



## がん分子標的薬耐性化に対するエピガロカテキンガレートの効果

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2022-03-03 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 間部, 由佳理, 永野, ひかる, 吉田, 萌恵, 檜垣, 七菜子, 近藤, 茂忠 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="https://doi.org/10.24729/00017598">https://doi.org/10.24729/00017598</a>

## 速報

# がん分子標的薬耐性化に対するエピガロカテキンガレートの効果

間部由佳理, 永野ひかる, 吉田萌恵, 檜垣七菜子, 近藤茂忠<sup>†</sup>

<sup>1</sup>大阪府立大学大学院総合リハビリテーション学研究所栄養支援系領域, 大阪府羽曳野市はびきの3丁目7番30号

受付: 2021年10月15日, 受理: 2021年10月26日

## Effect of epigallocatechin gallate on resistance to molecular targeted anti-cancer drugs

Yukari MANABE, Hikaru NAGANO, Moe YOSHIDA, Nanako HIGAKI, Shigetada KONDO<sup>†</sup>

<sup>1</sup>Department of Clinical Nutrition, Graduate School of Comprehensive Rehabilitation, Osaka Prefecture University

Received 15 October 2021; accepted 26 October 2021

**Key words:** 大腸がん, がん分子標的薬, エピガロカテキンガレート

### 1 序文

がん分子標的薬は、がん関連増殖因子受容体を特異的に阻害する新しい制がん剤であり、悪性腫瘍の主要な化学治療である。しかしながら、治療開始後数ヶ月以内に薬剤耐性を獲得してしまうことが大きな問題となっている<sup>1,3</sup>。

近年の研究から分子標的薬耐性獲得の分子機構として、標的分子の変化（遺伝子増幅や遺伝子変異）、バイパス経路の活性化、細胞形質変化、薬剤排出トランスポーターの増加などが起因していることが明らかとなっている。肺がん細胞のEGF-Rを長期間阻害すると、EGF-Rにいくつかの活性型点変異（C797S/T790Mなど）が生じ、分子標的薬が効かなくなり、EGF-Rが再活性化する<sup>4</sup>。また、EGF-R阻害はHGF-RやHER3を増幅させ、HGF-R及びHER3バイパス経路の活性化を促進する<sup>5,7</sup>。HGF-R, IGF-1Rを阻害すると、バイパス経路としてEGF-Rの活性化が生じる<sup>8,9</sup>。未分化リンパ腫キナーゼ（ALK）を阻害すると、細胞膜上の薬剤排出トランスポーター（ABCB1）が過剰発現しALK阻害剤を細胞外へ排出し耐性を誘導する<sup>10</sup>。

がん分子標的薬抵抗性を解決する臨床腫瘍学的なアプローチとして、バイパス経路も阻害できる分子標的薬を多剤併用する治療法の研究が進んでいる。具体的には、EGF-Rを阻害するとHGF-RおよびIGF-1Rが活性化するためEGF-RおよびHGF-R阻害薬またはEGF-R, IGF-1R

阻害薬の併用療法が肺がんにおいて行われている<sup>11,12</sup>。また、HGF-Rを阻害するとPI3Kが活性化してくるため、HGF-RおよびPI3K阻害薬の併用が膠芽腫で実施されている<sup>13</sup>。

しかしながら、がん分子標的薬の併用療法を行っても新たな耐性が獲得されるため最終的には再発してしまい、根治はきわめて困難である。このような状況を打開すべく、本研究では全く新しいアプローチとして緑茶由来の食品機能成分であるエピガロカテキンガレート（EGCG）に着目した。EGCGは大腸がん細胞の生存において重要なEGF-R経路だけでなく、バイパス経路であるHGF-R, IGF-1Rの活性化も阻害できることが報告されている<sup>14-16</sup>。よって、本研究ではEGCGによる分子標的薬耐性の解除や耐性の抑止について検討した。

### 2 方法

#### 2.1 試薬

分子標的薬として、Erlotinib（EGF-Rチロシンキナーゼ阻害剤）およびCapmatinib（HGF-Rチロシンキナーゼ阻害剤）（いずれも Selleck Chemicals, Houston, USA）、NVP-AEW541（IGF-1Rチロシンキナーゼ阻害剤）（Cayman Chemical Company, USA）を使用した。EGCGは、Sigma-Aldrich（St. Louis, USA）から入手したEGCG [(-)-Epigallocatechin gallate]（E4143）を使用した。

<sup>†</sup>連絡著者 E-mail: kondoshi@rehab.osakafu-u.ac.jp

## 2.2 細胞培養および Erlotinib 耐性化大腸がん細胞モデルの樹立

ヒト大腸がん細胞株 HCT116 は American Type Culture Collection (Rockville, USA) から入手し、37°C、5% CO<sub>2</sub> の条件下で、100 µg/ml ストレプトマイシン、100 U/ml ペニシリン (Nacalai Tesque Inc., Kyoto, Japan)、1% 牛胎児血清 (FBS) (SAFC Biosciences; Merck KGaA, Darmstadt, Germany) を含む RPMI1640 培地で培養し、コントロール細胞とした。細胞への試薬処理は全て、Erlotinib 1µM、NVP-AEW541 100nM、Capmatinib 2 nM、EGCG 1µM で行った。Erlotinib 耐性化細胞モデルは、同細胞に Erlotinib (1µM) を 3 か月間連続投与することで樹立した<sup>17</sup>。

## 2.3 ウェスタンブロット解析

ウェスタンブロット解析の手順は文献 18 に則して行った。セルライゼットはライシスバッファー [125mM Tris-HCl (pH7.0)、4% (v/v) ドデシル硫酸ナトリウム (SDS)、および 10% (v/v) グリセロール] を用いて抽出した。タンパク質濃度はビシンコニン酸タンパク質アッセイ (BCA) キット (Nakarai tesque, Osaka, Japan) により決定した。タンパク質を SDS-PAGE サンプルバッファー [10% (v/v) グリセロールおよび 0.4% (v/v) メルカプトエタノール (2ME)] で SDS 化し、総タンパク質 50µg/ ウェルを 10% SDS- ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (PAGE) で分離した後、ポリフッ化ビニリデン膜 (Bio-Rad Laboratories, California, USA) へと転写した。メンブレンを 5% スキムミルクで室温、1 時間ブロッキングした後、一次抗体を 4°C にて 16 時間反応させた。使用した一次抗体は、ウサギモノクローナル抗リン酸化 HGF-R 抗体 (D26) (1:1000)、ウサギモノクローナル抗 HGF-R 抗体 (D1C2) (1:1000)、ウサギモノクローナル抗リン酸化 EGF-R 抗体 (D7A5) (1:1000)、ウサギモノクローナル抗 EGF-R 抗体 (D38B1) (1:5000)、ウサギモノクローナル抗リン酸化 IGF-1R 抗体 (D6D5L) (1:1000)、マウスモノクローナル抗 IGF-1R 抗体 (7G11) (1:1000)、およびマウスモノクローナル抗ヒト β-アクトン抗体 (clone AC-74) (1:10000) である (カッコ内は希釈倍率)。その後、二次抗体の抗ウサギ IgG HRP 結合抗体 (#7074) (1:10000) および抗マウス IgG HRP 結合抗体 (#7076) (1:10000) を、27°C にて 1 時間反応させた。メンブレンを ECL ウェスタンブロット検出試薬 (GE Healthcare Life Sciences, Little Chalfont, UK) で化学発光させ、ChemiDog imaging system (Bio-Rad Laboratories, USA) を用いて検出した。

## 3 結果

### 3.1 Erlotinib に対する抵抗性の獲得

EGF-R 分子標的薬である Erlotinib は、大腸がん細胞で過剰発現している EGF-R を特異的に阻害し腫瘍抑制効果を示す。しかしながら、治療開始 3 か月以内にがん細胞が薬剤抵抗性を獲得してしまうことが報告されている<sup>13</sup>。そ

こで本研究では、Erlotinib を 3 か月間継続して長期処理することで、大腸がん細胞が Erlotinib 抵抗性を獲得するかどうかについて検討した。Erlotinib 抵抗性として、報告のある EGF-R の再活性化を指標とした。

ヒト大腸がん細胞株 HCT116 において EGF-R は恒常的に活性化 (リン酸化) していた (Fig.1, lane 1)。HCT116 細胞に Erlotinib を 24 時間処理すると、EGF-R のリン酸化は強く阻害された (Fig. 1, lane 2)。しかし、Erlotinib 処理 2 日目から EGF-R の再活性化が起こり、その後 100 日目まで経時的に強い再活性化が認められた (Fig. 1, lanes 3-8)。これらの結果から、Erlotinib 抵抗性がわずかに 2 日間で獲得されることが解った。

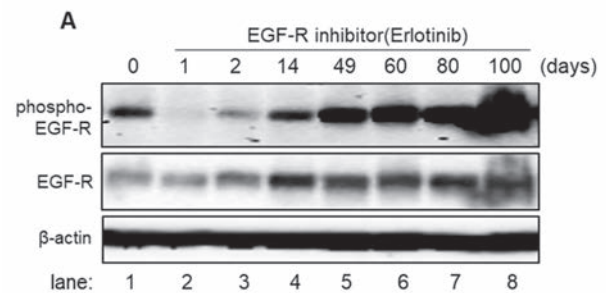


Fig. 1 EGF-R 分子標的薬 (Erlotinib) に対する抵抗性の獲得

HCT116 細胞に Erlotinib を図に示す日数処理し、サンプルを採取した。ウェスタンブロット解析により、リン酸化 EGF-R 及び EGF-R の発現量の経時変化を測定した。β-actin の発現量を内部標準とした。

### 3.2 Erlotinib 抵抗性におけるバイパス経路の同定

EGF-R を阻害した時、HGF-R 及び IGF-1R が代償的に活性化することが報告されている<sup>19,20</sup>。そこで、Erlotinib 抵抗性に HGF-R や IGF-1R が関与しているかについて検討した。

HCT116 細胞において HGF-R は恒常的に活性化していた (Fig. 2A, lane 1)。この活性化は、Erlotinib を 24 時間処理したとき強く阻害された (Fig. 2A, lane 1)。この結果より HGF-R は EGFR に依存していることが示唆された。Erlotinib 処理 2 日目から HGF-R の再活性化が起こりはじめ、その後 100 日目まで経時的に強い再活性化が認められた (Fig. 2A)。この結果から、EGF-R と HGF-R が相互作用している可能性が示唆された。

次に Erlotinib 処理による IGF-1R の活性化について検討した。未処理の HCT116 細胞において IGF-1R の活性化はほとんど認められなかった。一方、Erlotinib 処理わずか 1 日で強い活性化が惹起され、その後 100 日目まで活性化の持続が認められた (Fig. 2B)。以上の結果から、EGF-R 経路を阻害しても、バイパス経路として HGF-R 及び IGF-1R の強い活性化が短期間のうちに惹起されることが明らかとなった。

本研究では、この EGF-R、HGF-R 及び IGF-1R が活性

化している Erlotinib 処理期間 3 か月の細胞を Erlotinib 耐性化細胞 (HCT/Erlotinib cells) とし、耐性化メカニズムについて検討した。

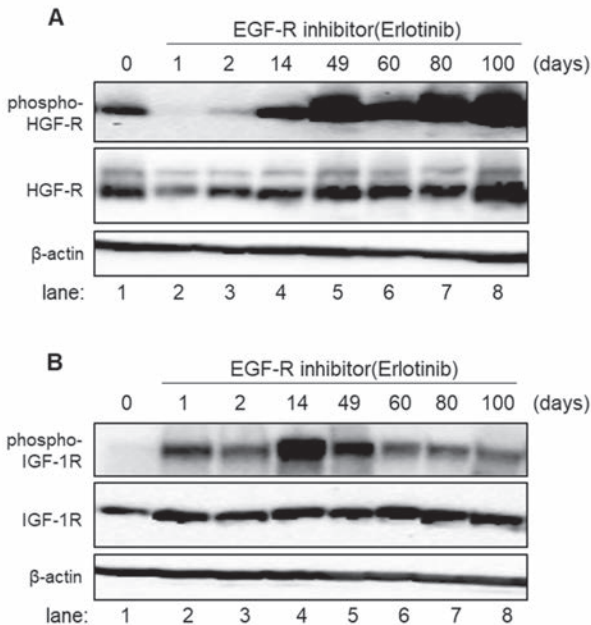


Fig. 2 EGF-R 分子標的薬 (Erlotinib) 抵抗性におけるバイパス経路の活性化

(A,B) HCT116 細胞に Erlotinib を図に示す日数処理し、サンプルを採取した。ウェスタンブロット解析により、(A) リン酸化 HGF-R と HGF-R の発現量および (B) リン酸化 IGF-1R と IGF-1R の発現量の経時的变化を測定した。β-actin の発現量を内部標準とした。

### 3.3 EGF-R 分子標的薬 (Erlotinib) 耐性化細胞におけるヘテロ複合体の形成

Erlotinib 耐性化細胞において HGF-R は EGF-R とヘテロ複合体を形成しているのかを解析するため、DSP でクロスリンクした後、共免疫沈降実験とウェスタンブロット解析を行った。EGF-R を EGF-R 特異的抗体で免疫沈降し、EGF-R と共沈降する HGF-R のタンパク量をウェスタンブロット解析した。その結果、EGF-R/HGF-R 複合体はコントロール細胞と比較し、Erlotinib 耐性化細胞で増加していることが解った (Fig. 3A)。同様に HGF-R を HGF-R 特異的抗体で免疫沈降し、ヘテロ複合体形成能を解析すると、HGF-R/EGF-R ヘテロ複合体の形成は Erlotinib 耐性化細胞で増加していた (Fig. 3B)。これらの結果から、上述の仮説の通り、Erlotinib 耐性化細胞では EGF-R と HGF-R、EGF-R と IGF-1R および、HGF-R と IGF-1R のヘテロ複合体の形成が促進されることが明らかになった。

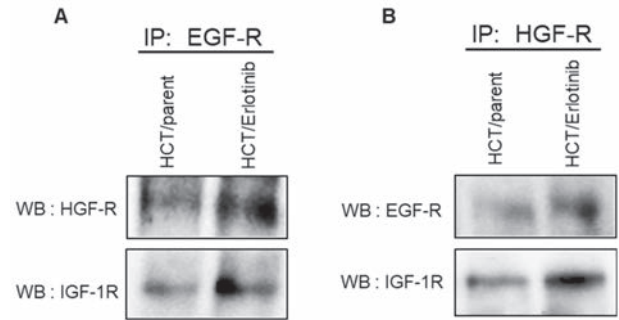


Fig. 3 EGF-R 分子標的薬 (Erlotinib) 耐性化細胞におけるヘテロ複合体の形成

(A) HCT/parent 細胞および HCT/Erlotinib 細胞において、EGF-R を EGF-R 特異的抗体で免疫沈降し、EGF-R と共沈降する HGF-R および IGF-1R の量をウェスタンブロット解析した。(B) A と同様に、HGF-R を HGF-R 特異的抗体で免疫沈降し、HGF-R と共沈降する EGF-R および IGF-1R の量をウェスタンブロット解析した。

### 3.4 EGCG 処理による Erlotinib 耐性の解除

これまでの報告で、緑茶に含まれる食品機能性成分 EGCG は、Erlotinib 耐性化細胞で活性化していた 3 つの受容体 (EGF-R、HGF-R および IGF-1R) を抑制できることが知られている<sup>14-16</sup>。そこで、分子標的薬抵抗性を解除するために、本研究では EGCG に着目した。日常的な緑茶摂取による EGCG 血漿濃度は 1μM と報告されていることから、本研究ではこの濃度を採用し、検討した<sup>21</sup>。

Erlotinib 耐性化細胞に 1μM の EGCG を 2 週間処理し、Erlotinib 抵抗性に与える影響を検討した。EGF-R 及び HGF-R、IGF-1R のリン酸化レベルを解析した結果、EGCG によりこれら受容体のリン酸化が抑制されることが解った (Fig. 4ABC)。これらの結果から、EGCG は Erlotinib 耐性化関連受容体をマルチに阻害することで、既に獲得された Erlotinib 耐性を解除できることが示唆された。

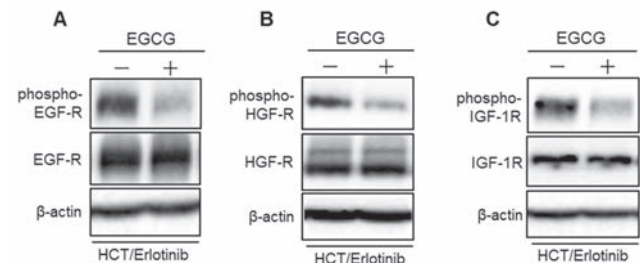


Fig. 4 EGCG 処理による Erlotinib 耐性の解除

(A, B, C) HCT/Erlotinib 細胞に EGCG を 2 週間処理し、ウェスタンブロット解析により (A) リン酸化 EGF-R 及び EGF-R、(B) リン酸化 HGF-R 及び HGF-R、(C) リン酸化 IGF-1R 及び IGF-1R の発現量を測定した。β-actin の発現量を内部標準とした。

### 3.5 EGCG による Erlotinib 耐性化の抑止

EGCG により既に獲得された Erlotinib 耐性化が解除されたことから、Erlotinib 及び EGCG を同時に処理すれば、Erlotinib 耐性の獲得を抑止できるのではないかと仮説を立てた。Erlotinib 5 週間処理では EGF-R は再活性化しているが、Erlotinib 及び EGCG の併用処理では未処理の細胞より抑制されていた (Fig. 5A)。同様に、Erlotinib 及び EGCG の併用処理において HGF-R、IGF-1R の活性化は Erlotinib 処理より抑制されていた (Fig. 5BC)。5 週間の EGCG 処理では、EGF-R の活性化が抑制され、さらにバイパス経路である HGF-R、IGF-1R の活性化の亢進は起こらなかった (Fig. 5ABC)。これらの結果から、EGCG を Erlotinib と同時に処理しておけば、Erlotinib 耐性の獲得を阻止できることが示唆された。

### 3.6 EGCG preconditioning による Erlotinib 耐性化の抑止

次に、EGCG を予め長期間処理しておけば Erlotinib 耐性化をさらに強く抑止できるのではないかと考えた。そこで、1 $\mu$ M の EGCG を予め 3 か月間処理しておいた EGCG

preconditioning 細胞を樹立し、Erlotinib 耐性化について検討した。

まず、EGCG preconditioning した細胞 (HCT/EGCG 細胞) と EGCG preconditioning していない親株細胞 (HCT/parent 細胞) における EGF-R、HGF-R、IGF-1R の活性化レベルを検討した。その結果、HGF-R と IGF-1R の恒常的な活性化は EGCG preconditioning によって抑制されていることが解った (Fig. 6BC)。EGF-R の恒常的な活性化には差は見られなかった (Fig. 6A)。

次に、EGCG preconditioning 細胞に Erlotinib を処理したときの EGF-R、HGF-R、IGF-1R の活性化レベルを検討した。その結果、EGCG preconditioning 細胞に Erlotinib を 6 日間処理すると、EGF-R の再活性化は起きず、Erlotinib の効果が持続していることが解った (Fig. 6A)。HGF-R の活性化は、EGCG preconditioning 細胞において未処理の細胞より抑制され、EGCG preconditioning 細胞に Erlotinib を 6 日間処理すると、HGF-R の活性化はさらに抑制された (Fig. 6B)。同様に、IGF-1R の活性化は

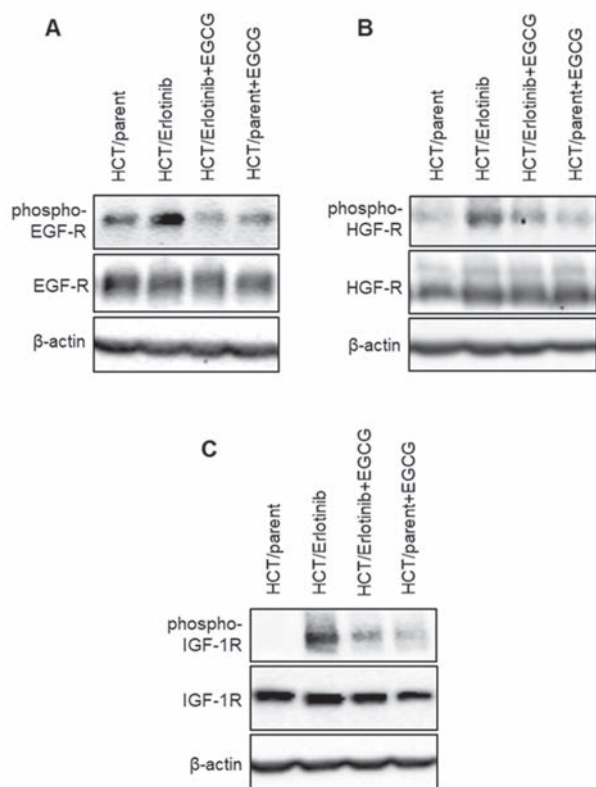


Fig. 5 Erlotinib 耐性化の抑止

(A, B, C) HCT116 細胞に Erlotinib を 5 週間処理したサンプル (HCT/Erlotinib)、HCT116 細胞に Erlotinib 及び EGCG を 5 週間処理したサンプル (HCT/Erlotinib+EGCG) 及び、HCT116 細胞に EGCG を 5 週間処理したサンプル (HCT/parent+EGCG) をそれぞれ採取した。ウェスタンブロット解析により、(A) リン酸化 EGF-R 及び EGF-R、(B) リン酸化 HGF-R 及び HGF-R、(C) リン酸化 IGF-1R 及び IGF-1R の発現量を測定した。β-actin の発現量を内部標準とした。

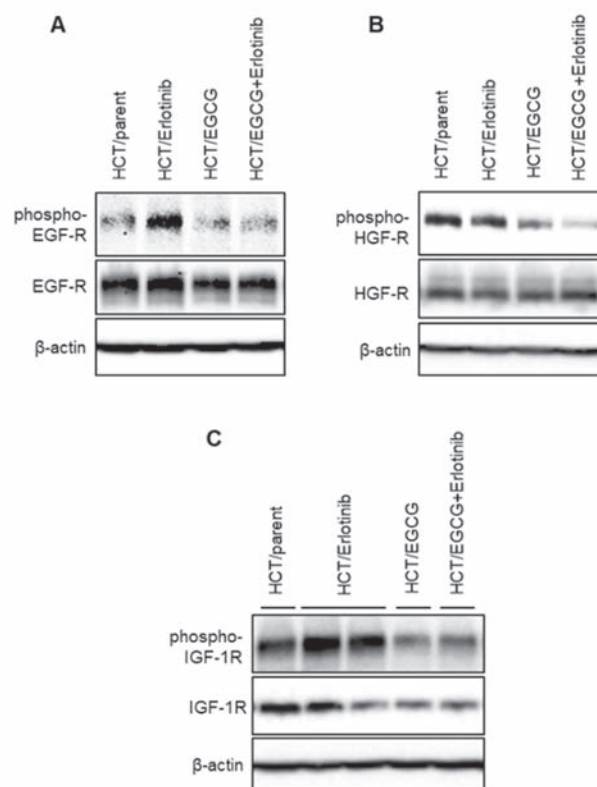


Fig. 6 EGCG preconditioning による Erlotinib 耐性化の抑止

(A, B, C) HCT116 細胞に Erlotinib を 6 日間処理したサンプル (HCT/Erlotinib)、HCT116 細胞に EGCG を 3 か月間処理したサンプル (HCT/EGCG) 及び、HCT/EGCG に EGCG および Erlotinib を 6 日間処理したサンプル (HCT/EGCG + Erlotinib) をそれぞれ採取した。ウェスタンブロット解析により (A) リン酸化 EGF-R 及び EGF-R、(B) リン酸化 HGF-R 及び HGF-R、(C) リン酸化 IGF-1R 及び IGF-1R の発現量を測定した。β-actin の発現量を内部標準とした。



EGCG preconditioning 細胞では未処理の細胞より抑制され、EGCG preconditioning 細胞に Erlotinib を 6 日間処理しても、バイパス経路としての活性化の亢進は起こらなかった (Fig. 6C)。

以上の結果から、EGCG を preconditioning しておくことで、Erlotinib に対する感受性が亢進し Erlotinib 耐性化を抑制できる可能性が示唆された。

#### 4 考察

本研究では、まず大腸がん細胞における分子標的薬 (Erlotinib) の長期間処理 (3 ヶ月) による薬剤抵抗性の出現とその分子メカニズムを解明した。これまでの我々の研究によって、VEGF-R を長期間阻害すると、HGF-R がバイパス経路として活性化し耐性化することを明らかにしてきた<sup>17</sup>。そこで、本研究では、大腸がん治療において、VEGF-R 阻害剤と並びよく用いられている EGF-R 阻害剤である Erlotinib に対する薬剤抵抗性について検討した。

Erlotinib は、24 時間の使用では EGF-R が抑制され効果を示した。しかし、Erlotinib を 2 日以上処理すると、バイパス経路である HGF-R および IGF-1R の活性化亢進に伴う EGF-R の再活性化がみられ、これが Erlotinib 抵抗性の分子メカニズムであることが解った。また、Erlotinib 耐性化細胞において、EGF-R/HGF-R、EGF-R/IGF-1R および HGF-R/IGF-1R のヘテロ複合体の形成が促進されていることが明らかとなった。表皮がん細胞、肝がん細胞では EGF-R/HGF-R がヘテロダイマーを形成し、お互いを活性化すること<sup>22</sup>、肺がん細胞において Erlotinib 処理により EGF-R/IGF-1R のヘテロダイマー形成を増加させ EGF-R を再活性化させ Erlotinib 耐性化を引き起こす<sup>23</sup> という報告がある。これは、Erlotinib 耐性化細胞における HGF-R、IGF-1R の恒常的な活性化の亢進および EGF-R の再活性化は、EGF-R が HGF-R および IGF-1R とヘテロ複合体を形成し、かつトランスアクチベーションしている可能性を示唆している。Erlotinib 耐性化細胞において、これらの受容体がトランスアクチベーションしているのかを今後明らかにしていく必要がある。

EGF-R 分子標的薬の他にも、種々のがん分子標的薬 (HGF-R、IGF-1R、PDGF-R、FGF-R、VEGF-R) に抵抗性が生じることが解っている<sup>17</sup>。この抵抗性を克服するために、分子標的薬の併用研究が盛んに行われている<sup>24, 25</sup>。しかしながら、次々に薬剤耐性化が惹起されてしまうことが解っている<sup>26</sup>。これらのことを踏まえると、現在、分子標的薬抵抗性を克服する主流なアプローチとなっている分子標的薬の併用療法では、抑制効果は一時的で、根本的な解決に至らないことは明らかである。分子標的薬の併用療法に代わる、全く新しいアプローチの探索が必要であると考えられる。

本研究では、分子標的薬抵抗性を栄養学的なアプローチとして、茶カテキンである EGCG によって解決できる可能性を明らかにした。Erlotinib 耐性化細胞に EGCG を併用処理すると EGF-R およびバイパス経路である HGF-R

と IGF-1R のすべての活性化が抑制できることを明らかにした (Fig. 4)。このメカニズムの一つとして EGCG による Lipid raft 崩壊の可能性がある<sup>27</sup>。EGF-R、HGF-R および IGF-1R を含む多くの受容体型チロシンキナーゼ (RTK) は Lipid raft と呼ばれる細胞膜の特定の組織化されたドメインに局在する<sup>28-33</sup>。これらの RTK は Lipid raft で 2 量体を形成し活性化する。そのため、EGCG により Lipid raft が不安定化されると 2 量体が形成できなくなり、結果として活性化を抑制することができた可能性が考えられる。

本研究ではさらに、EGCG 単剤での長期処理細胞においても 3 つの受容体の活性化が抑制され、EGCG の効果が持続できることを明らかにした (Fig. 6)。このメカニズムとして、Lipid raft 崩壊の他にもう一つの作用機序が考えられる。ひとつは、EGCG が増殖因子受容体の ATP 結合部位に入り込み、ATP 競合的に受容体の活性化を阻害するメカニズムである。受容体の動態解析とドッキングシミュレーションの解析から、EGCG が HGF-R および IGF-1R の ATP 結合部位に結合し、HGF-R および IGF-1R の活性化を阻害することが報告されている<sup>34, 35</sup>。EGCG はこれらの作用メカニズムから、単剤で幅広い受容体分子を同時に阻害することができると考えられる。

#### 5 結論

本研究では分子標的薬 (Erlotinib) の長期使用は Erlotinib 耐性を引き起こすことを明らかにした。そして、この分子標的薬耐性を根本から解決する新しい栄養学的アプローチとして、茶カテキンである EGCG の有用性を示した。

#### 6 文献

- 1 Presutti D, Santini S, Cardinali B, et al. (2015) MET gene amplification and MET receptor activation are not sufficient to predict efficacy of combined MET and EGFR inhibitors in EGFR TKI-resistant NSCLC cells. *PLoS One*. 10 (11) : e0143333.
- 2 Qi J, McTigue MA, Rogers A, et al. (2011) Multiple mutations and bypass mechanisms can contribute to development of acquired resistance to MET inhibitors. *Cancer Res*. 71: 1081-1091.
- 3 Wu SG, Shih JY (2018) Management of acquired resistance to EGFR TKI-targeted therapy in advanced non-small cell lung cancer. *Mol. Cancer*. 17: 38-52.
- 4 Uchibori K, Inase N, Nishio M (2018) Identification of Mutation Accumulation as Resistance Mechanism Emerging in First-Line Osimertinib Treatment. *J Thorac Oncol*. 13: 915-925.
- 5 Wang Q, Yang S, Wang K, et al. (2019) MET inhibitors for targeted therapy of EGFR TKI-resistant lung cancer. *J Hematol Oncol*. 12: 63-74.

- 6 Engelman JA, Zejnullahu K, Mitsudomi T, et al. (2007) MET amplification leads to gefitinib resistance in lung cancer by activating ERBB3 signaling. *Science*. 316: 1039-1043.
- 7 Wang Q, Yang S, Wang K, et al. (2019) MET inhibitors for targeted therapy of EGFR TKI-resistant lung cancer. *J Hematol Oncol*. 12: 63-74.
- 8 Rastogi I, Rajanna S, Webb A, et al. (2016) Mechanism of c-Met and EGFR tyrosine kinase inhibitor resistance through epithelial mesenchymal transition in non-small cell lung cancer. *Biochem Biophys Res Commun*. 477: 937-944.
- 9 Riedemann J, Sohail M, Macaulay VM (2007) Dual silencing of the EGF and type I IGF receptors suggests dominance of IGF signaling in human breast cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 355: 700-706.
- 10 Katayama R, Sakashita T, Yanagitani N, et al. (2016) P-glycoprotein Mediates Ceritinib Resistance in Anaplastic Lymphoma Kinase-rearranged Non-small Cell Lung Cancer. *EBio Medicine*. 3: 54-66.
- 11 Ramalingam SS, Spigel DR, Chen D, et al. (2011) Randomized phase II study of erlotinib in combination with placebo or R1507, a monoclonal antibody to insulin-like growth factor-1 receptor, for advanced-stage non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 29: 4574-4580.
- 12 Leighl NB, Tsao MS, Liu G, et al. (2017) A phase I study of foretinib plus erlotinib in patients with previously treated advanced non-small cell lung cancer: Canadian cancer trials group IND. 196. *Oncotarget*. 8: 69651-69662.
- 13 Bent M, Azaro A, Vos FD, et al. (2020) A Phase Ib/II, open-label, multicenter study of INC280 (capmatinib) alone and in combination with buparlisib (BKM120) in adult patients with recurrent glioblastoma. *J Neurooncol*. 146: 79-89.
- 14 Filippi A, Ciolac OA, Ganea C, et al. (2017) ERBB proteins as molecular target of dietary phytochemicals in malignant diseases. *J. Oncol*. 2017: 1532534.
- 15 Larsen CA, Dashwood RH (2010) (-)-Epigallocatechin-3-gallate inhibits Met signaling, proliferation, and invasiveness in human colon cancer cells. *Arch. Biochem. Biophys*. 501:52-57.
- 16 Li M, He Z, Ermakova S, et al. (2007) Direct inhibition of insulin-like growth factor-I receptor kinase activity by (-)-epigallocatechin-3-gallate regulates cell transformation. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev*. 16: 598-605.
- 17 Tomida C, Yamagishi N, Nagano H, et al. (2018) VEGF pathway-Targeting drugs induce evasive adaptation by activation of neuropilin-1/cMet in colon cancer cells. *Int. J. Oncol*. 52: 1350-1362.
- 18 Morgillo F, Woo JK, Kim ES, et al. (2006) Heterodimerization of insulin-like growth factor receptor/epidermal growth factor receptor and induction of survivin expression counteract the antitumor action of erlotinib. *Cancer Res*. 66: 10100-10111.
- 19 Ma Y, Tang N, Thompson R, et al. (2016) InsR/IGF1R pathway mediates resistance to EGFR inhibitors in glioblastoma. *Clin Cancer Res*. 22: 1767-1776.
- 20 Troiani T, Martinelli E, Napolitano S, et al. (2013) Increased TGF- $\alpha$  as a mechanism of acquired resistance to the anti-EGFR inhibitor cetuximab through EGFR-MET interaction and activation of MET signaling in colon cancer cells. *Clin Cancer Res*. 19: 6751-6765.
- 21 Yang CS, Chen L, Lee MJ, et al. (1998) Blood and urine levels of tea catechins after ingestion of different amounts of green tea by human volunteers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 7: 351-354.
- 22 Jo M, Stolz DB, Esplen JE, et al. (2000) Cross-talk between epidermal growth factor receptor and c-Met signal pathways in transformed cells. *J Biol Chem*. 275: 8806-8811.
- 23 Zhou J, Wang J, Zeng Y, et al. (2015) Implication of epithelial-mesenchymal transition in IGF1R-induced resistance to EGFR-TKIs in advanced non-small cell lung cancer. *Oncotarget*. 6: 44332-44345.
- 24 Zhang J, Jiang X, Jiang Y, et al. (2016) Recent advances in the development of dual VEGFR and c-Met small molecule inhibitors as anticancer drugs. *Eur J Med Chem*. 108: 495-504.
- 25 Chu Y-Y, Yam C, Chen M-K, et al. (2020) Blocking c-Met and EGFR reverses acquired resistance of PARP inhibitors in triple-negative breast cancer. *Am J Cancer Res*. 10: 648-661.
- 26 Jayson GC, Kerbel R, Ellis LM, et al. (2016) Antiangiogenic therapy in oncology: current status and future directions. *Lancet*. 388: 518-529.
- 27 Adachi S, Nagao T, Ingolfsson HI, et al. (2007) The inhibitory effect of (-)-epigallocatechin gallate on activation of the epidermal growth factor receptor is associated with altered lipid order in HT29 colon cancer cells. *Cancer Res*. 67: 6493-6501.

- 28 Pike LJ, Han X, Gross RW, et al. (2005) Epidermal growth factor receptors are localized to lipid rafts that contain a balance of inner and outer leaflet lipids: a shotgun lipidomics study. *J Biol Chem.* 280: 26796-26804.
- 29 Zhuang L, Lin J, Lu ML, et al. (2002) Cholesterol-rich lipid rafts mediate Akt-regulated survival in prostate cancer cells. *Cancer Res.* 62: 2227-2231.
- 30 Chen X, Resh MD (2002) Cholesterol depletion from the plasma membrane triggers ligand-independent activation of the epidermal growth factor receptor. *J Biol Chem.* 277: 49631-49637.
- 31 Westover EJ, Covey DF, Brockman HL, et al. (2008) Cholesterol Depletion Results in Site-specific Increases in Epidermal Growth Factor Receptor Phosphorylation due to Membrane Level Effects: STUDIES WITH CHOLESTEROL ENANTIOMERS. *J Biol Chem.* 278: 51125-51133.
- 32 Roepstorff K, Thomsen P, Sandvig K, et al. (2002) Sequestration of epidermal growth factor receptors in non-caveolar lipid rafts inhibits ligand binding. *J Biol Chem.* 277: 18954-18960.
- 33 Remacle-bonnet M, Baillat G, Marvaldi J, et al. (2005) Membrane Rafts Segregate Pro- from Anti-Apoptotic Insulin-Like Growth Factor-I Receptor Signaling in Colon Carcinoma Cells Stimulated by Members of the Tumor Necrosis Factor Superfamily. *Am J Pathol.* 167: 761-773.
- 34 Larsen CA, Bisson WH, Dashwood RH (2010) Tea catechins inhibit hepatocyte growth factor receptor (MET kinase) activity in human colon cancer cells: kinetic and molecular docking studies. *J Med Chem.* 52: 6543-6545.
- 35 Li M, He Z, Ermakova S, et al. (2007) Direct inhibition of insulin-like growth factor-I receptor kinase activity by (-)-epigallocatechin-3-gallate regulates cell transformation. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 16: 598-605.



