

# 琉球大学学術リポジトリ

## [総説]神経膠芽腫に対するAkt を標的とした分子標的療法

メタデータ	言語: 出版者: 琉球医学会 公開日: 2015-12-25 キーワード (Ja): キーワード (En): AMPA, Akt, glioblastoma, PI3K, platelet-derived growth factor 作成者: 渡邊, 孝, 菅原, 健一, 長嶺, 英樹, 石内, 勝吾 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002016867">http://hdl.handle.net/20.500.12000/0002016867</a>

## 神経膠芽腫に対する Akt を標的とした分子標的療法

渡邊 孝, 菅原健一, 長嶺英樹, 石内勝吾

琉球大学医学部 脳神経外科

### Targeted Molecular Therapy Against the Multiple Akt-mediated Signaling Pathways in Glioblastoma

Takashi Watanabe, MD, PhD., Kenichi Sugawara, MD, PhD.  
Hideki Nagamine, MD and Shogo Ishiuchi, MD, PhD.

*Department of Neurosurgery, Graduate School of Medicine,  
University of the Ryukyus, Okinawa, Japan*

#### ABSTRACT

Glioblastoma multiforme is the most malignant tumor occurring in the central nervous system and is incurable by current therapeutic strategies. The serine/threonine-specific protein kinase, Akt, is frequently dysregulated and affects cell survival and proliferation in many human cancers, including glioblastoma. Inhibition of Akt phosphorylation has demonstrated therapeutic potential against glioblastoma. Many inhibitors of the PI3K-Akt signaling pathway and  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate (AMPA)-Akt signaling pathway are in clinical use and have demonstrated preliminary activity against various tumor types. This review describes the limitations of therapy against glioblastoma targeting single dysregulated pathways because of the presence of diverse signaling pathways that regulate the coactivation of multiple tyrosine kinases in most malignant gliomas, and the requirement for combined approaches targeting the multiple Akt-mediated signaling pathways based on the findings of clinical trials and earlier investigations. *Ryukyu Med. J., 33 (1~3) 1~8, 2014*

Key words: AMPA, Akt, glioblastoma, PI3K, platelet-derived growth factor

#### はじめに

神経膠芽腫は、中枢神経系で最も悪性度が高く、予後不良な疾患である。極めて高い増殖能と浸潤能により、開頭術で完全に摘出することが困難であるため、放射線治療、化学療法を組み合わせた集学的治療が必要であるが、現在の標準治療では治癒困難である<sup>1-3)</sup>。

拡大局所放射線治療 (60Gy/30Fr) と Temozolomide (TMZ) 75mg/m<sup>2</sup>・42 間投与を行った後、TMZ 150-200mg/m<sup>2</sup>・5 日間を 28 日周期で投与し、6 周期投与する治療法 (Stupp regimen) を用いた第三相臨

床試験において、全生存期間中央値 (median overall survival: mOS) が放射線治療単独の 12.1 ヶ月と比較し、放射線治療・TMZ 併用投与で 14.6 ヶ月と有意な延長を示した。このことから、この regimen が、現在の神経膠芽腫に対する標準的治療法となっているが、2 年生存率 27.2% 及び 5 年生存率 9.8% と低率であり、依然として十分な効果が得られていないのが現状である<sup>2)</sup>。

その後の研究で、DNA 修復酵素である O6-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) の発現率が高いと、TMZ の効果が減弱することが判明した<sup>4)</sup>。これに対し、Interferon (INF)- $\beta$  が、腫瘍抑制

遺伝子である p53 を介して MGMT の発現を抑制する効果を有することが示された<sup>5)</sup>。Stupp regimen に INF- $\beta$  300 万単位を併用投与した臨床試験 (INTEGRA study) が本邦において行われ、明らかな有害事象の増加がなく、mOS が 17.1 ヶ月と延長し、12 ヶ月の無増悪生存期間 (progression free survival: PFS) が 50% と治療効果の改善がみられた<sup>6)</sup>。

本邦でも、2013 年より Bevacizumab (アバスタン<sup>®</sup>) が悪性神経膠腫に対して保険適応となった。初発神経膠芽腫に対する bevacizumab の効果を検証する大規模第三相試験 (AVA glioblastoma 試験と、RTOG 0825 試験) は、標準治療 (Stupp regimen) に Bevacizumab を追加投与し、プラセボと比較した二重盲検無作為化比較検討試験である。その結果において、PFS は、bevacizumab 投与群で AVA glioblastoma 試験 10.6 ヶ月、RTOG 0825 試験 10.7 ヶ月であり、プラセボ群と比較して 3-4 ヶ月延長したが、mOS は、Bevacizumab 投与群で、AVA glioblastoma 試験 16.8 ヶ月、RTOG 0825 試験 15.7 ヶ月であり、どちらもプラセボ群と比べて有意な延長効果は得られなかった<sup>7,8)</sup>。

以上のように、現在本邦で、神経膠芽腫、悪性神経膠腫に対して主に用いられている化学療法薬は、TMZ (INF- $\beta$  併用) と Bevacizumab であり、これまでの治療法の進歩により、OS, PFS の延長が認められてきたが、mOS は、15-17 ヶ月と限定的であった。このため、新たな治療薬や治療方法の開発が切望されており、その中で分子標的療法が注目されている。複数のシグナル伝達経路の中で、Akt を介するシグナル伝達経路が重要視されてきており、他の固形癌に対しても、このシグナル伝達経路を標的とした治療法が盛んに開発されている。本稿では、認容性が良好で、様々な悪性腫瘍に対して臨床的に使用可能となっている Akt を標的とした分子標的療法の神経膠芽腫に対する臨床応用について概説する。

## Akt を介する分子標的療法

Akt は、Plekstrin Homology (PH) ドメインを有するセリン/スレオニンキナーゼであり、腫瘍細胞の生存、増殖、分化、遊走、血管新生において重要な役割を果たしている。近年の研究から、神経膠芽腫の生存、増殖、遊走、血管新生に Akt の活性化が関与していることが判明し、治療の標的として注目を集めてきた<sup>3,9-15)</sup>。Akt は、PI3K-Akt シグナル伝達経路の中心に位置し、Thr-308 と Ser-473 でリン酸化されて活性化され、抗アポトーシス活性による腫瘍細胞の生存や増殖に関与するといわれている<sup>11,16-21)</sup>。神経膠芽腫細胞では、epidermal growth factor receptor (EGFR), platelet-derived growth factor receptor (PDG-

FR) といったチロシンキナーゼ受容体の増幅による PI3K-Akt シグナル伝達経路の活性化が認められている<sup>22-26)</sup>。また、神経膠芽腫には vascular endothelial growth factor (VEGF) が過剰発現し、腫瘍の血管新生や悪性度、予後に関与しており、VEGF に対する抗体が神経膠芽腫の腫瘍形成を抑制することが判明している<sup>27)</sup>。神経膠芽腫細胞は、主に GluR1 と GluR4 サブユニットで構成されるカルシウム透過型  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate (AMPA) 型グルタミン酸受容体を発現している<sup>28,29)</sup>。この受容体を介する細胞内カルシウム濃度の上昇による Ser-473 での Akt のリン酸化が神経膠芽腫の増殖、浸潤に関与することが解明され、このシグナル伝達経路は、PI3K-Akt シグナル伝達経路とは独立していることが判明した<sup>9,30)</sup>。Phosphatase and tensin homolog Deleted from Chromosome 10 (PTEN) を欠失した神経膠芽腫では、Sonic Hedgehog (shh) シグナル伝達経路が活性化され、p70 S6 kinase (S6K) の活性化を介して、腫瘍細胞の生存や増殖に関与していることが明らかとなっている<sup>31)</sup>。

神経膠芽腫は、腫瘍増殖や血管新生に関する複数のシグナル伝達経路を有し、相互に活性化していることが知られており、単剤での抗腫瘍効果が制限される原因と考えられている<sup>3,32)</sup>。このため、複数のシグナル伝達経路を抑制する多剤併用療法が重要視されている<sup>32)</sup>。Akt を中心としたシグナル伝達経路も複数存在し、相互に密接に関連しているため、複数のシグナル伝達経路を標的とした多剤併用分子標的療法が必要と考えられる (Fig 1)。近年、これらのシグナル伝達経路を標的とした分子標的薬が次々に開発され、様々な固形癌に対する臨床試験が行われて実用化されている。認容性が良好である分子標的療法薬は、将来的に神経膠芽腫に臨床応用が可能となる可能性があり、これらの効果を検証する研究が重要である。

## 臨床試験における単剤投与の限界

### AMPA 受容体拮抗薬

カルシウム透過型 AMPA 受容体拮抗薬である 2,3-dihydroxy-6-nitro-7-sulfamoyl-benzo-(F)-quinoxaline (NBQX) は、Ser-473 での Akt のリン酸化を抑制し、神経膠芽腫細胞株の増殖と遊走を抑制することが判明している。しかし、NBQX は、静脈内投与を行うと腎尿細管で凝結するため現実的ではない。[2,3-dioxo-7-(1H-imidazol-1-yl)-6-nitro-1,2,3,4-tetrahydroquinoxalin-1-yl]-acetic acid monohydrate (YM872) は、経口摂取が可能であり、水に溶解性であり、生体に投与するという点では現実的である<sup>33)</sup>。Talampanel は、認容性が良好で、経口摂取が可能で、

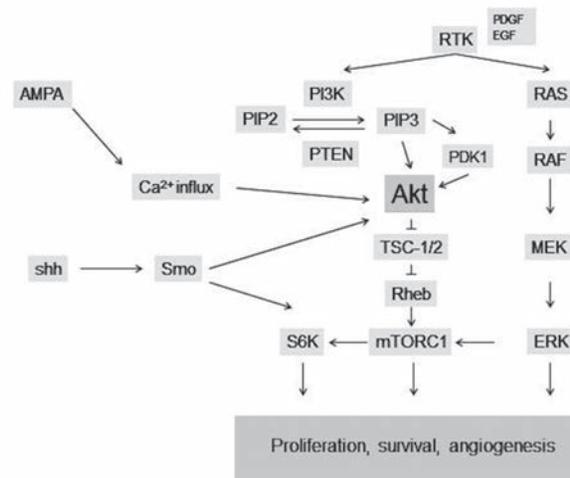


Fig. 1 Schematic representation of the Akt signaling pathway and its main components

EGF, epidermal growth factor; PDGF, platelet-derived growth factor; RTK, receptor tyrosine kinase; RAS, rat sarcoma oncogene; RAF, murine sarcoma viral oncogene; MEK, mitogen-activated protein kinase; ERK, extracellular signal-related kinase; mTORC1, mammalian target of rapamycin complex 1; PI3K, phosphatidylinositol 3-kinase; PIP2, phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate; PIP3, phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate; PDK1, 3-phosphoinositide dependent protein kinase-1; PTEN, phosphatase and tensin homolog; TSC-1/2, tuberous sclerosis complex-1/2; Rheb, RAS homologue enriched in brain; S6K, S6 kinase; AMPA,  $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate; shh, sonic hedgehog; Smo, smoothened.

非競合性のカルシウム透過型 AMPA 受容体拮抗薬で、中枢神経への移行性も優れている薬剤であり、臨床試験で使用されている<sup>34)</sup>。多施設共同研究による第二相臨床試験では、新規神経膠芽腫症例（年齢 18 歳から 70 歳）60 例に対して、Stupp regimen に talampanel (25mg × 3 / 日から 75mg × 3 / 日へ 1 週間ごとに増量) を連日併用投与した結果、mOS 20.3 ヶ月、2 年生存率 41.7% であり、Stupp regimen による標準治療の結果 (mOS 14.6 ヶ月、2 年生存期間 26.5%) と比較して、有害事象を増加させることなく、生存期間を延長させた<sup>35)</sup>。しかし、再発悪性神経膠腫（神経膠芽腫 22 例、退形成性神経膠腫 8 例）に対し、talampanel (25-75mg × 3 / 日) を連日単剤投与した第二相臨床試験では、partial response が膠芽腫 1 例 (5%) のみであり、6 ヶ月の PFS は、膠芽腫 4.6%、退形成性神経膠腫 0%、median PFS は、膠芽腫 5.9 週、退形成性神経膠腫 8.9 週であった。倦怠感、めまい、失調といった有害事象は軽度であったが、有意な抗腫瘍効果を認めておらず、多数のシグナル伝達経路を有する悪性神経膠腫に対する単剤投与での治療の困難さを示している<sup>36)</sup>。

#### PDGF 受容体拮抗薬

メシル酸イマチニブ (Imatinib mesylate) は、Bcl-

Abl, PDGF $\alpha$  受容体, PDGF $\beta$  受容体, c-kit チロシンキナーゼ活性を阻害する抗腫瘍薬である。慢性骨髄性白血病と消化管間質腫瘍で臨床的に使用されており<sup>37-39)</sup>、神経膠芽腫に対する治療薬としても期待された。しかし、55 例の再発悪性神経膠芽腫（膠芽腫 34 例、退形成性神経膠腫 21 例）に対してメシル酸イマチニブ 600 ~ 800mg / 日を単剤投与した第二相臨床試験では、6 ヶ月 PFS は、膠芽腫 3%、退形成性神経膠腫 10% であり、5 例で腫瘍内出血が認められた<sup>40)</sup>。また、112 例の再発悪性神経膠芽腫（膠芽腫 51 例、退形成性星細胞腫 25 例、退形成性乏突起膠腫 36 例）に対してメシル酸イマチニブ 600 ~ 800mg / 日を単剤投与した第二相臨床試験では、6 ヶ月 PFS は、膠芽腫 16%、退形成性星細胞腫 9%、退形成性乏突起膠腫 4% であり、いずれの臨床試験においても単剤投与の効果は低く限定的であるという結果に終わった。

#### 抗 VEGF 受容体抗体

再発膠芽腫に対する bevacizumab 単剤投与 (10mg/kg, 2 ~ 3 週間毎) を行った第二相臨床試験では、Bevacizumab 投与により、脳浮腫の軽減とステロイド投与量を減量できるという点が有利であったが、6 ヶ月の PFS: 25-42.6%, median PFS: 2.7 ~ 4.2 ヶ月、mOS: 6.4 ~ 10.5 ヶ月であり、Bevacizumab の単剤

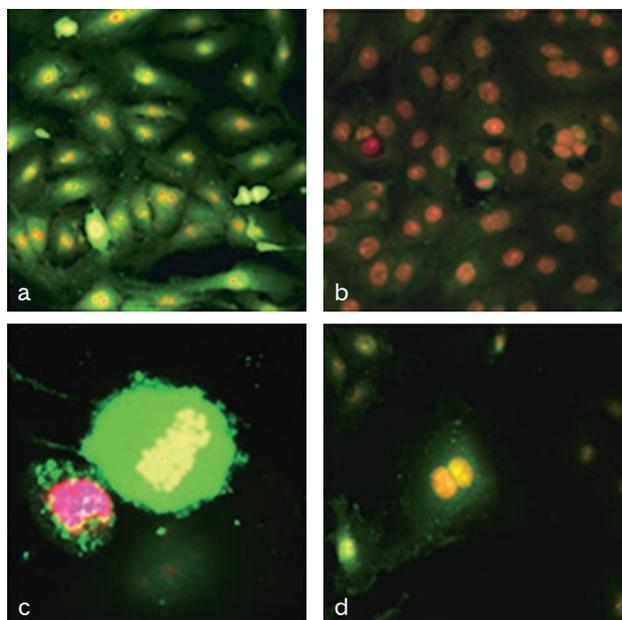


Fig. 2

**Fig. 2 Effect of combination therapy targeting the AMPA-Akt signaling pathway and PI3K-Akt signaling pathway in vitro**

Human glioblastoma cells were treated with PBS (control; left column), or calcium-permeable AMPA receptor antagonist (YM872 at 20  $\mu$ M) and PDGF receptor antagonist (AG1296 at 20  $\mu$ M) (right column). Immunofluorescence staining is shown for phosphorylated Akt in green, for Ki-67 in blue, and for propidium iodide in red.

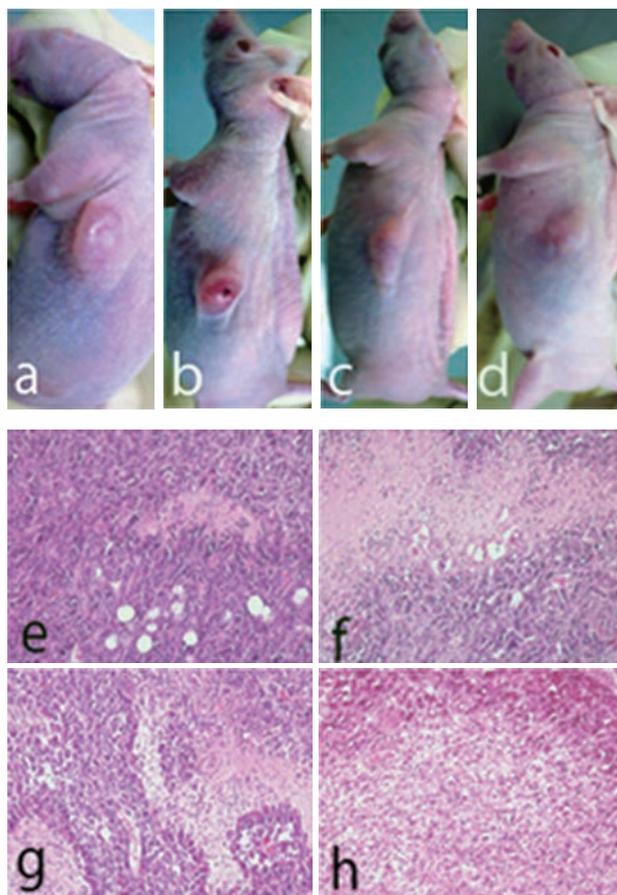


Fig. 3

**Fig. 3 Effect of combination therapy targeting the AMPA-Akt signaling pathway and PI3K-Akt signaling pathway in vivo**

a-d: Glioblastoma cell suspensions were injected subcutaneously into the flank of nude mice. Inhibition of tumor growth was observed after daily intraperitoneal injection of PBS (control; a), calcium-permeable AMPA receptor antagonist (YM872 at 25 mg/kg; b), PDGF receptor antagonist (AG1296 at 1.25 mg/kg; c), or the combination of both antagonists (d) for 2 weeks.

e-h: Photomicrographs of sections of tumor tissue taken 36 days after inoculation, treated with PBS (e), 25 mg/kg YM872 (f), 1.25 mg/kg AG1296 (g), and the combination of both agents (h). Extensive necrosis in the tumor tissue was found after treatment with YM872, AG1296, and the combination of both agents. Hematoxylin and eosin stain, original magnification:  $\times 200$ .

投与による効果は限定的であった<sup>41-43</sup>。これまで臨床試験で使用されてきた悪性神経膠腫に対する分子標的治療薬は、認容性は良好であったが、単剤投与での効果はどれも限定的なものであった。

#### 多剤併用化学療法の効果

AMPA-Akt シグナル伝達経路と PI3K-Akt シグナル伝達経路の両シグナル伝達経路を標的とし

た我々の最新の研究において、神経膠芽腫細胞株 (CGNH-89, U87, HKG) にカルシウム透過型 AMPA 受容体拮抗薬である YM872 と PDGF 受容体拮抗薬である AG1296 を併用投与した場合、AG1296 投与群、YM872 投与群と併用投与群では、control と比較し、腫瘍増殖及び Akt のリン酸化ともに有意に抑制された。この効果は正常マウス海馬神経細胞では認められず、正常神経細胞を阻害することなく、腫瘍増殖を抑

制することが判明した (Fig 2). In vitro では, この抑制効果には, 単独投与と併用投与の間での有意差が認められなかったが, ヒト神経膠芽腫をヌードマウスに移植した異種移植モデルを用いた解析では, control と比較し, AG1296 投与群, YM872 投与群, 併用群で腫瘍体積の減少, 壊死巣の増加及び細胞密度の減少が認められた (Fig.3). また, Ki-67 標識率及び CD34 で標識した腫瘍血管数は, 各治療群で有意に減少し, 併用投与における相乗効果が認められた. このことから, 異種移植モデルにおいて併用投与群の抗腫瘍効果が増強したのは, vascular niche の抑制によるものと考えられた<sup>44)</sup>. PDGF 受容体拮抗薬である Imatinib mesylate や AMPA 受容体拮抗薬である Talampanel は, 単独投与での効果は限定的であるが, 併用投与による効果が期待される. また, PTEN が欠失して PI3K シグナル伝達経路が活性化された神経膠芽腫細胞に, 経口 PI3K 阻害薬である BKM120(Buparlisib) と Smoothened (Smo) の阻害薬で Sonic Hedgehog (shh) シグナル伝達経路を抑制する LDE225 (sonidegib) を併用投与した最近の研究では, 併用投与により腫瘍の増殖抑制とアポトーシス誘導に相乗効果が認められた<sup>31)</sup>. BKM120 は, 手術不能局所進行性または転移性乳癌に対する臨床試験に使用されており, LDE225 は, 基底細胞癌や, 再発・難治性髄芽腫に対する臨床試験に使用されているため, 今後, 神経膠芽腫への臨床応用が期待される薬剤である.

## まとめ

Akt を標的とする分子標的療薬が開発され, 多くの悪性腫瘍の治療薬として, 認容性が良好な治療薬が登場し, 臨床応用されるようになってきており, 神経膠芽腫への応用が期待される. 一方で, 神経膠芽腫は, 複雑で多様なシグナル伝達経路を有し, 単剤投与の限界も確認されてきているのが現状である. 神経膠芽腫に対する治療成績向上のためには, 複数のシグナル伝達経路を抑制する多剤併用分子標的療法の効果を検証する preclinical study が重要であると考えられる.

## 謝辞

執筆の機会を与您いただきました前琉球医学会長上里 博先生に謝意を表します.

## REFERENCES

1) Maher EA, Furnari FB, Bachoo RM, et al.

Malignant glioma: genetics and biology of a grave matter. *Genes Dev.* 15:1311-1333, 2001.

2) Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med.* 352:987-996, 2005.

3) Wen PY, Kesari S. Malignant gliomas in adults. *N Engl J Med.* 359:492-507, 2008.

4) Hegi ME, Diserens AC, Gorlia T, et al. MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. *N Engl J Med.* 352:997-1003, 2005.

5) Natsume A, Ishii D, Wakabayashi T, et al. IFN-beta down-regulates the expression of DNA repair gene MGMT and sensitizes resistant glioma cells to temozolomide. *Cancer Res.* 65:7573-7579, 2005.

6) Wakabayashi T, Kayama T, Nishikawa R, et al. A multicenter phase I trial of combination therapy with interferon-beta and temozolomide for high-grade gliomas (INTEGRA study): the final report. *J Neurooncol.* 104:573-577, 2011.

7) Chinot OL, Wick W, Mason W, et al. Bevacizumab plus radiotherapy-temozolomide for newly diagnosed glioblastoma. *N Engl J Med.* 370:709-722, 2014.

8) Gilbert MR, Dignam JJ, Armstrong TS, et al. A randomized trial of bevacizumab for newly diagnosed glioblastoma. *N Engl J Med.* 370:699-708, 2014.

9) Ishiuchi S, Yoshida Y, Sugawara K, et al. Ca<sup>2+</sup>-permeable AMPA receptors regulate growth of human glioblastoma via Akt activation. *J Neurosci.* 27:7987-8001, 2007.

10) Choe G, Horvath S, Cloughesy TF, et al. Analysis of the phosphatidylinositol 3'-kinase signaling pathway in glioblastoma patients in vivo. *Cancer Res.* 63:2742-2746, 2003.

11) Datta SR, Brunet A, Greenberg ME. Cellular survival: a play in three Akts. *Genes Dev.* 13:2905-2927, 1999.

12) Datta SR, Dudek H, Tao X, et al. Akt phosphorylation of BAD couples survival signals to the cell-intrinsic death machinery. *Cell.* 91:231-241, 1997.

13) Holland EC. Gliomagenesis: genetic alterations and mouse models. *Nat Rev Genet.* 2:120-129, 2001.

14) Holland EC, Celestino J, Dai C, Schaefer L, Sawaya RE, Fuller GN. Combined activation of

- Ras and Akt in neural progenitors induces glioblastoma formation in mice. *Nat Genet.* 25:55-57, 2000.
- 15) Bochet P, Audinat E, Lambolez B, et al. Subunit composition at the single-cell level explains functional properties of a glutamate-gated channel. *Neuron.* 12:383-388, 1994.
  - 16) Cully M, You H, Levine AJ, Mak TW. Beyond PTEN mutations: the PI3K pathway as an integrator of multiple inputs during tumorigenesis. *Nat Rev Cancer.* 6:184-192, 2006.
  - 17) Engelman JA, Luo J, Cantley LC. The evolution of phosphatidylinositol 3-kinases as regulators of growth and metabolism. *Nat Rev Genet.* 7:606-619, 2006.
  - 18) Alessi DR, Cohen P. Mechanism of activation and function of protein kinase B. *Curr Opin Genet Dev.* 8:55-62, 1998.
  - 19) Williams MR, Arthur JS, Balendran A, et al. The role of 3-phosphoinositide-dependent protein kinase 1 in activating AGC kinases defined in embryonic stem cells. *Curr Biol.* 10:439-448, 2000.
  - 20) Maehama T, Dixon JE. The tumor suppressor, PTEN/MMAC1, dephosphorylates the lipid second messenger, phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate. *J Biol Chem.* 273:13375-13378, 1998.
  - 21) Blume-Jensen P, Hunter T. Oncogenic kinase signalling. *Nature.* 411:355-365, 2001.
  - 22) Joensuu H, Pupa M, Sihto H, Tynninen O, Nupponen NN. Amplification of genes encoding KIT, PDGFR $\alpha$  and VEGFR2 receptor tyrosine kinases is frequent in glioblastoma multiforme. *J Pathol* 207:224-231, 2005.
  - 23) Hermanson M, Funa K, Hartman M, et al. Platelet-derived growth factor and its receptors in human glioma tissue: expression of messenger RNA and protein suggests the presence of autocrine and paracrine loops. *Cancer Res.* 52:3213-3219, 1992.
  - 24) Guha A, Dashner K, Black PM, Wagner JA, Stiles CD. Expression of PDGF and PDGF receptors in human astrocytoma operation specimens supports the existence of an autocrine loop. *Int J Cancer* 60:168-173, 1995.
  - 25) Lokker NA, Sullivan CM, Hollenbach SJ, Israel MA, Giese NA. Platelet-derived growth factor (PDGF) autocrine signaling regulates survival and mitogenic pathways in glioblastoma cells: evidence that the novel PDGF-C and PDGF-D ligands may play a role in the development of brain tumors. *Cancer Res.* 62:3729-3735, 2002.
  - 26) Berdel WE, de Vos S, Maurer J, et al. Recombinant human stem cell factor stimulates growth of a human glioblastoma cell line expressing c-kit protooncogene. *Cancer Res.* 52:3498-3502, 1992.
  - 27) Jansen M, de Witt Hamer PC, Witmer AN, Troost D, van Noorden CJ. Current perspectives on antiangiogenesis strategies in the treatment of malignant gliomas. *Brain research Brain research reviews.* 45:143-163, 2004.
  - 28) Seeburg PH, Osten P. Neurobiology: a thorny issue. *Nature.* 424:627-628, 2003.
  - 29) Yoshida Y, Tsuzuki K, Ishiuchi S, Ozawa S. Serum-dependence of AMPA receptor-mediated proliferation in glioma cells. *Pathol Int.* 56:262-271, 2006.
  - 30) Ishiuchi S, Tsuzuki K, Yoshida Y, et al. Blockage of Ca<sup>2+</sup>-permeable AMPA receptors suppresses migration and induces apoptosis in human glioblastoma cells. *Nat Med.* 8:971-978, 2002.
  - 31) Gruber Filbin M, Dabral SK, Pazyra-Murphy MF, et al. Coordinate activation of Shh and PI3K signaling in PTEN-deficient glioblastoma: new therapeutic opportunities. *Nat Med.* 19:1518-1523, 2013.
  - 32) Stommel JM, Kimmelman AC, Ying H, et al. Coactivation of receptor tyrosine kinases affects the response of tumor cells to targeted therapies. *Science.* 318:287-290, 2007.
  - 33) Shimizu-Sasamata M, Kano T, Rogowska J, Wolf GL, Moskowitz MA, Lo EH. YM872, a highly water-soluble AMPA receptor antagonist, preserves the hemodynamic penumbra and reduces brain injury after permanent focal ischemia in rats. *Stroke.* 29:2141-2148, 1998.
  - 34) Howes JF, Bell C. Talampanel. *Neurotherapeutics.* 4:126-129, 2007.
  - 35) Grossman SA, Ye X, Chamberlain M, et al. Talampanel with standard radiation and temozolomide in patients with newly diagnosed glioblastoma: a multicenter phase II trial. *J Clin Oncol.* 27:4155-4161, 2009.
  - 36) Iwamoto FM, Kreisl TN, Kim L, et al. Phase 2 trial of talampanel, a glutamate receptor

- inhibitor, for adults with recurrent malignant gliomas. *Cancer*. 116:1776-1782, 2010.
- 37) Savage DG, Antman KH. Imatinib mesylate--a new oral targeted therapy. *N Engl J Med*. 346:683-693, 2002.
- 38) Druker BJ, Guilhot F, O'Brien SG, et al. Five-year follow-up of patients receiving imatinib for chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 355:2408-2417, 2006.
- 39) Druker BJ, Talpaz M, Resta DJ, et al. Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 344:1031-1037, 2001.
- 40) Wen PY, Yung WK, Lamborn KR, et al. Phase I/II study of imatinib mesylate for recurrent malignant gliomas: North American Brain Tumor Consortium Study 99-08. *Clin Cancer Res*. 12:4899-4907, 2006.
- 41) Friedman HS, Prados MD, Wen PY, et al. Bevacizumab alone and in combination with irinotecan in recurrent glioblastoma. *J Clin Oncol*. 27:4733-4740, 2009.
- 42) Nagane M, Nishikawa R, Narita Y, et al. Phase II study of single-agent bevacizumab in Japanese patients with recurrent malignant glioma. *Japanese journal of clinical oncology*. 42:887-895, 2012.
- 43) Raizer JJ, Grimm S, Chamberlain MC, et al. A phase 2 trial of single-agent bevacizumab given in an every-3-week schedule for patients with recurrent high-grade gliomas. *Cancer*. 116:5297-5305, 2010.
- 44) Watanabe T, Ohtani T, Aihara M, Ishiuchi S. Enhanced antitumor effect of YM872 and AG1296 combination treatment on human glioblastoma xenograft models. *Journal of neurosurgery* 118:838-845, 2013.