison S.M., Pareek T.K., Abbott D.W., Stearns D.S., Letterio J.J., Huang A.Y., Petrosiute A. Cdk5 disruption attenuates tumor PD-L1 expression and promotes antitumor immunity. *Science.* 2016 Jul 22; 353(6297): 399-403.

7. Guarnerio J., Bezzi M., Jeong J.C., Puffenbolz S.V., Berry K., Naldini M.M., Lo-Coco F., Tay Y., Beck A.H., Pandolfi P.P. Oncogenic Role of Fusion-circRNAs Derived from Cancer-Associated Chromosomal Translocations. *Cell.* 2016 Apr 7; 165(2): 289-302.

8. Harper K.L., Sosa M.S., Entenberg D., Hosseini H., Cbeung J.F., Nobre R., Avivar-Valderas A., Nagi C., Girmius N., Davis R.J., Farias E.F., Condeelis J., Klein C.A., Aguirre-Ghiso J.A. Mechanism of early dissemination and metastasis in Her2 (+) mammary cancer. *Nature.* 2016 Dec 14. doi: 10.1038/nature20609 (in press).

9. Hosseini H., Obradović M.M., Hoffmann M., Harper K.L., Sosa M.S., Werner-Klein M., Nanduri L.K., Werno C., Ebrl C., Maneck M., Patwary N., Haunschild G., Gužvić M., Reimelt C., Grauwogl M., Eichner N., Weber F., Hartkopf A.D., Taran F.A., Brucker S.Y., Febm T., Rack B., Buchholz S., Spang R., Meister G., Aguirre-Ghiso J.A., Klein C.A. Early dissemination seeds metastasis in breast cancer. *Nature.* 2016 Dec 14. doi: 10.1038/nature20785 (in press).

10. Hugo W., Zaretsky J.M., Sun L., Song C., Moreno B.H., Hu-Lieskovan S., Berent-Maoz B., Pang J., Chmielowski B., Cherry G., Seja E., Lomeli S., Kong X., Kelley M.C., Sosman J.A., Johnson D.B., Ribas A., Lo R.S. Genomic and Transcriptomic Features of Response to Anti-PD-1 Therapy in Metastatic Melanoma. *Cell.* 2016 Mar 24; 165(1): 35-44.

11. International Cancer Genome Consortium PedBrain Tumor Project. Recurrent MET fusion genes represent a drug target in pediatric glioblastoma. *Nat Med.* 2016 Nov; 22(11): 1314-1320.

12. Iyevleva A.G., Imyanitov E.N. Cytotoxic and targeted therapy for hereditary cancers. *Hered Cancer ClinPract.* 2016 Aug 23; 14(1): 17.

13. Jiang H., Hegde S., Knolhoff B.L., Zhu Y., Herndon J.M., Meyer M.A., Nywening T.M., Hawkins W.G., Shapiro I.M., Weaver D.T., Pachter J.A., Wang-Gillam A., DeNardo D.G. Targeting focal adhesion kinase renders pancreatic cancers responsive to checkpoint immunotherapy. *Nat Med.* 2016 Aug; 22(8): 851-60.

14. Kim J., McMillan E., Kim H.S., Venkateswaran N., Makkar G., Rodriguez-Canales J., Villalobos P., Neggers J.E., Mendiratta S., Wei S., Landesman Y., Senapedis W., Baloglu E., Chow C.B., Frink R.E., Gao B., Roth M., Minna J.D., Daelemans D., Wistuba I.I., Posner B.A., Scaglioni P.P., White M.A. XPO1-dependent nuclear export is a druggable vulnerability in KRAS-mutant lung cancer. *Nature.* 2016 Oct 6; 538(7623): 114-117.

15. Klein C.A. Parallel progression of primary tumours and metastases. *Nat RevCancer.* 2009 Apr; 9(4): 302-12.

16. Leucci E., Vendramin R., Spinazzi M., Laurette P., Fiers M., Wouters J., Radaelli E., Eyckerman S., Leonelli C., Vanderbeyden K., Rogiers A., Hermans E., Baatsen P., Aerts S., Amant F., Van Aelst S., van den Oord J., de Strooper B., Davidson I., Lafontaine D.L., Gevaert K., Vandensompele J., Mestdagh P., Marine J.C. Melanoma addiction to the long non-coding RNA SAMMSON. *Nature.* 2016 Mar 24; 531(7595): 518-22.

17. Mitiushkina N.V., Imyanitov E.N. Distinct benefit from crizotinib in lung cancer patients carrying distinct ALK translocations: is fluorescent hybridization in situ testing still sufficient to guide clinical decisions? *Transl Cancer Res* 2016; 5(Suppl 7): S1393-S1395.

18. Nolan E., Vaillant F., Branstetter D., Pal B., Giner G., Whitehead L., Lok S.W., Mann G.B., Kathleen Cuningham Foundation Consortium for Research into Familial Breast Cancer (kConFab), Robrbach K., Huang L.Y., Soriano R., Smyth G.K., Dougall W.C., Visvader J.E., Lindeman G.J. RANK ligand as a potential target for breast cancer prevention in BRCA1-mutation carriers. *Nat Med.* 2016 Aug; 22(8): 933-9.

19. Nolan E., Lindeman G.J., Visvader J.E. Out-RANKing BRCA1 in Mutation Carriers. *Cancer Res.* 2017 Feb 1; 77(3): 595-600.

20. Pascual G., Avgustinova A., Mejetta S., Martin M., Castellanos A., Attolini C.S., Berenguer A., Prats N., Toll A., Hueto J.A., Bescós C., Di Croce L., Benitah S.A. Targeting metastasis-initiating cells through the fatty acid receptor CD36. *Nature.* 2017 Jan 5; 541(7635): 41-45.

21. Paulidis N., Khaled H., Gaafar R. A mini review on cancer of unknown primarysite: A clinical puzzle for the oncologists. *J Adv Res.* 2015 May; 6(3): 375-82.

22. Pritchard C.C., Mateo J., Walsh M.F., De Sarkar N., Abida W., Beltran H., Garofalo A., Gulati R., Carreira S., Eeles R., Elemento O., Rubin M.A., Robinson D., Lonigro R., Hussain M., Chinnaiyan A., Vinson J., Filipenko J., Garraway L., Taplin M.E., Al Dubayan S., Han G.C., Beightol M., Morrissey C., Nghiem B., Cheng H.H., Montgomery B., Walsh T., Casadei S., Berger M., Zhang L., Zehir A., Vijai J., Scher H.I., Sawyers C., Schultz N., Kantoff P.W., Solit D., Robson M., Van Allen E.M., Offit K., de Bono J., Nelson P.S. Inherited DNA-Repair Gene Mutations in Men with Metastatic Prostate Cancer. *N Engl J Med.* 2016 Aug 4; 375(5): 443-53.

23. Riaz N., Havel J.J., Kendall S.M., Makarov V., Walsh L.A., Desrichard A., Weinhold N., Chan T.A. Recurrent SERPINB3 and SERPINB4 mutations in patients who respond to anti-CTLA4 immunotherapy. *Nat Genet.* 2016 Nov; 48(11): 1327-1329.

24. Sanger N., Effenberger K.E., Rietdorf S., Van Haasteren V., Gauwerky J., Wiegratz I., Strebhardt K., Kaufmann M., Pantel K. Disseminated tumor cells in the bonemarrow of patients with ductal carcinoma in situ. *Int J Cancer.* 2011 Nov15; 129(10): 2522-6.

25. Schardt J.A., Meyer M., Hartmann C.H., Schubert F., Schmidt-Kittler O., Fuhrmann C., Polzer B., Petronio M., Eils R., Klein C.A. Genomic analysis of single cytokeratin-positive cells from bone marrow reveals early mutational events in breast cancer. *Cancer Cell.* 2005 Sep; 8(3): 227-39.

26. Schmidt-Kittler O, Ragg T, Daskalakis A, Granzow M, Abr A, Blankenstein T.J., Kaufmann M, Diebold J, Arnboldt H, Muller P, Bischoff J, Harich D, Schlimok G, Riethmuller G, Eils R, Klein C.A. From latent disseminated cells to overt metastasis: genetic analysis of systemic breast cancer progression. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003 Jun 24; 100(13): 7737-42.

27. Tran E, Robbins P.F., Lu Y.C., Prickett T.D., Gartner J.J., Jia L, Pasetto A, Zheng Z, Ray S, Grob E.M., Kriley I.R., Rosenberg S.A. T-Cell Transfer Therapy Targeting Mutant KRAS in Cancer. *N Engl J Med*. 2016 Dec 8; 375(23): 2255-2262.

28. Yang W, Bai Y, Xiong Y, Zhang J, Chen S, Zheng X, Meng X, Li L, Wang J, Xu C, Yan C, Wang L, Chang C.C., Chang T.Y., Zhang T, Zhou P, Song B.L., Liu W, Sun S.C., Liu X, Li B.L., Xu C. Potentiating the antitumour response of CD8(+) T cells by modulating cholesterol metabolism. *Nature*. 2016 Mar 31; 531(7596): 651-5.

29. Yoshida T, Oya Y, Tanaka K, Shimizu J, Horio Y, Kuroda H, Sakao Y, Hida T, Yatabe Y. Differential Crizotinib Response Duration Among ALK Fusion Variants in ALK-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol*. 2016 Oct 1; 34(28): 3383-9.

30. Zaretsky J.M., Garcia-Diaz A, Shin D.S., Escuin-Ordinas H, Hugo W, Hu-Lieskovan S, Torrejon D.Y., Abril-Rodriguez G, Sandoval S, Barthly L, Saco J, Homt Moreno B, Mezzadra R, Chmielowski B, Ruchalski K, Shintaku I.P., Sanchez P.J., Puig-Saus C, Cherry G, Seja E, Kong X, Pang J, Berent-Maoz B, Comin-Anduix B, Graeber T.G., Tumeh P.C., Schumacher T.N., Lo R.S., Ribas A. Mutations Associated with Acquired Resistance to PD-1 Blockade in Melanoma. *N Engl J Med*. 2016 Sep 1; 375(9): 819-29.

## References

1. Ambrogio C, Gómez-López G, Falcone M, Vidal A, Nadal E, Crosetto N, Blasco R.B., Fernández-Marcos P.J., Sánchez-Céspedes M, Ren X, Wang Z, Ding K, Hidalgo M, Serrano M, Villanueva A, Santamaría D, Barbacid M. Combined inhibition of DDR1 and Notch signaling is a therapeutic strategy for KRAS-driven lung adenocarcinoma. *Nat Med*. 2016 Mar; 22(3): 270-7.

2. Boudin L, Gonçalves A, Sabatier R, Moretta J, Sfumato P, Asseeva P, Livon D, Bertucci F, Extra J.M., Tarpin C, Houvenaeghel G, Lambaudie E, Tallet A, Resbeut M, Sobol H, Charafe-Jauffret E, Calmels B, Lemarie C, Bober J.M., Viens P, Eisinger F, Chabannon C. Highly favorable outcome in BRCA-mutated metastatic breast cancer patients receiving high-dose chemotherapy and autologous hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2016 Aug; 51(8): 1082-6. doi: 10.1038/bmt.2016.82. Epub 2016 Apr 4. PMID: 27042835.

3. Brasó-Maristany F, Filosto S, Catchpole S, Marlow R, Quist J, Francesch-Domenech E, Plumb D.A., Zakka L, Gazinska P, Lippardi G, Meier P, Gris-Oliver A, Cheang M.C., Perdrix-Rosell A, Shafat M, Noël E, Patel N, McEachern K, Scaltriti M, Castel P, Noor F, Buus R, Mathew S, Watkins J, Serra V, Marra P, Grigoriadis A, Tutt A.N. PIM1 kinase regulates cell death, tumor growth and chemotherapy response in triple-negative breast cancer. *Nat Med*. 2016 Nov; 22(11): 1303-1313.

4. Cho H, Du X, Rizzi J.P., Liberzon E, Chakraborty A.A., Gao W, Carvo I, Signoretti S, Bruick R.K., Josey J.A., Wallace E.M., Kaelin W.G. On-target efficacy of a HIF-2 $\alpha$  antagonist in preclinical kidney cancer models. *Nature*. 2016 Nov 3; 539(7627): 107-111.

5. Dombi E, Baldwin A, Marcus L.J., Fisher M.J., Weiss B, Kim A, Whitcomb P, Martin S, Aschbacher-Smith L.E., Rizvi T.A., Wu J, Ersbler R, Wolters P, Therrien J, Glod J, Belasco J.B., Schorry E, Brofferio A, Starosta A.J., Gillespie A, Doyle A.L., Ratner N, Widemann B.C. Activity of Selumetinib in Neurofibromatosis Type 1-Related Plexiform Neurofibromas. *N Engl J Med*. 2016 Dec 29; 375(26): 2550-2560. doi: 10.1056/NEJMoa1605943. PMID: 28029918.

6. Dorand R.D., Nibale J., Myers J.T., Barkauskas D.S., Avril S, Chirieleison S.M., Pareek T.K., Abbott D.W., Stearns D.S., Letterio J.J., Huang A.Y., Petrosiute A. Cdk5 disruption attenuates tumor PD-L1 expression and promotes antitumor immunity. *Science*. 2016 Jul 22; 353(6297): 399-403.

7. Guarnerio J, Bezzi M, Jeong J.C., Paffenholz S.V., Berry K, Naldini M.M., Lo-Coco F, Tay Y, Beck A.H., Pandolfi P.P. Oncogenic Role of Fusion-circRNAs Derived from Cancer-Associated Chromosomal Translocations. *Cell*. 2016 Apr 7; 165(2): 289-302.

8. Harper K.L., Sosa M.S., Entenberg D, Hosseini H, Cheung J.F., Nobre R, Avivar-Valderas A, Nagi C, Girnius N, Davis R.J., Farias E.F., Condeelis J, Klein C.A., Aguirre-Ghiso J.A. Mechanism of early dissemination and metastasis in Her2 (+) mammary cancer. *Nature*. 2016 Dec 14. doi: 10.1038/nature20609 (in press).

9. Hosseini H, Obradović M.M., Hoffmann M, Harper K.L., Sosa M.S., Werner-Klein M, Nanduri L.K., Werno C, Ebrl C, Maneck M, Patwary N, Haunschild G, Gužvić M, Reimelt C, Grauwogl M, Eichner N, Weber F, Hartkopf A.D., Taran F.A., Brucker S.Y., Fehm T, Rack B, Buchholz S, Spang R, Meister G, Aguirre-Ghiso J.A., Klein C.A. Early dissemination seeds metastasis in breast cancer. *Nature*. 2016 Dec 14. doi: 10.1038/nature20785 (in press).

10. Hugo W, Zaretsky J.M., Sun L, Song C, Moreno B.H., Hu-Lieskovan S, Berent-Maoz B, Pang J, Chmielowski B, Cherry G, Seja E, Lomeli S, Kong X, Kelley M.C., Sosman J.A., Johnson D.B., Ribas A, Lo R.S. Genomic and Transcriptomic Features of Response to Anti-PD-1 Therapy in Metastatic Melanoma. *Cell*. 2016 Mar 24; 165(1): 35-44.

11. International Cancer Genome Consortium PedBrain Tumor Project. Recurrent MET fusion genes represent a drug target in pediatric glioblastoma. *Nat Med*. 2016 Nov; 22(11): 1314-1320.

12. Iyevleva A.G., Imyaninov E.N. Cytotoxic and targeted therapy for hereditary cancers. *Hered Cancer Clin Pract*. 2016 Aug 23; 14(1): 17. doi: 10.1186/s13053-016-0057-2. eCollection 2016. PMID: 27555886.

13. Jiang H., Hegde S., Knolhoff B.L., Zbu Y., Herndon J.M., Meyer M.A., Nywening T.M., Hawkins W.G., Shapiro I.M., Weaver D.T., Pachter J.A., Wang-Gillam A., DeNardo D.G. Targeting focal adhesion kinase renders pancreatic cancers responsive to checkpoint immunotherapy. *Nat Med.* 2016 Aug; 22(8): 851-60.
14. Kim J., McMillan E., Kim H.S., Venkateswaran N., Makkar G., Rodriguez-Canales J., Villalobos P., Neggers J.E., Mendiratta S., Wei S., Landesman Y., Senapedis W., Baloglu E., Chow C.B., Frink R.E., Gao B., Roth M., Minna J.D., Daelemans D., Wistuba I.I., Posner B.A., Scaglioni P.P., White M.A. XPO1-dependent nuclear export is a druggable vulnerability in KRAS-mutant lung cancer. *Nature.* 2016 Oct 6; 538(7623): 114-117.
15. Klein C.A. Parallel progression of primary tumours and metastases. *Nat RevCancer.* 2009 Apr; 9(4): 302-12.
16. Leucci E., Vendramin R., Spinazzi M., Laurette P., Fiers M., Wouters J., Radaelli E., Eyckerman S., Leonelli C., Vanderheyden K., Rogiers A., Hermans E., Baatsen P., Aerts S., Amant F., Van Aelst S., van den Oord J., de Strooper B., Davidson I., Lafontaine D.L., Gevaert K., Vandesomepele J., Mestdagh P., Marine J.C. Melanoma addiction to the long non-coding RNA SAMMSON. *Nature.* 2016 Mar 24; 531(7595): 518-22.
17. Mitiushkina N.V., Imyanitov E.N. Distinct benefit from crizotinib in lung cancer patients carrying distinct ALK translocations: is fluorescent hybridization in situ testing still sufficient to guide clinical decisions? *Transl Cancer Res* 2016; 5(Suppl 7): S1393-S1395.
18. Nolan E., Vaillant F., Branstetter D., Pal B., Giner G., Whitehead L., Lok S.W., Mann G.B.; Kathleen Cuningham Foundation Consortium for Research into Familial Breast Cancer (kConFab), Robrbach K., Huang L.Y., Soriano R., Smyth G.K., Dougall W.C., Visvader J.E., Lindeman G.J. RANK ligand as a potential target for breast cancer prevention in BRCA1-mutation carriers. *Nat Med.* 2016 Aug; 22(8): 933-9.
19. Nolan E., Lindeman G.J., Visvader J.E. Out-RANKing BRCA1 in Mutation Carriers. *Cancer Res.* 2017 Feb 1; 77(3): 595-600. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-16-2025. Epub 2017 Jan 19. PMID: 28104682.
20. Pascual G., Avgustinova A., Mejetta S., Martín M., Castellanos A., Attolini C.S., Berenguer A., Prats N., Toll A., Hueto J.A., Bescós C., Di Croce L., Benitab S.A. Targeting metastasis-initiating cells through the fatty acid receptor CD36. *Nature.* 2017 Jan 5; 541(7635): 41-45.
21. Paulidis N., Khaled H., Gaafar R. A mini review on cancer of unknown primary site: A clinical puzzle for the oncologists. *J Adv Res.* 2015 May; 6(3): 375-82. doi: 10.1016/j.jare.2014.11.007. Epub 2014 Nov 21. PMID: 26257935.
22. Pritchard C.C., Mateo J., Walsh M.F., De Sarkar N., Abida W., Beltran H., Garofalo A., Gulati R., Carreira S., Eeles R., Elemento O., Rubin M.A., Robinson D., Lonigro R., Hussain M., Chinnaiyan A., Vinson J., Filipenko J., Garraway L., Taplin M.E., Al Dubayan S., Han G.C., Beightol M., Morrissey C., Nghiem B., Cheng H.H., Montgomery B., Walsh T., Casadei S., Berger M., Zhang L., Zehir A., Vijai J., Scher H.I., Sawyers C., Schultz N., Kantoff P.W., Solit D., Robson M., Van Allen E.M., Offit K., de Bono J., Nelson P.S. Inherited DNA-Repair Gene Mutations in Men with Metastatic Prostate Cancer. *N Engl J Med.* 2016 Aug 4; 375(5): 443-53.
23. Riaz N., Havel J.J., Kendall S.M., Makarov V., Walsb L.A., Desrichard A., Weinhold N., Chan T.A. Recurrent SERPINB3 and SERPINB4 mutations in patients who respond to anti-CTLA4 immunotherapy. *Nat Genet.* 2016 Nov; 48(11): 1327-1329.
24. Sanger N., Effenberger K.E., Riethdorf S., Van Haasteren V., Gauwerky J., Wiegratz I., Strebhardt K., Kaufmann M., Pantel K. Disseminated tumor cells in the bonemarrow of patients with ductal carcinoma in situ. *Int J Cancer.* 2011 Nov 15; 129(10): 2522-6.
25. Schardt J.A., Meyer M., Hartmann C.H., Schubert F., Schmidt-Kittler O., Fubrmann C., Polzer B., Petronio M., Eils R., Klein C.A. Genomic analysis of single cytokeratin-positive cells from bone marrow reveals early mutational events in breast cancer. *Cancer Cell.* 2005 Sep; 8(3): 227-39.
26. Schmidt-Kittler O., Ragg T., Daskalakis A., Granzow M., Abr A., Blankenstein T.J., Kaufmann M., Diebold J., Arnold H., Muller P., Bischoff J., Harich D., Schlömk G., Riethmüller G., Eils R., Klein C.A. From latent disseminated cells to overt metastasis: genetic analysis of systemic breast cancer progression. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003 Jun 24; 100(13): 7737-42.
27. Tran E., Robbins P.F., Lu Y.C., Prickett T.D., Gartner J.J., Jia L., Pasetto A., Zheng Z., Ray S., Groh E.M., Kriley I.R., Rosenberg S.A. T-Cell Transfer Therapy Targeting Mutant KRAS in Cancer. *N Engl J Med.* 2016 Dec 8; 375(23): 2255-2262. doi: 10.1056/NEJMoa1609279. PMID: 27959684.
28. Yang W., Bai Y., Xiong Y., Zhang J., Chen S., Zheng X., Meng X., Li L., Wang J., Xu C., Yan C., Wang L., Chang C.C., Chang T.Y., Zhang T., Zhou P., Song B.L., Liu W., Sun S.C., Liu X., Li B.L., Xu C. Potentiating the antitumour response of CD8(+) T cells by modulating cholesterol metabolism. *Nature.* 2016 Mar 31; 531(7596): 651-5.
29. Yoshida T., Oya Y., Tanaka K., Shimizu J., Horio Y., Kuroda H., Sakao Y., Hida T., Yatabe Y. Differential Crizotinib Response Duration Among ALK Fusion Variants in ALK-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol.* 2016 Oct 1; 34(28): 3383-9.
30. Zaretsky J.M., Garcia-Diaz A., Shin D.S., Escuin-Ordinas H., Hugo W., Hu-Lieskovan S., Torrejon D.Y., Abril-Rodriguez G., Sandoval S., Barthly L., Saco J., Homet Moreno B., Mezzadra R., Chmielowski B., Ruchalski K., Shintaku I.P., Sanchez P.J., Puig-Saus C., Cherry G., Seja E., Kong X., Pang J., Berent-Maoz B., Comin-Anduix B., Graeber T.G., Tumeo P.C., Schumacher T.N., Lo R.S., Ribas A. Mutations Associated with Acquired Resistance to PD-1 Blockade in Melanoma. *N Engl J Med.* 2016 Sep 1; 375(9): 819-29.