

Mide Kanseri ve Epidermal Büyüme Faktör Sinyal İletim Yolağı

Gastric Cancer and Epidermal Growth Factor Signal Transduction Pathway

Canan Cacına¹, İlhan Yaylım¹

1.İstanbul Üniversitesi DETAE Moleküler Tıp A.B.D

ÖZET

Mide kanseri dünyada yaygın olarak görülen kanser türlerinden biri olup mide kanserinin gelişim sebepleri hala tam olarak anlaşılamamış olmasına karşın beslenme şeklinin, mikrobik ve genetik faktörlerin bu süreci etkilediği öne sürülmüştür. Epidermal büyüme faktörü (EGF) hücre proliferasyonu ve hücre farklılaşmasında kritik bir rol oynayan tirozin kinaz reseptör ailesinin üyelerinden biri olan Epidermal büyüme faktör reseptörünün (EGFR) doğal ligandlarından birisidir. EGFR sinyal yolağında meydana gelen aksama veya düzensizliklerin bazı kanser tiplerinde etkili olduğu bildirilmiştir. Bu alanda yapılan çeşitli çalışmaların derlendiği mevcut makalemizin yapılacak çalışmalara yeni bir bakış açısı getirebileceği düşüncesindeyiz.

Anahtar Kelimeler: Mide Kanseri, Hücre döngüsü, Epidermal Büyüme Faktörü

SUMMARY

Gastric cancer is the more common type of cancer in the world. Although the etiology of gastric cancer is not well-understood, nutritional, microbial, and genetic factors playing important roles and multifactorial process have been suggested. Epidermal growth factor (EGF) play important roles in several signaling pathways, leading to proliferation, differentiation, and it is the natural ligand of the epidermal growth factor receptor (EGFR) which is the member of tyrosine kinase transmembrane receptor family. EGF and epidermal growth factor receptor regulate important processes in tumorigenesis, including cell survival, cell cycle progression and irregularity in the this signaling pathway is frequently observed in some of the type of cancer. We are of the opinion that current review may offer an insight into the other studies which will analyse the importance molecular aspect of this area.

Key Words: Gastric Cancer, Cell Cycle, Epidermal Growth Factor

Mide Kanseri ve Epidermal Büyüme Faktör Sinyal İletim Yolağı

Mide kanseri dünyada yaygın olarak görülen özellikle Asya, Latin Amerika ve Avrupa'nın bazı ülkelerinde sıkça rastlanan bir kanser türüdür (1). Mide kanseri gelişimi çok aşamalı ve multifaktöriyel nedenlerle tetiklenen bir süreçtir. Biyolojik ve kimyasal kanserojenlere maruz kalmak, *Helicobacter pylori*, ve Epstein-Barr gibi mikroorganizmalar gastrik epitel hücrelerinde DNA hasarı ve mutasyona yol açarak kronik gastritten intraepitelyal neoplaziye doğru ilerleyen kanser sürecini tetiklemektedirler (2,3).

Yapılan araştırmalarda onkogenlerde, tümör baskılayıcı genlerde meydana gelen çok sayıda genetik ve epigenetik değişikliklerin ayrıca genetik instabilite telomeraz aktivasyonunun mide karsinomunda önemli rol oynadığı bildirilmektedir (2,4). Mevcut bulgular ışığında intestinal ve diffüz olmak üzere iki ayrı histolojik tipte kategorize edilen bu karsinomların birbirinden farklı genetik yollarla izlediği saptanmıştır (4). İntestinal tip tümörlerin gastrit, intestinal metaplazi, displazi ve karsinoma şeklinde birbirini izleyen basamaklar halinde geliştiği diffüz tip tümörlerin ise kronik gastrit dışında herhangi bir patoloji bulgu gözlenmeksizin ortaya çıkabildiği rapor edilmiştir (5). İntestinal tip tümörlerde çeşitli onkogenlerin aşırı ekspresyonu olduğu gözlenmiştir. Özellikle C-met onkogeni intestinal tip mide kanserlerinin gelişiminde önemli rol oynamaktadır ve C-met transkriptleri özellikle hastalığın ilerlemiş evreleriyle yakından ilişkili bulunmuştur (4). Diffüz tip tümörlerde ise özellikle E-kadherin adezyon moleküllerinin ekspresyonunda azalma gözlenmektedir (6).

TP53 tümör baskılayıcı geni hücre döngüsünün önemli bir düzenleyicisidir (7,8,9). Mide kanseri de dahil olmak üzere insanlarda görülen kanserlerin yaklaşık %50'sinde TP53 geninde somatik değişikliklere rastlanmaktadır (10). Bu değişiklikler heterozite kaybı, çeşitli mutasyonlar ve gen promoter bölgesinin epigenetik olarak susturulması şeklinde gerçekleşebilmektedir (11,12).

Mide karsinomlarında genel olarak epidermal büyüme faktör reseptör 2 (HER2) ekspresyonunda artışa rastlanmaktadır (13,14,15). Son dönemlerde epidermal büyüme faktör reseptörü, vasküler endotelial büyüme faktör reseptörü, fibroblast büyüme faktör reseptörü ve hepatosit büyüme faktör reseptörü tedavide de hedef biyomoleküller olarak karşımıza çıkmaktadır (13,16,17).

Hücre Yaşam Döngüsü, Büyüme Faktörleri

Normal fizyolojik koşullar altında plazmada az miktarda bulunan büyüme faktörlerinin çok çeşitli biyolojik süreçlerde görev aldığı bilinmektedir. Kanser hücrelerinde bu faktörlerin düzenleyici mekanizmalarında bozulmalar meydana geldiği ve proliferasyon durumlarında ortamda gereğinden fazla miktarda buldukları ileri sürülmüştür (18). Hücre döngüsü, hücrenin büyüme ve farklılaşmasını DNA hasar tamir mekanizmalarının düzenlenmesini, yaralanmalara karşı doku cevabını ve kanser gibi çeşitli hastalıkları içeren karmaşık bir süreçte yer almaktadır. Bu döngü hücreyi mitoz ile sonuçlanan bir dizi özgül reaksiyona doğru yönlendiren çeşitli düzenleyici proteinleri kapsar (19).

Hücre yaşam döngüsü morfolojik olarak interfaz, (profaz, metafaz, anafaz) gibi evreleri içeren mitotik faz olarak alt bölümlere ayrılmıştır (19). İnterfaz G1,S, G2 evrelerini kapsar. G1 fazında hücre DNA sentezi için hazırlanır. S fazında ise DNA sentezi gerçekleşmektedir.G2 fazında da, hücre mitoz fazı için hazırlığa girer. G0 fazı ise bölünme potansiyeline sahip fakat bu döngüye katılmayan hücreler için geçerlidir (20).

Büyüme faktörleri ilk olarak G0 ve G1 fazındaki hücelere etki ederler. Erken G1’de bu faktörlerin ortamdaki uzaklaşmaları hücrelerin G0 fazına geri dönmeleriyle sonuçlanabilir. Fakat G1’in sonlarına doğru hücreler sınır noktasını geçtikten sonra büyüme faktörleri ortamdaki uzaklaşma bile hücreler tekrar G0 noktasına geri dönmeler ve döngüye devam ederek S fazına girerler (21). Hücre döngüsünün kontrol noktaları, biyokimyasal olarak birbirleriyle ilişkisi olmayan aşamalar arasında bağlantı kuran yolaklar olarak tanımlanmaktadır (22). DNA hasar ajanları, döngünün G1 ve G2 noktalarında kilitlenmesini tetikler. Hücreler S fazında bir duraksama gösterebilmektedir. G1 fazındaki bu duraksama DNA sentezi öncesi tamir ve bakım aşamasına olanak tanırken, G2 fazındaki alıkonma, mitozda kromozomlar ayrılmadan önceki tamir aşamalarına imkan sağlar (23).

EGF/EGFR

Epidermal büyüme faktörü (EGF) birçok doku tipinde büyüme uyarıcı bir faktördür, in vivo ve in vitro ortamda hedef dokulara bağlı olarak DNA sentezini, hücreler farklılaşmayı, epitel gelişimini, anjiogenezi, karaciğer rejenerasyonunu etkileyebilmektedir. Hücre yaşam döngüsünde kilit rol oynayan en önemli ekstraselüler moleküllerdendir (24,25,26). Ayrıca hücre proliferasyonu ve farklılaşmasında kritik bir rol oynayan tirozin kinaz reseptör ailesinin üyelerinden biri olan Epidermal büyüme faktör reseptörünün (EGFR) doğal ligandlarından bir tanesidir. EGF, Ras/Raf/MAPK veya fosfoinozitol 3 kinaz (PI3K) gibi sinyal yollarını reseptörüne bağlanarak aktive edebilmekte böylece birçok reaksiyonun tetiklenmesine neden olabilmektedir (27,28,29,30). EGFR sinyal yolağında meydana gelen aksama veya düzensizliklerin bazı kanser tiplerinde etkili olduğu ve bu sinyal mekanizmasında oluşabilen reseptör ekspresyonunda artış, genetik amplifikasyonlar ve mutasyonların tümör gelişimi ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (31,32). EGF ve EGFR arasındaki etkileşimin ve kordinasyonun intraselüler tirozin kinaz aktivitesini de etkilediği ve tümör gelişiminde rol oynadığı düşünülmektedir (33).

Epidermal büyüme faktörü ilk olarak 1959 yılında Cohen ve Levi-Montalcini tarafından bulunmuştur (34). Gen 4. kromozomun 25-27 segmentinde lokalize olmuştur. 24 ekzon ve 23 intron içermektedir. EGF 6.045 dalton ağırlığında tek monomerli bir polipeptiddir. 110 kb’lık genden sentezlenen 4.8 kb ağırlığında mRNA bölgesi tarafından kodlanmaktadır (27,28,29,30).

Fizyolojik koşullar altında plazmada sınırlı miktarda büyüme faktörü bulunmaktadır (35). EGF çeşitli vücut sıvıları ve dokularında, önemli oranda tükürük, safra, amniyotik sıvı, meme salgıları, mide ve duodenum içeriği ve idrarda görülmektedir (36,37).

Çeşitli çalışmalarda EGF’nin glial malign tümörlerde, meme, pankreas ve karaciğer kanserinde aşırı ekspresyon olduğu ve hücre bölünmesini, malign hücelere dönüşümü hızlandırarak, tümör oluşumu ve gelişiminde hayati rol oynadığı bildirilmiştir (38).

EGF, transmembran bir protein olan EGF reseptörüne bağlanmaktadır. Epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR), reseptör tirozin kinazların ErbB ailesinin (RTK) bir üyesidir. Reseptör tirozin kinazlar erbB ailesi EGFR, (ErbB-1 / HER1

olarak da bilinen), ErbB-2 (neu, HER2), ErbB-3 (HER3) ve ErbB-4 (HER4) olmak üzere çeşitli alt grupları kapsamaktadırlar (39).

EGFR geni kromozom 7p12 bölgesinde lokalize olmuştur. 28 ekzonlu yaklaşık 200 kilobaz DNA dizisinden oluşan EGFR geni tarafından kodlanmaktadır (40). Reseptörün yapısı, ligandın bağlandığı hücre dışı alan, hidrofobik transmembran alan ve tirozin kinaz aktivitesine sahip sitoplazmik alan olmak üzere üç bölgeden oluşur. Hücre dışı alan, toplamda yaklaşık 600 aminoasit sekansına sahiptir ve N-bağlı glikolizasyon bölgeleri içeren 4 farklı domainden oluşur. Ligand, domain I ve II ile etkileşim halindedir (41,42).

Moleküler düzeyde EGFR sinyal kaskadı, ligandın bağlanması, reseptör dimerizasyonu, reseptör çifti üzerindeki tirozin kinaz kalıntılarının transfosforilasyonu ve efektör moleküllerle etkileşim şeklinde ardışık reaksiyonlarla tetiklenmektedir (43, 44).

EGF'nin keşfinden sonraki çalışmalar reseptörün intrinsik kinaz aktivitesi üzerine olmuştur. EGFR, temel olarak memeli canlılarda yaşam boyu doku gelişimi ve sürdürülmesinde etkili bir role sahiptir. Ayrıca anjiyogenesis, karaciğer yenilenmesi, gastrointestinal sistem gelişimi, böbrek homeostasisi gibi farklı fizyolojik süreçlerde görev aldığı bunlara bağlı olarak EGF reseptöründeki düzensizliklerin otoimmün, kardiyovasküler hastalıklar, inflamatuvar ve sinir sistemi bozuklukları gibi farklı hastalık türleriyle de ilişkili olabileceği bilinmektedir (43,45).

EGFR çalışmalarının yoğunluk kazanmasında önemli etkenlerden biri EGFR reseptöründeki yapısal değişikliklerin ve aşırı ekspresyonun maligniteyle güçlü bir ilişkiye sahip olduğunun düşünülmesidir(46). EGFR ekspresyonundaki düzensizliklerin ve reseptörün hiperaktivasyonunun hücre transformasyonuna ve sinyal yollarında çeşitli aksaklıklara neden olduğu saptanmıştır. EGFR tarafından aktive edilen iki önemli sinyal yolağı fosfatidilinositol 3-kinaz-(PI3K) ve mitojen-aktive edilmiş protein kinaz (MAPK) yolağı tümör hücre sağkalımını ve hücre çoğalmasını teşvik eder (47).

Çeşitli kanser türleri EGFR genindeki değişiklikler ile karakterize edilmekte ve bu değişikliklerin zayıf hasta prognozuyla ilişkili olduğu bildirilmektedir. Bazı toplumlarda daha yüksek oranda olmakla birlikte küçük hücreli dışı akciğer kanserleri vakalarının EGFR mutasyonu taşıdığı bildirilmektedir.

Bu mutasyonlar ekzon insersiyonu, delesyonu ya da nokta mutasyonları şeklinde olabilmektedir. Tirozin kinaz domaininin kodlandığı ekzon 18-21 boyunca nokta mutasyonları ve küçük çerçeve delesyonların olduğu saptanmıştır (48,49,50).

EGFR, kanser hücrelerinin büyümesinin ve kanserin gelişiminin inhibe edilmesinde farmakolojik hedef haline gelmiş bu alanda merkezi bir rol üstlenmiştir. EGFR hedefli ilaçlar, reseptör odaklı insan monoklonal antikorları ve EGFR tirozin kinaz domain inhibitörleri olmak üzere iki kategoriye ayrılmaktadır. FDA tarafından onaylı ajanların metastatik kolorektal kanser ve baş-boyun kanserlerinin tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. Bu antikorlar EGFR'nin hücre dışı alandaki domainine bağlanarak ligandın bağlanmasını ve reseptörün aktivasyonunu engellemektedir. Bu antikorlar ayrıca mutant reseptörün hücre dışı alandaki küçük domainini hedef olarak reseptör dimerizasyonu ve sonrasında aktivasyonunu inhibe etmektedir. Örneğin Cetuximab, EGFR'nin hücre dışı alanını hedefleyen kimerik monoklonal antikorlardan biridir. EGF ve TGF α nın reseptöre bağlanmasını bloke ederek reseptörün dimerize olmasını engeller (51,52). Diğer grup ilaçlar ise reseptörün ATP-bağlayan domainini hedefleyerek, tirozin kinaz kalıntılarının fosforilasyonunu engelleyerek etki göstermektedir (53).

Araştırmamız sonucunda EGFR'yi hedefleyen aday ilaçların mide kanser tedavisindeki rolünün her geçen gün biraz daha artmakta olduğu ve bu alanda yeni tedavi protokolleri geliştirilmeye çalışıldığı kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

- 1- Parkin DM, Pisani P, Ferlay J.().Global cancer statistics,CA Cancer J Clin. 1999; 49:33–64.
- 2- Tahara E.Genetic pathways of two types of gastric cancer.IARC Sci Publ, 2004; 153:27-49.
- 3- Murai Y, Zheng HC, Abdel Aziz HO, Mei H, Kutsuna T, Nakanishi Y, et al. High JC virus load in gastric cancer and adjacent non-cancerous mucosa.Cancer Sci.2007; 98:25-31.
4. Smith MG, Hold LG, Tahara E et al. Cellular and molecular aspects of gastric cancer. World J Gastroenterol 2006; 12:2979-2990.
- 5-Tahara E. Abnormal growth factor/cytokine network in gastric cancer.Cancer Microenviron. 2008; 1(1);85-91.
- 6- Barber M, Murrell A, Ito Y, Maia AT, Hyland S, Oliveira C, et al. Mechanisms and sequelae of E-cadherin silencing in hereditary diffuse gastric cancer. J Pathol. 2008;216:295–306.
- 7- Sarbia M, Porschen R, Borchard F, Horstmann O, Willirs R, Gobbert HE. p53 protein expression and prognosis in squamous cell carcinoma of the esophagus. Cancer. 1994;74:2218–23.
- 8-Busuttill RA., Zapparoli GV., Haupt S., Fennell C., Wong SQ., Pang JM., Takeno EA., Mitchell C., Di Costanzo N., Fox S., Haupt Y., Dobrovic A., Boussioutas A. Role of p53 in the progression of gastric cancer. Oncotarget. 2014 Dec 15;5(23):12016-26.
- 9-Speidel D. The role of DNA damage responses in p53 biology. Arch Toxicol. 2015 Apr;89(4):501-17.
- 10-Szymanska K, Hainaut P. TP53 and mutations in human cancer. Acta Biochim Pol. 2003;50:231–8.
- 11-Fenoglio-Preiser CM, Wang J, Stemmermann GN, Noffsinger A. TP53 and gastric carcinoma: a review. Hum Mutat. 2003;21:258–70.
- 12-Hurt EM, Thomas SB, Peng B, Farrar WL. Reversal of p53 epigenetic silencing in multiple myeloma permits apoptosis by a p53 activator. Cancer Biol Ther. 2006;5:1154–60.
- 13- Gravalos C, Jimeno A. HER2 in gastric cancer: A new prognostic factor and a novel therapeutic target.Ann Oncol. 2008;19:1523–9.
- 14- Durães C, Almeida GM, Seruca R, Oliveira C, Carneiro F. Biomarkers for gastric cancer: Prognostic, predictive or targets of therapy? Virchows Arch. 2014;464:367–78.
- 15- Graziano F, Galluccio N, Lorenzini P, Ruzzo A, Canestrari E, D’Emidio S, et al. Genetic activation of the MET pathway and prognosis of patients with high-risk, radically resected gastric cancer. J Clin Oncol.2011;29:4789–95.
- 16- Woo J, Cohen SA, Grim JE.Targeted therapy in gastroesophageal cancers: past, present and future. Gastroenterol Rep (Oxf). 2015 Oct 27. pii: gov052.
- 17- Carcas LP. Gastric cancer review. J Carcinog. 2014 Dec 19;13:14.
- 18- Pardee A. B. G1 events and regulation of cell proliferation. Science 1989; 246, 603–608.
- 19- Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD: Molecular Biology of the Cell. Garland, New York, NY, 1983.
- 20- Schafer K.A , Chazy NY. Wyeth-Ayerst Research The Cell Cycle Vet Path 1998; 01 35:461-478 .
- 21-Zetterberg A, Larsson O, Wiman KG: What is the restriction point? Curr Opin Cell Biol 1995;7:835-842.
- 22-Elledge SJ: Cell cycle checkpoints: preventing an identity crisis. Science 1996; 274:1664-1672.
- 23-Maitay A, McKenna WG, Muschel RJ: The molecular basis for cell cycle delays following ionizing radiation: a review. Radiother Oncol 1994;31:1-13.
- 24 - Cohen S., J. Biol Chem. 1962; 237: 1555.
- 25 - Das, M. et al. (1992) Human Cytokines. Blackwell Scientific Pub., Boston, p.365.
- 26- Xian CJ, Li L, Deng YS, Zhao SP, Zhou XF. (2001).Lack of effects of transforming growth factor-alpha gene knockout on peripheral nerve regeneration may result from compensatory mechanisms. Exp Neurol,172(1),182-8.
- 27- Salomon DS, Brandt R, Ciardiello F, Normanno N.(1995).Epidermal growth factor-related peptides and their receptors in human malignancies.Crit Rev Oncol Hematol,19,183–232.
- 28-FisherDA, Lakshmanan J.(1990).Metabolism and effects of epidermal growth factor and related growth factors in mammals.Endocr. Rev,11,418–442.
- 29-Groenen LC, Nice EC, Burgess AW.(1994).Structure-function relationships for the EGF/TGF-alpha family of mitogens.Growth Factors,11,235–257.
- 30-Jorissen RN, Walker F, Pouliot N, Garrett TP, Ward CW, Burgess AW.(2003).Epidermal growth factor receptor:mechanisms of activation and signalling.ExpCellRes,84,31–53.

- 31- Yarden Y, Sliwkowski MX. (2001). Untangling the ErbB signalling network. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2, 127-37.
- 32- Lockhart C, Berlin J D. (2005). The epidermal growth factor receptor as a target for colorectal cancer therapy. *Semin Oncol*, 32, 52-60.
- 33- Gleave ME, Hsieh JT, Wu HC, Hong SJ, Zhou HE, Guthrie PD, et al. (1993). Epidermal growth factor receptor-mediated autocrine and paracrine stimulation of human transitional cell carcinoma. *Cancer Res*, 53, 530-07
- 34- Levi-Montalcini R. et al. *Ann. NY Acad. Sci.*, 1960; 85:324.
- 35- Oka, Y. et al. *J Clin. Invest.* 1983; 72:249.
- 36- Massagué, J. *J. Biol. Chem.* 1990; 265(35): 2139
- 37- Carpenter, G. et al. *Peptide Growth Factors and Their Receptors* I, M.B Sporn eds. Springer-Verlag, New York 1990p. 69
- 38- Zhu Y, Parada LF. The molecular and genetic basis of neurological tumours. *Nat Rev Cancer* 2002; 2(8):616-26.
- 39- Yarden Y. The EGFR family and its ligands in human cancer. Signaling mechanisms and therapeutic opportunities. *Eur J Cancer*. 2001 Sep; 37 Suppl 4: S3-8. Review.
- 40- Reiter JL, Threadgill DW, Eley GD, Strunk KE, Danielsen AJ, Sinclair CS, Pearsall RS, Green PJ, Yee D, Lampland AL, Balasubramaniam S, Crossley TD, Magnuson TR, James CD, Mailhe NJ. Comparative genomic sequence analysis and isolation of human and mouse alternative EGFR transcripts encoding truncated receptor isoforms. *Genomics*. 2001 Jan 1; 71(1): 1-20.
- 41- Normanno N, De Luca A, Bianco C, Strizzi L, Mancino M, Maiello MR, Carotenuto A, De Feo G, Caponigro F, Salomon DS. Epidermal growth factor receptor (EGFR) signaling in cancer. *Gene*. 2006 Jan 17; 366(1): 2-16.
- 42- Ferguson KM, Berger MB, Mendrola JM, Cho HS, Leahy DJ, Lemmon MA. EGF activates its receptor by removing interactions that autoinhibit ectodomain dimerization. *Mol Cell*. 2003 Feb; 11(2): 507-17
- 43- Roskoski R Jr. The ErbB/HER family of protein-tyrosine kinases and cancer. *Pharmacol Res*. 2014 Jan; 79: 34-74. doi: 10.1016/j.phrs.2013.11.002. Epub 2013 Nov 20. Review.
- 44- Roskoski R Jr. ErbB/HER protein-tyrosine kinases: Structures and small molecule inhibitors. *Pharmacol Res*. 2014 Sep; 87: 42-59.
- 45- Ceresa BP, Peterson JL. Cell and molecular biology of epidermal growth factor receptor. *Int Rev Cell Mol Biol*. 2014; 313: 145-78. doi: 10.1016/B978-0-12-800177-6.00005-0. Review.
- 46- Uberall I, Kolár Z, Trojanec R, Berkovcová J, Hajdúch M. The status and role of ErbB receptors in human cancer. *Exp Mol Pathol*. 2008 Apr; 84(2): 79-89.
- 47- Jorissen RN, Walker F, Pouliot N, Garrett TP, Ward CW, Burgess AW. Epidermal growth factor receptor: mechanisms of activation and signalling. *Exp Cell Res*. 2003 Mar 10; 284(1): 31-53. Review.
- 48- Naderi S, Ghorra C, Haddad F, Kourie HR, Rassy M, El Karak F, Ghosn M, Abadjian G, Kattan J. EGFR mutation status in Middle Eastern patients with non-squamous non-small cell lung carcinoma: A single institution experience. *Cancer Epidemiol*. 2015 Sep 8.
- 49- Pao W, Miller V, Zakowski M, Doherty J, Politi K, Sarkaria I, Singh B, Heelan R, Rusch V, Fulton L, Mardis E, Kupfer D, Wilson R, Kris M, Varmus H. EGF receptor gene mutations are common in lung cancers from "never smokers" and are associated with sensitivity of tumors to gefitinib and erlotinib. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004 Sep 7; 101(36): 13306-11.
- 50- Peng L, Song ZG, Jiao SC. Efficacy analysis of tyrosine kinase inhibitors on rare non-small cell lung cancer patients harboring complex EGFR mutations. *SciRep*. 2014 Aug 18; 4: 6104.
- 51- Kito Y, Yamazaki K. [Targeted therapies for metastatic colorectal cancer]. *Nihon Rinsho*. 2015 Aug; 73(8): 1384-90. Review.
- 52- Li S, Schmitz KR, Jeffrey PD, Wiltzius JJ, Kussie P, Ferguson KM. Structural basis for inhibition of the epidermal growth factor receptor by cetuximab. *Cancer Cell*. 2005 Apr; 7(4): 301-11.
- 53- Paul MK, Mukhopadhyay AK. Tyrosine kinase - Role and significance in Cancer. *Int J Med Sci*. 2004; 1(2): 101-115. Epub 2004 Jun 1.