

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ МЕТАСТАЗИРОВАНИЯ

Molecular Basis of Metastasis

Anne C. Chiang, M.D., Ph.D., and Joan Massagué, Ph.D.

Метастаз – окончательный продукт эволюционного процесса, в котором разнообразные взаимодействия между раковыми клетками и их микроокружающей средой приводят к изменениям, позволяющим этим клеткам превышать свое запрограммированное поведение. Клетки опухоли, таким образом, поселяются и размножаются в новых тканях и, в конечном счете, вызывают дисфункцию органа и смерть. Понимание участников и процессов, вовлеченных в метастазирование, на молекулярном уровне может привести к эффективным, целевым подходам в его лечении и профилактике.

Для стадирования солидных опухолей, как известно, используется TNM классификация, оценивающая размер опухоли и степень местной инвазии (T), число, размер и местоположение лимфатических узлов (N), а также присутствие или отсутствие отдаленных метастазов (M) [1]. Метастазы опухолей, возникающих в различных отделах организма, таких как молочная железа или легкое, рассматриваются иначе, потому что они, как думают, ведут себя как оригинальная ткань, с характерными образцами и кинетикой распространения и отличными профилями чувствительности к химическому воздействию. Поражение лимфатических узлов, безусловно, имеет первостепенное значение при стадировании, но трудно интерпретировать клиническое значение появления метастазов в отдалении от первичного очага (например, надключичный N3 против лимфатического узла средостения N2 при раке легкого). Действительно, расстояние от первичной опухоли до органа-мишени метастаза не затрагивает систему TNM. Поэтому система стадирования должна служить индикатором сложного взаимоотношения первичного рака и метастазирования, вместо того, чтобы только описывать локализацию опухоли. Недавние исследования дают надежду на возможность охарактеризовать метастатическое поведение раковых клеток вне упрощенной стадии TNM. В будущем система стадирования могла бы включать идентификацию субпопуляций опухолевых клеток, у которых различно метастатическое поведение. Более глубокое понимание молекулярных и генетических понятий и процессов, участвующих в метастазировании, может проложить путь к новым прогностическим моделям и способам планирования лечения.

Фундаментальные концепции метастазирования

Происхождение клеточной гетерогенности

Первичные опухоли состоят из гетерогенных популяций клеток с генетическими изменениями, которые позволяют им преодолевать физические границы, распространяться и колонизироваться в отдаленном органе. Метастазирование – последовательность их индивидуальных процессов [2,3,4]. Полностью метастатические клетки – редкие клоны при первичной опухоли. В моделях животных развиваются в метастазы 0.01% или меньше из циркулирующих раковых клеток. Свойственная раковым клеткам геномная неустойчивость увеличивает частоту изменений, необходимых для приобретения метастатической способности [5,6]. Геномная неустойчивость и разнородность клеток опухоли может быть следствием хромосомного увеличения, делеций, аббераций и транслокаций, связанных с

раком. Целостность ДНК может ставиться под угрозу абберацией клеточного цикла, теломерическим кризисом (то есть дисфункцией теломеры, характеризующейся цитогенетическими отклонениями и хромосомной нестабильностью), инактивацией генов репарации ДНК и изменением эпигенетических механизмов регуляции. Например, 50% раковых образований потеряли белок-супрессор опухоли p53, который, отвечая на повреждение ДНК, вызывает апоптоз или ингибирование клеточных факторов [7,8]. У каждой ткани есть физическая структура и установленная функциональная анатомия. Раковые клетки не соблюдают основные законы клеточной организации, что приводит к нарушению «экологического» равновесия, включая дефицит кислорода или питательных веществ, снижение уровня pH, различных газов и медиаторов ответа. Такая нагрузка может заставить опухоль в процессе роста приобрести агрессивный фенотип. Например, гипоксия стабилизирует фактор HIF, который подает сигналы программе генной экспрессии, приводящей к изменениям в анаэробном метаболизме, ангиогенезе, инвазии и выживании [9,10]. HIF повышает выражение лизил-оксидазы, которая регулирует деятельность центральной адгезивной киназы. Высокий уровень инвазии лизил-оксидазы коррелирует с более коротким выживанием без метастазов и плохим прогнозом при раке головы и шеи, так же как эстроген негативный рак молочной железы [11,12]. Другой продукт HIF-вызванной генной активации, хемокин рецептор CXCR4, вместе с его лигандом – облегчает выживание раковых клеток при раке почки и молочной железы [13].

Опухолевые стволовые клетки и метастазирование

Вопрос степени, с которой начинается самовозобновление стволовых клеток рака и которая обуславливает образование различных типов опухолей, является предметом интенсивных исследований, и вероятно, возможны различные результаты при различных типах опухолей. Предполагается, что такие клетки имеют характеристики субпопуляций и обладают способностью оказывать влияние на апоптоз и повреждение ДНК, вызываемое цитостатиками [14,15]. Как думают, ось SDF-1-CXCR4 функционирует в поддержку раковых клеток и стволовых клеток или клеток предшественников опухоли [16]. «Предметастатическая» ниша была неоднократно описана на моделях животных [17,18].

Среда, окружающая первичную опухоль

Инвазия и эпителиально-мезенхимальный переход

Во многих первичных опухолях с агрессивными свойствами межклеточная адгезия часто уменьшена из-за потери E-кадгерина (прямого посредника взаимодействий межклеточной адгезии). Цитоплазматический хвост E-кадгерина привязан через α -катенин и β -катенин к актину цитоскелетона; одно из свойств актина состоит в том, чтобы поддержать соединения клетки. Важность поддержания межклеточной адгезии показали на модели мыши при раке поджелудочной железы, когда разрушение экспрессии E-кадгерина привело к ранней инвазии и метастазированию [19]. Различные механизмы могут вызвать потерю E-кадгерина: мутации, приводящие к бездействующему белку, генному ингибированию регулятором метилирования или пониженному регулированию рецепторами фактора роста, например, эпидермальный рецептор фактора роста (EGFR), рецептор фактора роста фибробласта (FGFR), инсулинподобный фактор роста I (IGF-I), SRC [19,20].

Ген E-кадгерин (*CDH1*), также может быть ингибирован потерями нескольких транскрипционных генов-репрессоров [21,22,23].

Подвижность и внеклеточно-матричная модернизация

Внеклеточная матрица служит основанием, вдоль которого клетки взаимодействуют и двигаются посредством контактов между поверхностными клеточными рецепторами, названными интегринами и внеклеточно-матричными компонентами, такими как фибронектин, коллаген и ламинин. Интегрины также взаимодействуют в цитоплазматическом комплексе, состоящем из центральных киназ адгезии и киназ SRC, чтобы добиться приложения к актину скелетона. Через кальций зависимый гуанозин трифосфаты (GTPases), внеклеточно-матричные сигналы вызывают изменения цитоскелета, которые формируют индивидуальные цитоплазматические расширения, названные филоподии, соединяющиеся в большие ламеллоподии, важные в миграционном движении структуры.

Экспрессия пролиферирующих линий клеток меланомы, полученных посредством естественных условий выбора, показала, что зависимый от кальция GTPase RhoC связан с метастазированием в легкие [24]. В опыте гомозиготные RhoC-супрессированные мыши имели нормальное формирование первичных опухолей, но ослабленную подвижность раковых клеток и NEDD9, белок, вовлеченный в адгезию клеток, взаимодействует с киназой адгезии и может способствовать подвижности клетки и инвазии [26]. Такие части матрицы, как семейство металлопротеиназ (MMP,) например, MMP-2 и MMP-9, также вовлечены в механизм инвазии опухолевых клеток [27,28].

Стромальные взаимодействия

Мало того, что раковые клетки в состоянии пересечь структурные границы первичной опухоли, они могут также задействовать костную и костно-мозговую стромальные ткани. На моделях мышей в очагах базально-мембранной инвазии было отмечено, что связанные опухолью макрофаги распространяются в ответ на полученный из опухоли колоние-стимулирующий фактор 1 и производят факторы роста (например, фактор роста фибробласта лиганды EGFR и полученный из тромбоцита фактор роста (PDGF) и протеазы (например, MMPs и катепсины) [29,30]. Кроме того, связанные опухолью макрофаги активизируют специфический тип связанной карциномой мезенхимальной клетки, миофибробласта, содержащий цитокин SDF-1. Этот цитокин позволяет миофибробласту адгезироваться с клетками предшественниками эндотелия [31,32]. Можно с уверенностью говорить, что несколько типов стромальных клеток и секретируемые ими факторы обеспечивают выборочные прометастатические преимущества [33].

Органоспецифические метастазы

У некоторых типов раковых образований есть характерная склонность к метастазированию в определенные органы, никогда не затрагивая другие [34,35]. Рак молочной железы и раковые клетки простаты могут распространяться и колонизировать кости, формируя остеолитические и остеобластические метастазы соответственно. Формирование костных метастазов изменяет баланс гомеостаза в сторону остеобластических процессов, тормозя работу остеокластов [36]. Клетки рака молочной железы вызывают остеолитические повреждения, вынуждая остеокласты секретировать PTHrP (пептид, связанный с гормоном паращитовидной железы), TNF и цитокины, такие как интерлейкин-1, интерлейкин-6, интерлейкин-8, интерлейкин-11. Эти факторы подают сигналы остеобласту для выброса RANKL (лиганд для активатора рецептора нуклеотидного фактора-В), который стимулирует дифференцирование остеокластов.

Остеокласты деминерализуют кость, таким образом, вызывая выброс факторов роста, таких как морфогенетические белки, IGF-1, TGF- β ; все эти факторы роста поддерживают быстрое увеличение раковой клетки и вызывают дальнейший выброс PTHrP. При раке молочной

железы ксенографическая модель клетки рака молочной железы отрегулировала экспрессию генов, кодирующих CXCR4, остеопонтин, CTGF, MMP-1 и интерлейкин 11 [30]. В отличие от этого, раковые клетки простаты секретируют остеобласт-стимулирующие факторы, такие как лиганды Wnt, морфогенетические белки, PDGF и индетелин-1. Эти факторы стимулируют формирование остеобластического метастаза рака простаты. Полученные из опухоли сигналы подавляют способность остеобластов секретировать остеопротегерин, антагонист RANKL, который блокирует взаимодействие RANKL-RANK и завершение активации остеокласта. Таким образом, секретлируемые раковыми клетками факторы могут влиять на тип формирующихся метастазов. Раковые клетки могут регулировать экспрессию других молекул, имеющих значение для колонизации в других органах [31]. Такие молекулы включают ген, кодирующий эзрин (внутриклеточный белок, необходимый для раннего выживания метастатических клеток остеосаркомы в легком), серин-треонин киназа 11 (*STK11*), EGFR *EREG*, *PULP 2*, *MMP-1*, *ANGPTL4* и другие посредники проникновения и колонизации раковыми клетками в легком [32].

Ткани или отдаленный метастатический участок не являются «обществом вседозволенности», о чем свидетельствует редкость метастатических клонов, возникающих после инфузии миллионов клеток в экспериментальных моделях на животных. У людей также были найдены тысячи циркулирующих клеток опухоли при отсутствии метастазов. Определенные взаимодействия могут поддерживать способность раковой клетки выжить в метастатической микроокружающей среде, включая взаимодействие RANKL-RANK. Другой пример – SDF-1 хемокин костного мозга, увеличивающий выживание клеток рака молочной железы и простаты [33]. Следует иметь в виду, что, несмотря на достаточное изучение механизмов метастазирования в кости и легкие, есть недостаток информации о молекулярном основании для метастаза в другие органы, такие как печень и мозг.

Интегрированная модель метастаза

В прошлое десятилетие взгляд на метастазирование изменился от снимков, детализирующих определенные биологические процессы, к динамической картине того, как различные раковые клетки приобретают функции и поглощают стромальные сигналы для распространения и базирования в отдаленных участках. Случайные генетические и эпигенетические изменения в раковых клетках в комбинации с пластичной и отзывчивой микроокружающей средой поддерживают метастатическое развитие опухолей. Кроме того, идентифицированы гены, необходимые для различных этапов метастатического процесса. Эти гены были классифицированы в три категории: прогрессии, иницирующие и вирулентные [34]. Гены, которые связаны с метастатической прогрессией, дают раковой клетке специфические преимущества во время ее движения к отдаленному участку. Эти свойства могут влиять на метастатическое предназначение клетки. Гены, связанные с иницированием метастаза, работают в ранних и поздних стадиях инвазии и роста в первичной опухоли и различных метастатических средах обитания. Использование такой модели организации определенных генов и их функций позволяет создать многомерную картину (включая место действия и время) метастаза и может помочь в развитии рациональных антиметастатических стратегий.

Модели прогрессии метастаза и опухоли

Появление молекулярной генетики позволило создать модель прогрессии опухоли, в которой соматические мутации, как думали, накопились последовательно, приводя к появлению одиночных, способных к метастазированию, клеток [35]. Другие модели подчеркивают динамическую разнородность и клоновый выбор, принципы, предполагающие, что непостоянный метастатический вариант может расширяться и преобладать в популяции клеток [36,37]. Присутствие генов метастаза в первичных опухолях, казалось бы, поставило

под сомнение традиционные модели опухолевой прогрессии. Эти наблюдения, вероятно, отражают избытие частично компетентных раковых клеток, которые накопили достаточное число агрессивных функций, чтобы индуцировать прогрессию первичной опухоли, и которые могут быть необходимыми, но не достаточными для того, чтобы сформировать метастазы. В отличие от этого, гены, связанные с метастатической активностью, обеспечивают агрессию и выживание исключительно во время колонизации метастатического участка.

Гены прогрессии метастазирования

Гены, необходимые для определенных функций, таких как сосудистая модернизация, могут участвовать и в первичной опухоли и в метастатической прогрессии.

Из клеток рака молочной железы, отобранных *in vivo*, выявлены гены, задействованные в метастазировании в легочную ткань (EREG, COX-2, MMP-1). Они участвуют в неангиогенезе и интравазации опухолевых клеток, но известно, что они не оказывают влияния на способность к метастазированию в кости и печень [38]. Вероятное объяснение состоит в том, что экстравазация не является существенным условием для прохода через сосудистую, с многочисленными отверстиями синусоид, сеть в печени и костном мозге. Клетки первичных опухолей и метастатические клетки в процессе старения испытывают необходимость в самовозобновлении и репродукции. ID1 (ингибитор дифференцирования 1) является единственным транскрипционным регулятором при метастазах в легочную ткань и может быть найден в группах раковых клеток в пределах опухолей молочной железы. Подавление экспрессии ID1 прекращает инициирование опухоли и метастазирование в легкие [39]. Также ID1 взаимодействует с активизированными онкогенами *RAS* в предотвращении старения клетки [40].

Метастатическая диссеминация

Раковые клетки могут диссеминировать достаточно рано по отношению к периоду существования опухоли в организме, что часто отмечается у пациенток с раком молочной железы, дающей метастазы в костный мозг. Такие раковые клетки генетически отличны от подобных первичных опухолей, но это не касается костной ткани [40,41]. У трансгенных мышей с преагрессивным раком молочной железы и пациентов с карциномой *in situ* покоящиеся раковые клетки, полученные из костного мозга, стали активизированными после трансплантации в костный мозг и вызвали рост [42]. Постулировались много механизмов, которые могли бы объяснить состояние покоя для метастаза [43]. У пациентов с прогрессирующей метастатической болезнью клетки рака молочной железы могут эффективно выйти из отдаленного метастаза и, возможно, повторно интегрировать для повторения процесса. Инвазия опухоли посредством своего собственного циркулирующего потомства метастатических раковых клеток обсуждается как возможный механизм более позднего быстрого прогрессирования [44]. Согласно этой гипотезе, большие первичные опухоли могут также быть продуктом агрессивной резидуальности. Это было бы новой перспективой для старого наблюдения, утверждающего, что метастатическое рецидивирование коррелирует с размером опухоли [45].

Клинические значения

Молекулярные маркеры метастазирования

Количество генов-экспрессоров первичного рака молочной железы, которые предсказывают клинически неблагоприятный исход [46,47,48,49,50] может достигать до 70 и включает

рецептор эстрогена, HER2, маркеры быстрого прогрессирования, митогены сыворотки, гипоксии [51,52], активации определенных онкогенов (например, *RAS*, *MYC*, и *SRC*) [53,54], TGF- β [55].

Цели терапии

В принципе, каждый определенный для метастаза ген – потенциальная цель для лечения. Продолжающиеся клинические испытания предназначаются для метастатического гена инициирования *c-MET* (например, ингибитор молекулы ARQ 197, в испытаниях фазы 1-2) и двух метастатических вирулентных генов RANK (например, *denosumab*, в испытаниях фазы 3) и TGF- β (например, моноклональное антитело GC1008, в испытаниях фазы 1). В фазе предклинических экспериментов находится комбинированная терапия с цитостатиками *celesoxib* и *setuximab*. Предполагается что, она будет эффективна при метастазах рака молочной железы в легкие [52]. Лечение рака, возможно, должно объединить многие антиметастатические препараты с цитостатической химиотерапией. Например, *bevacizumab* – антитело, предназначающееся для сосудистого эндотелиального фактора роста, изучается в комбинации с адьювантной химиотерапией при раке яичников, колоректальном раке и немелкоклеточном раке легкого. Также необходимы методы лечения, которые затрагивали бы механизмы, отвечающие за нахождение микрометастазов в стадии «покоя».

Клинические испытания с использованием антиметастатических агентов стоят перед многими препятствиями. Любое вспомогательное испытание для оценки рецидивирования метастатической болезни из-за разнообразия опухолей требует большого числа пациентов. Один из способов решения проблемы – коррелятивные исследования ткани, полученной из очагов метастазирования.

Литература

1. DeVita VT Jr, Lawrence TS, Rosenberg SA, eds. DeVita, Hellman, and Rosenberg's Cancer: principles & practice of oncology. 8th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins, 2008.
2. Weinberg RA. The biology of cancer. New York: Garland Science, 2007.
3. Fidler IJ. The pathogenesis of cancer metastasis: the 'seed and soil' hypothesis revisited. *Nat Rev Cancer* 2003;3:453-458.
4. Gupta GP, Massague J. Cancer metastasis: building a framework. *Cell* 2006;127:679-695.
5. Chambers AF, Groom AC, MacDonald IC. Dissemination and growth of cancer cells in metastatic sites. *Nat Rev Cancer* 2002;2:563-572. [[CrossRef](#)][[ISI](#)][[Medline](#)]
6. Luzzi KJ, MacDonald IC, Schmidt EE, et al. Multistep nature of metastatic inefficiency: dormancy of solitary cells after successful extravasation and limited survival of early micrometastases. *Am J Pathol* 1998;153:865-873. [[Free Full Text](#)]
7. Sykes SM, Mellert HS, Holbert MA, et al. Acetylation of the p53 DNA-binding domain regulates apoptosis induction. *Mol Cell* 2006;24:841-851. [[CrossRef](#)][[ISI](#)][[Medline](#)]
8. Halazonetis TD, Gorgoulis VG, Bartek J. An oncogene-induced DNA damage model for cancer development. *Science* 2008;319:1352-1355. [[Free Full Text](#)]
9. Pouyssegur J, Dayan F, Mazure NM. Hypoxia signalling in cancer and approaches to enforce tumour regression. *Nature* 2006;441:437-443.
10. Bristow RG, Hill RP. Hypoxia and metabolism: hypoxia, DNA repair and genetic instability. *Nat Rev Cancer* 2008;8:180-192. [[Medline](#)]
11. Higgins DF, Kimura K, Bernhardt WM, et al. Hypoxia promotes fibrogenesis in vivo via HIF-1 stimulation of epithelial-to-mesenchymal transition. *J Clin Invest* 2007;117:3810-3820. [[CrossRef](#)][[ISI](#)][[Medline](#)]
12. Erler JT, Bennewith KL, Nicolau M, et al. Lysyl oxidase is essential for hypoxia-induced metastasis. *Nature* 2006;440:1222-1226.
13. Staller P, Sulitkova J, Lisztwan J, Moch H, Oakeley EJ, Krek W. Chemokine receptor CXCR4 downregulated by von Hippel-Lindau tumour suppressor pVHL. *Nature* 2003;425:307-311. [[CrossRef](#)][[Medline](#)]
14. Clarke MF, Fuller M. Stem cells and cancer: two faces of Eve. *Cell* 2006;124:1111-1115.
15. Croker AK, Allan AL. Cancer stem cells: implications for the progression and treatment of metastatic disease. *J Cell Mol Med* 2008;12:374-390. [[Medline](#)]
16. Kucia M, Reza R, Miekus K, et al. Trafficking of normal stem cells and metastasis of cancer stem cells involve similar mechanisms: pivotal role of the SDF-1-CXCR4 axis. *Stem Cells* 2005;23:879-894. [[Free Full Text](#)]
17. Kaplan RN, Riba RD, Zacharoulis S, et al. VEGFR1-positive haematopoietic bone marrow progenitors initiate the pre-metastatic niche. *Nature* 2005;438:820-827.
18. Wels J, Kaplan RN, Rafii S, Lyden D. Migratory neighbors and distant invaders: tumor-associated niche cells. *Genes Dev* 2008;22:559-574. [[Free Full Text](#)]
19. Perl AK, Wilgenbus P, Dahl U, Semb H, Christofori G. A causal role for E-cadherin in the transition from adenoma to carcinoma. *Nature* 1998;392:190-193.
20. Thiery JP. Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression. *Nat Rev Cancer* 2002;2:442-454. [[CrossRef](#)][[ISI](#)][[Medline](#)]
21. Cano A, Pérez-Moreno MA, Rodrigo I, et al. The transcription factor snail controls epithelial-mesenchymal transitions by repressing E-cadherin expression. *Nat Cell Biol* 2000;2:76-83. [[CrossRef](#)][[ISI](#)][[Medline](#)]
22. Yang J, Mani SA, Donaher JL, et al. Twist, a master regulator of morphogenesis, plays an essential role in tumor metastasis. *Cell* 2004;117:927-939.
23. Yang MH, Wu MZ, Chiou SH, et al. Direct regulation of TWIST by HIF-1alpha promotes metastasis. *Nat Cell Biol* 2008;10:295-305. [[Medline](#)]

24. Clark EA, Golub TR, Lander ES, Hynes RO. Genomic analysis of metastasis reveals an essential role for RhoC. *Nature* 2000;406:532-535. [Erratum, *Nature* 2001;411:974.] [\[CrossRef\]](#)[\[Medline\]](#)
25. Hakem A, Sanchez-Sweetman O, You-Ten A, et al. RhoC is dispensable for embryogenesis and tumor initiation but essential for metastasis. *Genes Dev* 2005;19:1974-1979. [\[Free Full Text\]](#)
26. Kim M, Gans JD, Nogueira C, et al. Comparative oncogenomics identifies NEDD9 as a melanoma metastasis gene. *Cell* 2006;125:1269-1281.
27. Egeblad M, Werb Z. New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. *Nat Rev Cancer* 2002;2:161-174. [\[ISI\]](#)[\[Medline\]](#)
28. López-Otin C, Matrisian LM. Emerging roles of proteases in tumour suppression. *Nat Rev Cancer* 2007;7:800-808. [\[CrossRef\]](#)[\[ISI\]](#)[\[Medline\]](#)
29. Lewis CE, Pollard JW. Distinct role of macrophages in different tumor microenvironments. *Cancer Res* 2006;66:605-612. [\[Free Full Text\]](#)
30. Joyce JA. Therapeutic targeting of the tumor microenvironment. *Cancer Cell* 2005;7:513-520. [\[CrossRef\]](#)[\[ISI\]](#)[\[Medline\]](#)
31. Orimo A, Gupta PB, Sgroi DC, et al. Stromal fibroblasts present in invasive human breast carcinomas promote tumor growth and angiogenesis through elevated SDF-1/CXCL12 secretion. *Cell* 2005;121:335-348.
32. Condeelis J, Pollard JW. Macrophages: obligate partners for tumor cell migration, invasion, and metastasis. *Cell* 2006;124:263-266.
33. Padua D, Zhang XH, Wang Q, et al. TGFbeta primes breast tumors for lung metastasis seeding through angiopoietin-like 4. *Cell* 2008;133:66-77.
34. Gavrilovic IT, Posner JB. Brain metastases: epidemiology and pathophysiology. *J Neurooncol* 2005;75:5-14. [\[CrossRef\]](#)[\[Medline\]](#)
35. Billingsley KG, Burt ME, Jara E, et al. Pulmonary metastases from soft tissue sarcoma: analysis of patterns of diseases and postmetastasis survival. *Ann Surg* 1999;229:602-610. [\[CrossRef\]](#)[\[ISI\]](#)[\[Medline\]](#)
36. Hess KR, Varadhachary GR, Taylor SH, et al. Metastatic patterns in adenocarcinoma. *Cancer* 2006;106:1624-1633. [\[CrossRef\]](#)[\[ISI\]](#)[\[Medline\]](#)
37. Leiter U, Meier F, Schittek B, Garbe C. The natural course of cutaneous melanoma. *J Surg Oncol* 2004;86:172-178. [\[CrossRef\]](#)[\[ISI\]](#)[\[Medline\]](#)
38. Lacroix M. Significance, detection and markers of disseminated breast cancer cells. *Endocr Relat Cancer* 2006;13:1033-1067. [\[Free Full Text\]](#)
39. Paget S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast. *Lancet* 1889;1:571-573.
40. Khanna C, Wan X, Bose S, et al. The membrane-cytoskeleton linker ezrin is necessary for osteosarcoma metastasis. *Nat Med* 2004;10:182-186. [\[CrossRef\]](#)[\[ISI\]](#)[\[Medline\]](#)
41. Ji H, Ramsey MR, Hayes DN, et al. LKB1 modulates lung cancer differentiation and metastasis. *Nature* 2007;448:807-810.
42. Minn AJ, Gupta GP, Siegel PM, et al. Genes that mediate breast cancer metastasis to lung. *Nature* 2005;436:518-524. [\[CrossRef\]](#)[\[Medline\]](#)
43. Wang J, Loberg R, Taichman RS. The pivotal role of CXCL12 (SDF-1)/CXCR4 axis in bone metastasis. *Cancer Metastasis Rev* 2006;25:573-587. [\[CrossRef\]](#)[\[ISI\]](#)[\[Medline\]](#)
44. Nguyen DX, Massague J. Genetic determinants of cancer metastasis. *Nat Rev Genet* 2007;8:341-352. [\[ISI\]](#)[\[Medline\]](#)
45. Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, et al. Genetic alterations during colorectal-tumor development. *N Engl J Med* 1988;319:525-532. [\[Abstract\]](#)
46. Ling V, Chambers AF, Harris JF, Hill RP. Quantitative genetic analysis of tumor progression. *Cancer Metastasis Rev* 1985;4:173-192. [\[CrossRef\]](#)[\[ISI\]](#)[\[Medline\]](#)
47. Waghorne C, Thomas M, Lagarde A, Kerbel RS, Breitman ML. Genetic evidence for progressive selection and overgrowth of primary tumors by metastatic cell subpopulations. *Cancer Res* 1988;48:6109-6114. [\[Free Full Text\]](#)

48. Gupta GP, Nguyen DX, Chiang AC, et al. Mediators of vascular remodelling co-opted for sequential steps in lung metastasis. *Nature* 2007;446:765-770.
49. Gupta GP, Perk J, Acharyya S, et al. ID genes mediate tumor reinitiation during breast cancer lung metastasis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:19506-19511. [\[Free Full Text\]](#)
50. Swarbrick A, Roy E, Allen T, Bishop JM. Id1 cooperates with oncogenic Ras to induce metastatic mammary carcinoma by subversion of the cellular senescence response. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:5402-5407. [\[Free Full Text\]](#)
51. Klein CA, Blankenstein TJ, Schmidt-Kittler O, et al. Genetic heterogeneity of single disseminated tumour cells in minimal residual cancer. *Lancet* 2002;360:683-689. [\[CrossRef\]](#)[\[ISI\]](#)[\[Medline\]](#)
52. Schmidt-Kittler O, Ragg T, Daskalakis A, et al. From latent disseminated cells to overt metastasis: genetic analysis of systemic breast cancer progression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:7737-7742. [\[Free Full Text\]](#)
53. Hüsemann Y, Geigl JB, Schubert F, et al. Systemic spread is an early step in breast cancer. *Cancer Cell* 2008;13:58-68. [\[CrossRef\]](#)[\[ISI\]](#)[\[Medline\]](#)
54. Aguirre-Ghiso JA. The problem of cancer dormancy: understanding the basic mechanisms and identifying therapeutic opportunities. *Cell Cycle* 2006;5:1740-1743. [\[ISI\]](#)[\[Medline\]](#)
55. Norton L, Massagué J. Is cancer a disease of self-seeding? *Nat Med* 2006;12:875-878. [\[CrossRef\]](#)[\[ISI\]](#)[\[Medline\]](#)