

Revista Internacional de Grupos de Investigación en Oncología

www.elsevier.es/regio



Artículo especial

Apoptosis, cáncer & Co

R.A. Pazo Cid^{a,*}, M. Álvarez Alejandro^a, A. Cebollero de Miguel^a, M. J. Agustín^b,
L. Martínez Lostao^c, A. Anel Bernal^c, J.L. Pérez Gracia^d y A. Antón Torres^a

^aServicio de Oncología Médica, Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza, España

^bServicio de Farmacia, Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza, España

^cGrupo de Apoptosis, Inmunidad y Cáncer, Departamento de Bioquímica Biología Molecular y Celular de la Universidad de Zaragoza, Zaragoza España

^dServicio de Oncología Médica, Clínica Universidad de Navarra, Pamplona, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 25 de octubre de 2011

Aceptado el 16 de febrero de 2012

Palabras clave:

Apoptosis

Cáncer

Vía intrínseca

Vía extrínseca

Resistencia a tratamiento

Bcl-2

Apo2L/TRAIL

Keywords:

Apoptosis

Cancer

Intrinsic pathway

Extrinsic pathway

Resistance to treatment

Bcl-2

Apo2L/TRAIL

R E S U M E N

La apoptosis es un mecanismo intrínseco a la maquinaria biológica de las células sanas, donde desempeña un papel fisiológico en diversos procesos. Sin embargo, durante el desarrollo del cáncer, este mecanismo se puede ver alterado, favoreciendo la progresión tumoral y la resistencia a las terapias antitumorales habituales. Nuevos fármacos proapoptóticos, unos son pequeñas moléculas que se administran por vía oral y otros son anticuerpos monoclonales de administración intravenosa, se están desarrollando para el tratamiento del cáncer, tanto en fases preclínicas como clínicas, asociados o no a otros agentes, y su futuro parece prometedor.

©2011 Grupo Sanitario C.B. Publicado por Elsevier España, S. L. Todos los derechos reservados.

Apoptosis, cancer & Co

A B S T R A C T

Apoptosis is a mechanism intrinsic to the biological machinery of the healthy cells in which it plays a physiological role in different processes. However, during the development of cancer, this mechanism can be altered, favoring tumor progression and resistance to the common antitumor therapies. New proapoptotic drugs, some being small molecules administered orally and others monoclonal antibodies of intravenous administration, are being developed for the treatment of cancer, in preclinical and clinical phases, associated or not to other agents, and their future seems to be promising.

©2011 Grupo Sanitario C.B. Published by Elsevier España, S. L. All rights reserved.

Autor para correspondencia.

Correo electrónico: rapazocid@seom.org (R. A. Pazo Cid).

Toutes choses ont leur saison, les bonnes et tout (Todas las cosas tienen su hora, incluso las buenas). *Les Essais*, Livre II, Chapitre XXVIII, Michel de Montaigne.

Concepto de apoptosis e implicaciones clínicas

La muerte celular en mamíferos se produce por necrosis, autofagia o apoptosis (muerte celular programada, genéticamente controlada)¹. La apoptosis es un proceso fisiológico de eliminación celular estrechamente regulado y caracterizado por una secuencia de cambios morfológicos estereotipados: contracción celular, condensación de la cromatina y fragmentación nuclear y celular, con formación de cuerpos apoptóticos que son engullidos por las células fagocíticas próximas antes de que se pierda la integridad de la membrana². Las alteraciones en la regulación de la apoptosis son críticas en el desarrollo del cáncer y en la resistencia al tratamiento. Las aberraciones genéticas de las células tumorales inducen con frecuencia su muerte por apoptosis, pero en el proceso de malignización pueden adquirir cambios en genes y proteínas implicados en las vías apoptóticas, permitiendo a dichas células tumorales evadir la apoptosis³. En las células cancerosas la apoptosis puede ser un fenómeno reversible, si no se sobrepasa un determinado punto de no retorno, lo que podría contribuir a la repoblación de células tumorales entre los ciclos de tratamiento antitumoral, facilitando la progresión o la recaída⁴. Por otra

parte, las células tumorales apoptóticas podrían tener efectos inmunomoduladores, induciendo anergia o fenómenos inmunosupresores^{5,6}.

El desarrollo de resistencia a la muerte celular ha sido reconocido como uno de los mecanismos básicos durante el desarrollo del cáncer y, sus vías, se presentan como dianas terapéuticas prometedoras⁷ (fig. 1).

Vías de la apoptosis y aplicaciones clínicas

La apoptosis es inducida por dos vías de señalización: la vía intrínseca, activada por la liberación de factores pro-apoptóticos mitocondriales (como el citocromo c y la proteína Smac/Diablo) y la vía extrínseca, activada a través de receptores de muerte que se expresan en la superficie celular⁸ (fig. 2). Ambas vías convergen, llevando a efecto su orden letal a través de la activación de las caspasas, proteasas intracelulares⁹.

Vía intrínseca de la apoptosis

La vía intrínseca de la apoptosis se activa desde el interior de la célula por daños en el ADN o en los microtúbulos, como los inducidos por quimioterapia y radioterapia, precisando en algunos casos de la intermediación de la proteína

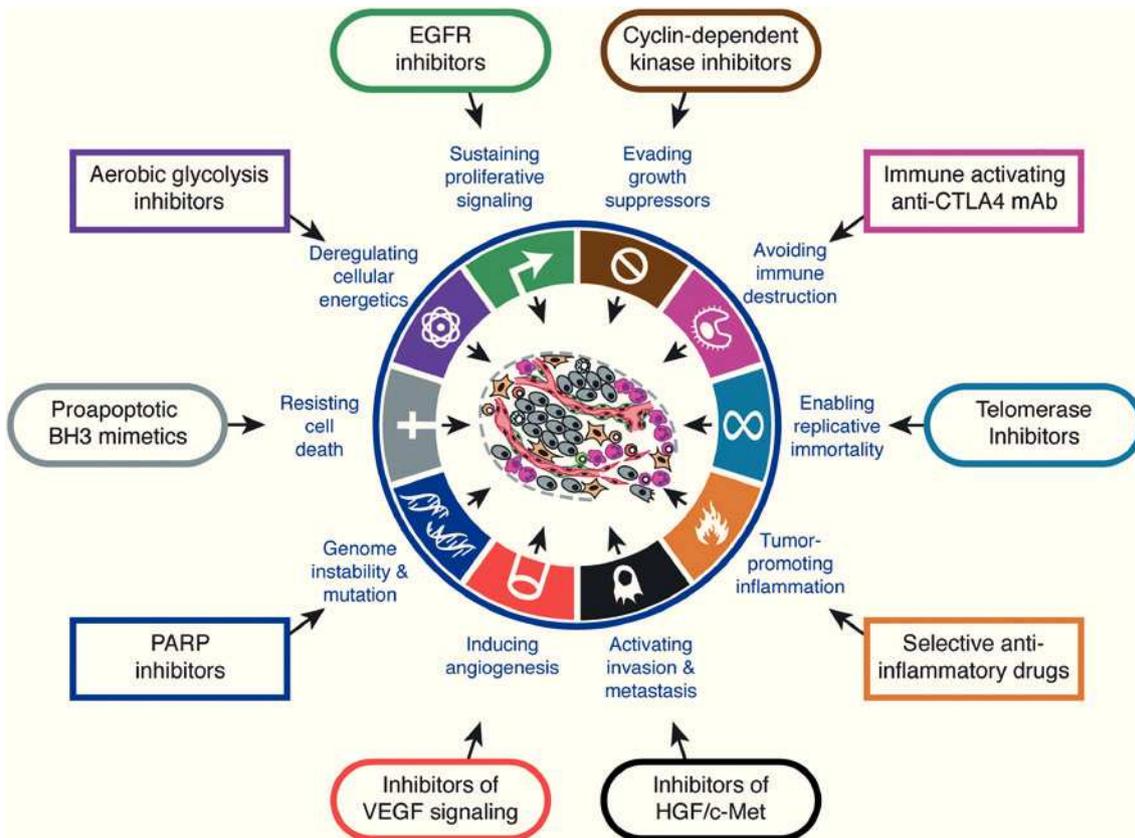


Fig 1 - La vía apoptótica como una de las dianas terapéuticas de futuro en el tratamiento del cáncer. Tomada de Hanahan D, et al D⁷, reproducido con permiso.

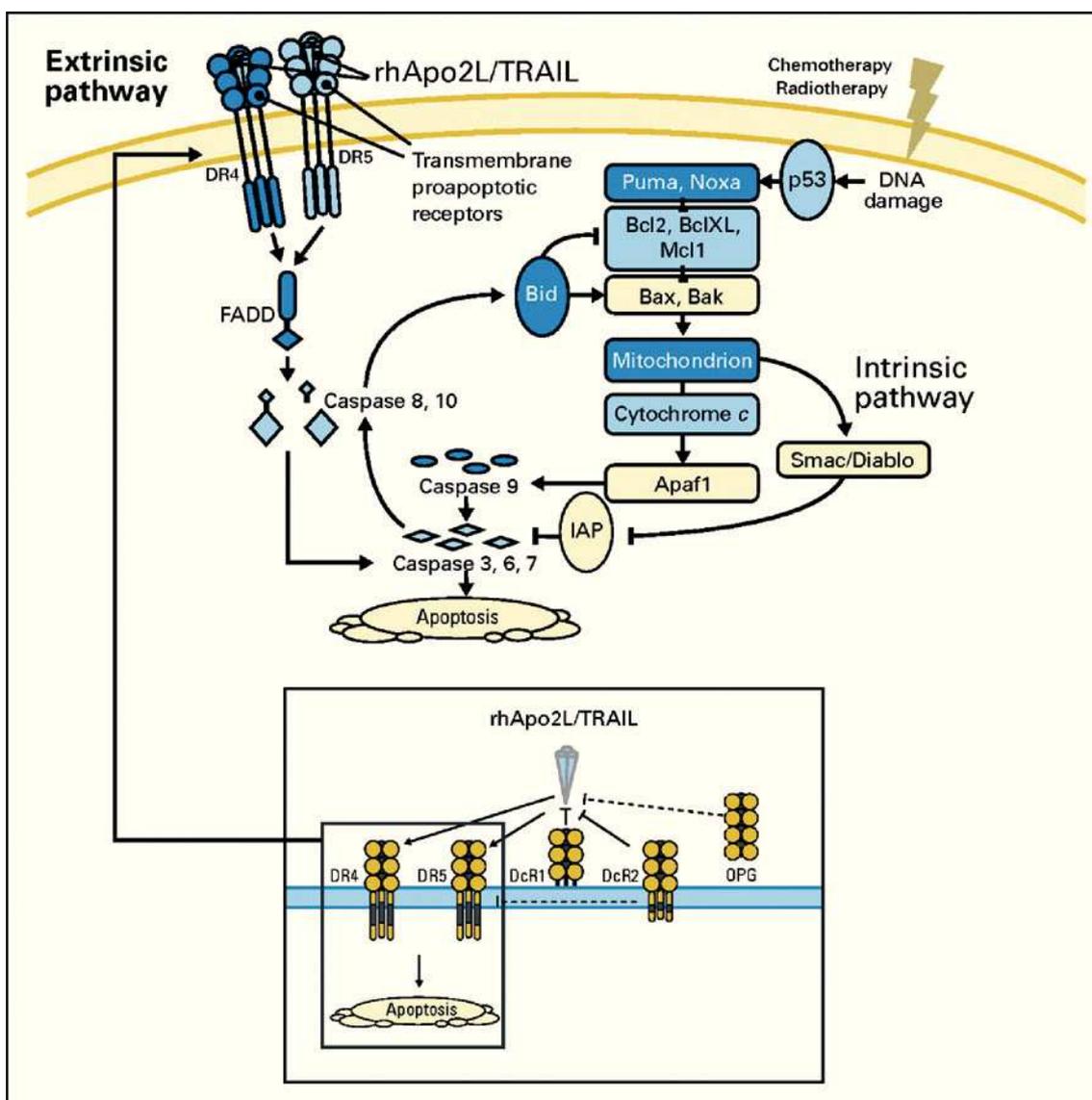


Fig. 2- Vías intrínseca y extrínseca de la apoptosis rhApo2L/TRAIL, ligando 2 humano recombinante de la apoptosis/ligando inductor de la apoptosis relacionado con el factor de necrosis tumoral.

Apaf1: factor 1 activador de la proteasa apoptótica; FADD: dominio mortal asociado; IAP: inhibidor de apoptosis; OPG: osteoprotegerina. Tomada de Ashkenazi A et al⁸, reproducido con permiso.

supresora de tumores p53^{10,11}. Implica además la interacción de proteínas anti-apoptóticas de la familia Bcl-2 y proteínas pro-apoptóticas como BAX y BAK¹². Las células tumorales pueden evadir la apoptosis mediante mutaciones inactivadoras de p53 o amplificación del regulador negativo de p53 HDM2, que confieren resistencia a las terapias convencionales¹³. La sobreexpresión de Bcl-2 o la reducción en la expresión de BAX se han asociado a peor respuesta al tratamiento y peor pronóstico en algunos tumores como el cáncer de mama y el cáncer de ovario¹⁴⁻¹⁸; una baja expresión de la proteína Smac/Diablo se ha asociado a un peor pronóstico en pacientes con carcinoma renal de células claras y, por el contrario, la transfección a estas células de cáncer renal de Smac/Diablo las sensibiliza al tratamiento con cisplatino¹⁹. Esta correlación no es aplicable a todos los tipos tumorales ya que la expresión

de otras proteínas de la vía intrínseca llamadas BH3-only puede modificar la sensibilidad a ciertos fármacos^{20, 21}.

En pacientes con tumores sólidos y hematológicos se están realizando ensayos clínicos fase II-III con medicamentos que suprimen Bcl-2 y restauran la sensibilidad a la quimioterapia, como el oligonucleótido antisentido oblimersen y las moléculas ABT-737 y ABT-263²² (tabla 1). Estos fármacos tienen un perfil de toxicidad particular y así por ejemplo, ABT-263 (Navitoclax) ha demostrado tener como principal efecto tóxico una trombopenia dosis-dependiente²³. Centros españoles han participado en sendos ensayos clínicos fase II con oblimersen: en el primer ensayo oblimersen añadido a taxotere fracasó en demostrar beneficio clínico en pacientes con cáncer de próstata avanzado hormonorrefractario; en el segundo ensayo, oblimersen combinado con dacarbazina demostró mejoría de

Tabla 1 - Ensayos clínicos con fármacos proapoptóticos en España (registrados en ClinicalTrials.gov; situación a 22 de octubre de 2011)

Fase	Tumor	Estado	Fármacos	Código
I	T sólidos	ANR	Gimatecan	NCT00462163
II	LNH	R	YM155 + Rituximab	NCT01007292
II	LNH	C	YM155	NCT00498914
II	T Sólidos	ANR	Conatumumab ± Ganitumab ± BVZ ± FOLFOX	NCT01327612
II [24]	Próstata	C	Oblimersen ± TXT	NCT00085228
III [25]	Melanoma	C	Oblimersen ± DCZ	NCT00518895
IV	LAPM	R	Trióxido de arsénico	NCT00504764

T sólidos: tumores sólidos; LNH: linfoma no-Hodgkin; LAPM: leucemia aguda promielocítica; ANR: activo no reclutando; R: reclutando; C: cerrado; BVZ: bevacizumab; TXT: docetaxel; DCZ: dacarbazina.

la supervivencia en pacientes con melanoma metastásico y niveles basales bajos de LDH en sangre^{24,25}. Datos recientes sugieren que otro mecanismo antitumoral de las pequeñas moléculas inhibitoras de Bcl-2 podría ser mediante la inhibición de la neoangiogénesis tumoral²⁶.

La simple determinación de los niveles de expresión de Bcl-2 en el tumor es insuficiente para predecir el beneficio de la terapia anti-Bcl-2: el análisis cuantitativo de la expresión génica, "arrays" de anticuerpos o el análisis por Western blot de proteínas podrían aportar información complementaria a los estudios inmunohistoquímicos de las biopsias tumorales²⁶.

Vía extrínseca de la apoptosis

La vía extrínseca de la apoptosis es independiente de p53 y se activa desde el exterior de la célula por ligandos agonistas de los receptores proapoptóticos (PARAs), tales como Apo2L/TRAIL o FasL que se unen respectivamente a los receptores de muerte celular DR4 y DR5 o Fas, pertenecientes a la superfamilia del TNF^{27,28}. En algunas ocasiones Apo2L/TRAIL puede activar además la vía intrínseca mediante Bid, una proteína de la familia Bcl-2. Apo2L/TRAIL induce selectivamente la apoptosis en las células cancerosas, pero no en las células normales, quizá debido a la sensibilización de las células tumorales a los PARAs inducida por oncogenes como Myc y Ras²⁹.

Hay dos tipos moleculares de PARAs en ensayos clínicos en pacientes con tumores sólidos y linfomas: uno es la forma humana recombinante de Apo2L/TRAIL (rhApo2L/TRAIL) como puede ser la duladermina; otro son los anticuerpos monoclonales dirigidos contra los receptores DR4 o DR5, tales como mapatumumab o apomab³⁰.

En ensayos clínicos fase I la administración por vía intravenosa de rhApo2L/TRAIL a pacientes con tumores sólidos produjo principalmente astenia (38%), toxicidad digestiva (náuseas 28%, vómitos 23%, estreñimiento 18%), fiebre (23%) y anemia (18%), destacando como mejor respuesta dos casos de condrosarcoma con una respuesta parcial prolongada³¹. Sin embargo en otro ensayo fase I, duladermina, en combinación con paclitaxel, carboplatino y bevacizumab, no se alcanzó toxicidad limitante de dosis y ha demostrado actividad antitumoral en pacientes con adenocarcinoma de pulmón, encontrándose actualmente en ensayo fase II³². Por otro lado,

en modelos preclínicos de cáncer de mama con metástasis óseas, la combinación de duladermina con inhibidores de RANKL, frente a la administración aislada de cada uno de los fármacos anteriores, ha demostrado reducir la afectación tumoral ósea³³. Nuevas formas de rhApo2L/TRAIL ligadas a liposomas, actualmente en estudio preclínicos, podrían mejorar la eficacia antitumoral de estos fármacos en el futuro³⁴. Finalmente, mapatumumab ha demostrado en ensayos fase I no presentar toxicidades graves, además de tener una excelente tolerancia en combinación con quimioterapia (paclitaxel-carboplatino)^{35,36}.

La respuesta tumoral a los PARAs puede verse afectada por mutaciones en Bax o en la caspasa 8, así como por alteraciones en la expresión de las proteínas anti-apoptóticas como Bcl-2 o cFLIP, o de proteínas pro-apoptóticas, como la proteína inhibidora de la Raf-1 quinasa y Myc³⁰. Líneas celulares de cáncer de mama que no expresan receptores de estrógeno ni receptores de progesterona ni HER2 parecen especialmente sensibles a rhApo2L/TRAIL³⁷. En líneas celulares tumorales que sobreexpresan HER2 podría haber un efecto sinergista entre trastuzumab (que bloquea HER2) y la vía de TRAIL: por un lado, la activación de la vía de HER2 parece aumentar la expresión de receptores de TRAIL DR1 y DR2 y, por otro lado, el tratamiento con trastuzumab potenciaría la apoptosis mediada por la vía de TRAIL^{38,39}.

Aunque es necesario cierto grado de expresión tumoral de DR4 o DR5 para conseguir respuesta al tratamiento con rhApo2L/TRAIL, los niveles de estos receptores no predicen la sensibilidad al fármaco⁴⁰. Por el contrario, la expresión de enzimas específicas de O-glicosilación (reguladoras de las señales de apoptosis a través de DR4 y DR5) se han identificado como el predictor más potente de sensibilidad a rhApo2L/TRAIL: el análisis de 119 líneas celulares de cáncer reveló que el nivel de expresión de mRNA de la enzima iniciadora de O-glicosilación ppGalNAcT-14 se correlacionaba con la sensibilidad a rhApo2L/TRAIL en líneas celulares de cáncer de páncreas, cáncer de pulmón no microcítico y melanoma ($p < 0,0009$; $n = 87$). La expresión de ppGalNAcT-3 ($p < 0,026$; $n = 36$) y fucosiltransferasas se correlacionaba con la sensibilidad de líneas celulares de cáncer de colon⁴⁰. La identificación de potenciales biomarcadores séricos de la actividad farmacodinámica de rhApo2L/TRAIL, podrían ser particularmente útiles desde el punto de vista de la práctica clínica al requerir solamente la extracción

de una muestra de sangre del paciente en tratamiento. Se han desarrollado, además, pruebas de inmunohistoquímica que permiten cuantificar en muestras parafinadas de tejido tumoral humano la expresión de enzimas de O-glicosilación como GalNAcT14 y FUT3/6, que podrían utilizarse en futuros ensayos clínicos como biomarcadores predictores de respuesta a agonistas rhApo2L/TRAIL (como duladermina) y a anticuerpos agonistas de DR5 (como drozitumab)⁴¹.

Por otro lado la imagen molecular con el potencial uso clínico de la tomografía de emisión de positrones (PET), utilizando como trazadores radioisótopos como el Tecnecio-99m-HYNIC Anexina V o el nuevo ácido α -metil 18F-alquil-dicarboxílico (18F-ML-10), podría permitir la cuantificación el índice de apoptosis en los tumores de pacientes sometidos a tratamiento^{42,43}.

Las proteínas inhibidoras de la apoptosis (IAPs), como XIAP y la Survivina, son inhibidores naturales de las caspasas proapoptóticas. AEG35156, un XIAP antisentido de segunda generación, ha demostrado buena tolerancia y actividad clínica en un ensayo fase I en pacientes con linfoma, melanoma y cáncer de mama refractarios a otros tratamientos⁴⁴. Otra clase de fármacos en ensayo clínico son los antagonistas de las IAPs, como el inhibidor de survivina YM155 que ha demostrado un 12% de respuestas en un ensayo fase I⁴⁵.

Conclusiones

La inhibición de la apoptosis es esencial en la carcinogénesis y el conocimiento de las vías moleculares subyacentes a este proceso ha permitido desarrollar nuevos fármacos antitumorales. La mayoría de estos fármacos se encuentran en fases precoces de su desarrollo clínico (ensayos fase I y II), siendo los menos los que han alcanzado el desarrollo en ensayos fase III. Fármacos que activan la vía intrínseca de la apoptosis (como Oblimersen) podrían ayudar a restaurar la sensibilidad del tumor a los tratamientos de quimioterapia y radioterapia. Los fármacos que activan la vía extrínseca (como el agonista rhApo2L/TRAIL) ofrecen la ventaja potencial de actuar selectivamente sobre las células tumorales sin afectar a las células sanas. La identificación de biomarcadores predictivos séricos y en tejido tumoral, así como nuevas técnicas de imagen (PET con radiotrazadores de apoptosis), contribuirán a optimizar el diseño y los resultados de los ensayos clínicos de esta nueva clase farmacológica en el tratamiento del cáncer.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Kroemer G, Galluzzi L, Vandenabeele P, Abrams J, Alnemri ES, Baehrecke EH, et al. Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009. *Cell Death Differ.* 2009;16:3-11.

2. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer.* 1972;26:239-57.
3. Kerr JF, Winterford CM, Harmon BV. Apoptosis. Its significance in cancer and cancer therapy. *Cancer.* 1994;73:2013-26.
4. Tang HL, Yuen KL, Tang HM, Fung MC. Reversibility of apoptosis in cancer cells. *Br J Cancer.* 2009;100:118-22.
5. Strand S, Hofmann WJ, Hug H, Müller M, Otto G, Strand D, et al. Lymphocyte apoptosis induced by CD95 (APO-1/Fas) ligand-expressing tumor cells—a mechanism of immune evasion? *Nat Med.* 1996;2:1361-66.
6. Anel A, Bosque A, Naval J, Pineiro A, Larrad L, Alava MA, et al. Apo2L/TRAIL and immune regulation. *Front Biosci.* 2007;12:2074-84.
7. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 2011;144:646-74.
8. Ashkenazi A, Holland P, Eckhardt SG. Ligand-based targeting of apoptosis in cancer: the potential of recombinant human apoptosis ligand 2/tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (rhApo2L/TRAIL). *J Clin Oncol.* 2008;26:3621-30.
9. Hotchkiss RS, Strasser A, McDunn JE, Swanson PE, et al. Cell death. *N Engl J Med.* 2009;361:1570-83.
10. Marzo I, Naval J: Bcl-2 family members as molecular targets in cancer therapy. *Biochem Pharmacol.* 2008;76:939-46
11. Mollinedo F, Gajate C. Microtubules, microtubule-interfering agents and apoptosis. *Apoptosis.* 2003;8:413-50.
12. Vaux DL, Cory S, Adams JM. Bcl-2 gene promotes haemopoietic cell survival and cooperates with c-myc to immortalize pre-B cells. *Nature.* 1988;335:440-2.
13. Igney FH, Krammer PH. Death and anti-death: tumour resistance to apoptosis. *Nat Rev Cancer.* 2002;2:277-88.
14. Chang J, Clark GM, Allred DC, Mohsin S, Chamness G, Elledge RM. Survival of patients with metastatic breast carcinoma: importance of prognostic markers of the primary tumor. *Cancer.* 2003;97:545-53.
15. Fidler IJ, Yano S, Zhang RD, Fujimaki T, Bucana CD. The seed and soil hypothesis: vascularisation and brain metastases. *Lancet Oncol.* 2002;3:53-7.
16. Krajewski S, Blomqvist C, Franssila K, Krajewska M, Wasenius VM, Niskanen E, et al. Reduced expression of proapoptotic gene BAX is associated with poor response rates to combination chemotherapy and shorter survival in women with metastatic breast adenocarcinoma. *Cancer Res.* 1995;55:4471-8.
17. Baekelandt M, Kristensen GB, Nesland JM, Tropé CG, Holm R. Clinical Significance of Apoptosis-Related Factors p53, Mdm2, and Bcl-2 in Advanced Ovarian Cancer. *J Clin Oncol.* 1999;17:2061-8.
18. Baekelandt M, Holm R, Nesland JM, Tropé CG, Kristensen GB. Expression of Apoptosis-Related Proteins Is an Independent Determinant of Patient Prognosis in Advanced Ovarian Cancer. *J Clin Oncol.* 2000;18:3775-81.
19. Mizutani Y, Nakanishi H, Yamamoto K, Li YN, Matsubara H, Mikami K, et al. Downregulation of Smac/DIABLO Expression in Renal Cell Carcinoma and Its Prognostic Significance. *J Clin Oncol.* 2005;23:448-54.
20. López-Royuela N, Pérez-Galán P, Galán-Malo P, Yuste VJ, Anel A, Susín SA, et al. Different contribution of BH3-only proteins and caspases to doxorubicin-induced apoptosis in p53-deficient leukemia cells. *Biochem Pharmacol.* 2010;79(12):1746-58.
21. Letai AG. Diagnosing and exploiting cancer's addiction to blocks in apoptosis. *Nat Rev Cancer.* 2008;8:121-32.
22. Lessene G, Czabotar PE, Colman PM. BCL-2 family antagonists for cancer therapy. *Nat Rev Drug Discov.* 2008;7:989-1000.

23. Gandhi L, Camidge DR, Ribeiro de Oliveira M, Bonomi P, Gandara D, Khaira D, et al. Phase I Study of Navitoclax (ABT-263), a Novel Bcl-2 Family Inhibitor, in Patients With Small-Cell Lung Cancer and Other Solid Tumors. *J Clin Oncol.* 2011;29:909-16.
24. Sternberg CN, Dumez H, Van Poppel H, Skoneczna I, Sella A, Daugaard G, et al; for the EORTC Genitourinary Tract Cancer Group. Docetaxel plus oblimersen sodium (Bcl-2 antisense oligonucleotide): an EORTC multicenter, randomized phase II study in patients with castration-resistant prostate cancer. *Ann Oncol.* 2009;20:1264-9.
25. Bedikian AY, Millward M, Pehamberger H, Conry R, Gore M, Trefzer U, et al. Oblimersen Melanoma Study Group. Bcl-2 antisense (oblimersen sodium) plus dacarbazine in patients with advanced melanoma: the Oblimersen Melanoma Study Group. *J Clin Oncol.* 2006;24:4738-45.
26. Zeitlin BD, Zeitlin IJ, Nor JE. Expanding circle of inhibition: small-molecule inhibitors of Bcl-2 as anticancer cell and antiangiogenic agents. *J Clin Oncol.* 2008;26:4180-8.
27. Trauth BC, Klas C, Peters AM, Matzku S, Möller P, Falk W et al. Monoclonal antibody-mediated tumor regression by induction of apoptosis. *Science.* 1989;245:301-5.
28. Itoh N, Yonehara S, Ishii A, Yonehara M, Mizushima S, Sameshima M, et al. The polypeptide encoded by the cDNA for human cell surface antigen Fas can mediate apoptosis. *Cell.* 1991;66:233-43.
29. Gazitt Y. TRAIL is a potent inducer of apoptosis in myeloma cells derived from multiple myeloma patients and is not cytotoxic to hematopoietic stem cells. *Leukemia.* 1999;13:1817-24.
30. Ashkenazi A. Directing cancer cells to self-destruct with proapoptotic receptor agonists. *Nat Rev Drug Discov.* 2008;7: 1001-12.
31. Herbst RS, Eckhardt SG, Kurzrock R, Ebbinghaus S, O'Dwyer PJ, Gordon MS, et al. Phase I Dose-Escalation Study of Recombinant Human Apo2L/TRAIL, a Dual Proapoptotic Receptor Agonist, in Patients With Advanced Cancer. *J Clin Oncol.* 2010;28:2839-46.
32. Soria JC, Smit E, Khayat D, Besse B, Yang X, Hsu CP, et al. Phase 1b Study of Dulanermin (recombinant human Apo2L/TRAIL) in Combination With Paclitaxel, Carboplatin, and Bevacizumab in Patients With Advanced Non-Squamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol.* 2010;28:1527-33.
33. Holland PH, Miller R, Jones J, Douangpanya H, Piasecki J, Roudier M, et al. Combined therapy with the RANKL inhibitor RANK-Fc and rhApo2L/TRAIL/dulanermin reduces bone lesions and skeletal tumor burden in a model of breast cancer skeletal metastasis. *Cancer Biol Ther.* 2010;9:539-50.
34. Martínez-Lostao L, García-Álvarez F, Basáñez G, Alegre-Aguarón E, Desportes P, Larrad L, et al. Liposome-Bound APO2L/TRAIL Is an Effective Treatment in a Rabbit Model of Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum.* 2010;62:2272-82.
35. Tolcher AW, Mita M, Meropol NJ, von Mehren M, Patnaik A, Padavic K, et al. Phase I Pharmacokinetic and Biologic Correlative Study of Mapatumumab, a Fully Human Monoclonal Antibody With Agonist Activity to Tumor Necrosis Factor-Related Apoptosis-Inducing Ligand Receptor-1. *J Clin Oncol.* 2007;25:1390-5.
36. Leong S, Cohen RB, Gustafson DL, Langer CJ, Camidge DR, Padavic K, et al. Mapatumumab, an Antibody Targeting TRAIL-R1, in Combination With Paclitaxel and Carboplatin in Patients With Advanced Solid Malignancies: Results of a Phase I and Pharmacokinetic Study. *J Clin Oncol.* 2009;27:4413-21.
37. Rahman M, Davis SR, Pumphrey JG, Bao J, Nau MM, Meltzer PS, et al. TRAIL induces apoptosis in triple-negative breast cancer cells with a mesenchymal phenotype. *Breast Cancer Res Treat.* 2009;113:217-30.
38. Dubská L, Andera L, Sheard MA. HER2 signaling downregulation by trastuzumab and suppression of the PI3K/Akt pathway: An unexpected effect on TRAIL-induced apoptosis. *FEBS Letters.* 2005;579:4149-58.
39. Cuello M, Ettenberg SA, Clark AS, Keane MM, Posner RH, Nau MM, et al. Down-Regulation of the erbB-2 Receptor by Trastuzumab (Herceptin) Enhances Tumor Necrosis Factor-related Apoptosis-inducing Ligand-mediated Apoptosis in Breast and Ovarian Cancer Cell Lines that Overexpress erbB-2. *Cancer Res.* 2001;61:4892-900.
40. Wagner KW, Punnoose EA, Januario T, Lawrence DA, Pitti RM, Lancaster K, et al. Death-receptor O-glycosylation controls tumor-cell sensitivity to the proapoptotic ligand Apo2L/TRAIL. *Nat Med.* 2007;13:1070-7.
41. Stern HM, Padilla M, Wagner K, Amler L, Ashkenazi A. Development of Immunohistochemistry Assays to Assess GALNT14 and FUT3/6 in Clinical Trials of Dulanermin and Drozitumab. *Clin Cancer Res.* 2010;16:1587-96.
42. Van de Wiele C, Lahorte C, Vermeersch H, Loose D, Mervillie K, Steinmetz ND, et al. Quantitative Tumor Apoptosis Imaging Using Technetium-99m-HYNIC Annexin V Single Photon Emission Computed Tomography. *J Clin Oncol.* 2003; 21:3483-7.
43. Shirvan A, Reshef A, Allen A, Fenig E, Steinmetz A, Groshar D, et al. Apoptosis imaging with PET-18F-ML-10 for early assessment of response of brain metastases to radiotherapy. *J Nucl Med.* 2009; 50 (Supp 2):453.
44. Dean E, Jodrell D, Connolly K, Danson S, Jolivet J, Durkin J, et al. Phase I Trial of AEG35156 Administered as a 7-Day and 3-Day Continuous Intravenous Infusion in Patients With Advanced Refractory Cancer. *J Clin Oncol.* 2009;27:1660-6
45. Tolcher AW, Mita A, Lewis LD, Garrett CR, Till E, Daud AI, et al. Phase I and pharmacokinetic study of YM155, a small-molecule inhibitor of survivin. *J Clin Oncol.* 2008;26:5198-203.