

# SORVEGLIANZA IMMUNOLOGICA ED ONCOGENESI: RUOLO DEGLI INIBITORI DEL SEGNALE DI PROLIFERAZIONE

**Maurizio Salvadori, Elisabetta Bertoni**

Nefrologia dei Trapianti, Ospedale di Careggi, Firenze

## Immunological surveillance and oncogenesis: role of proliferation signal inhibitors

*The authors review the antineoplastic effect of mTOR inhibitors and their biological basis. In normal cells mTOR is an intracellular serine/threonine kinase that is a central controller of cell growth and proliferation. mTOR integrates signals from a variety of sources as nutrients and growth factors. mTOR regulation can affect angiogenesis, cell growth, nutrient uptake and utilization, and metabolism. Growth factors such as insulin growth factor (IGF), epidermal growth factor (EGF), platelet-derived growth factor (PDGF), and vascular endothelial growth factor (VEGF) bind to and activate receptors located on the cell surface. Receptors activate intracellular signaling cascades through PI3K-AKT-mTOR (phosphatidylinositol 3-kinase/serine-threonine kinase-mTOR), leading to protein synthesis. As a consequence, activation of the mTOR pathway is linked to increased protein synthesis by modulating elements that are important in a number of cellular processes, including growth, proliferation, angiogenesis, and nutrient uptake. Deregulation of mTOR-linked pathways increases the risk of developing cancer and has been identified in many human cancer types. Such deregulation includes overexpression of growth factors, overexpression or mutations of growth factor receptors, loss of tumor suppressor genes, and gain-of-function mutations in mTOR-linked pathways. These changes permit the survival, growth, proliferation, and migration of cancer cells and promote tumor angiogenesis. Targeting them has been a successful anticancer strategy. Targeting mTOR as well as these deregulated pathways could provide enhanced anticancer activity. The efficacy of mTOR inhibitors in preventing several types of cancer in transplanted patients, or making them regress once developed, has been documented in clinical trials and case reports.*

Conflict of interest: None

### KEY WORDS:

Angiogenesis,  
Growth factors,  
mTOR inhibitors,  
Cancer

### PAROLE CHIAVE:

Angiogenesi,  
Fattori di crescita,  
Inibitori di  
mTOR,  
Tumori

### ✉ Indirizzo degli Autori:

Dr. Maurizio Salvadori  
Nefrologia dei Trapianti  
Ospedale di Careggi  
Viale Pieraccini 18  
50139 Firenze  
e-mail:  
salvadorim@aou-careggi.toscana.it

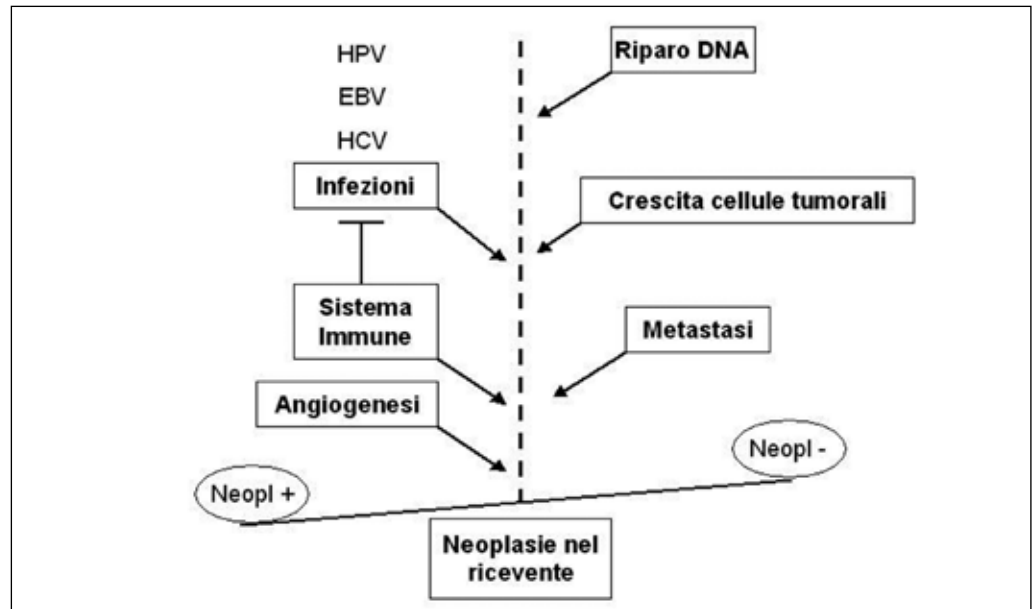
## INTRODUZIONE

La prima documentazione di un rigetto immunologico di un tumore trasmesso dal donatore, dopo discontinuazione della terapia immunosoppressiva, è stata la prima dimostrazione del ruolo della terapia immunosoppressiva nella genesi delle neoplasie post-trapianto (1). Successivamente Starzl ha documentato il ruolo nella crescita di tumori con l'uso di alcuni farmaci immunosoppressivi, riportando la regressione di linfomi e di malattie linfoproliferative dopo riduzione o discontinuazione della terapia immunosoppressiva. In

un primo tempo è stato pensato che l'effetto di indurre tumori da parte dei farmaci immunosoppressori fosse il risultato di una disfunzione dei T linfociti (immunosorveglianza dovuta al farmaco) (2).

I pazienti sottoposti a trapianto che ricevono immunosoppressione, hanno un aumentato rischio di sviluppare alcuni tipi di tumore, fra cui il più frequente è il tumore della pelle (3, 4). Uno studio Australiano riporta che approssimamente un quarto delle morti dei pazienti trapiantati dopo 10 anni è causato dai tumori (3). Fino a poco tempo fa è stato fortemente ritenuto che i farmaci immunosoppressori favorissero

Fig. 1 - Sviluppo di neoplasie e sistema immune.



lo sviluppo di tumori nei pazienti trapiantati, tuttavia nuovi studi indicano che non necessariamente tutti i farmaci immunosoppressori favoriscono lo sviluppo dei tumori e che anzi, alcuni di questi possono essere usati nel trattamento dei tumori. Lo sviluppo dei tumori nei pazienti immunosoppressi è un fenomeno complesso che risulta da un equilibrio di diversi fattori come ad esempio le malattie virali, il danneggiamento e la riparazione del DNA, la crescita cellulare, l'angiogenesi, la mancata apoptosi, l'attivazione di oncogeni e/o l'inattivazione di geni "tumor suppressor" (Fig. 1). La terapia immunosoppressiva potrebbe interferire fra tali complessi meccanismi (5, 6).

L'aumentata incidenza di neoplasie post-trapianto è stata collegata all'uso degli inibitori della calcineurina. Tuttavia, più che un effetto legato alla ridotta risposta linfocitaria, tale aumentata incidenza sembra connessa ad altri meccanismi. Infatti, gli inibitori della calcineurina, determinando un incremento dell'IL-6, favoriscono la crescita delle cellule B parassitate dal virus EBV: questo esita in linfomi ed in malattie linfoproliferative; favoriscono l'incremento di TGF-β che, determinando un fenotipo cellulare con pseudopodi, favorisce l'invasione sia locale che a distanza delle cellule tumorali. Infine, aumentando la produzione di VEGF, favoriscono l'angiogenesi (Fig. 2) (2).

Diversi studi clinici e meta-analisi riportano una bassa incidenza di tumori con l'uso di farmaci inibenti il segnale di proliferazione (PSIs) (7-9).

I PSIs potrebbero intervenire nel ridurre la crescita e l'incidenza delle neoplasie attraverso quattro sistemi: a) aumentando la E-caderina, che favorisce l'adesione cellulare e quindi impedisce che queste si distacchino

e realizzino metastasi;

b) aumentando la chinasi p-27kip-1 che blocca le cicline necessarie al ciclo cellulare, bloccando quindi la crescita del tumore; c) riducendo la produzione di IL-10 che attiva i sistemi di trascrizione Jak-Stats delle cellule necessarie per la crescita delle cellule neoplastiche;

d) bloccando gli mTOR e riducendo dunque la proliferazione cellulare sia a carico dei linfociti T che delle cellule endoteliali (Fig. 3) (2).

### ATTIVITÀ BIOLOGICA DELLE mTOR

Gli inibitori del segnale di proliferazione sono agenti immunosoppressivi che inibiscono i "mammalian target of rapamycin" (mTOR). Nelle cellule normali, mTOR è una serin-treonin-chinasi intracellulare che controlla centralmente la crescita e la proliferazione della cellula. mTOR integra segnali differenti come quelli che derivano da fattori nutrizionali e da fattori di crescita (10, 11). La regolazione di mTOR può influenzare l'angiogenesi, la crescita cellulare, l'uptake e l'utilizzazione dei fattori nutrizionali, ed infine il metabolismo (12, 13). Fattori di crescita quali insulin growth factor (IGF), epidermal growth factor (EGF), platelet derived growth factor (PDGF) e vascular endothelial growth factor (VEGF), si legano ed attivano recettori posti sulla superficie delle cellule (RTK; tyrosin kinase receptors). I recettori attivano una cascata di segnali intracellulari attraverso il phosphatidylinositol-3-kinase-serin-threonin-kinase-mTOR (PI3K-Akt-mTOR) portando alla sintesi proteica. I nutrienti ed i depositi energetici come il glucosio e gli aminoacidi, sono essenziali per la sintesi proteica.

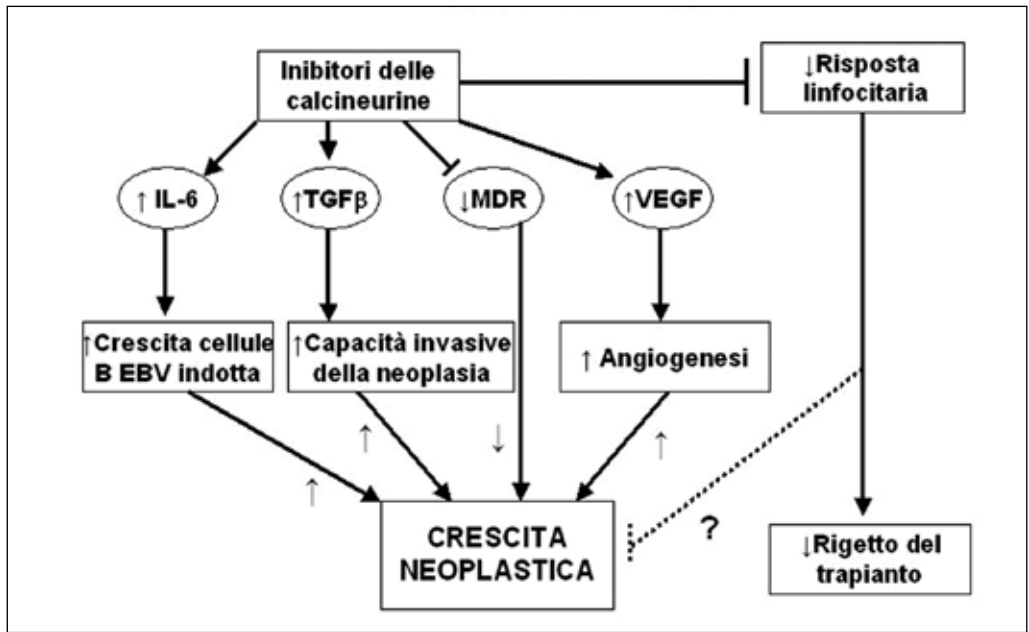
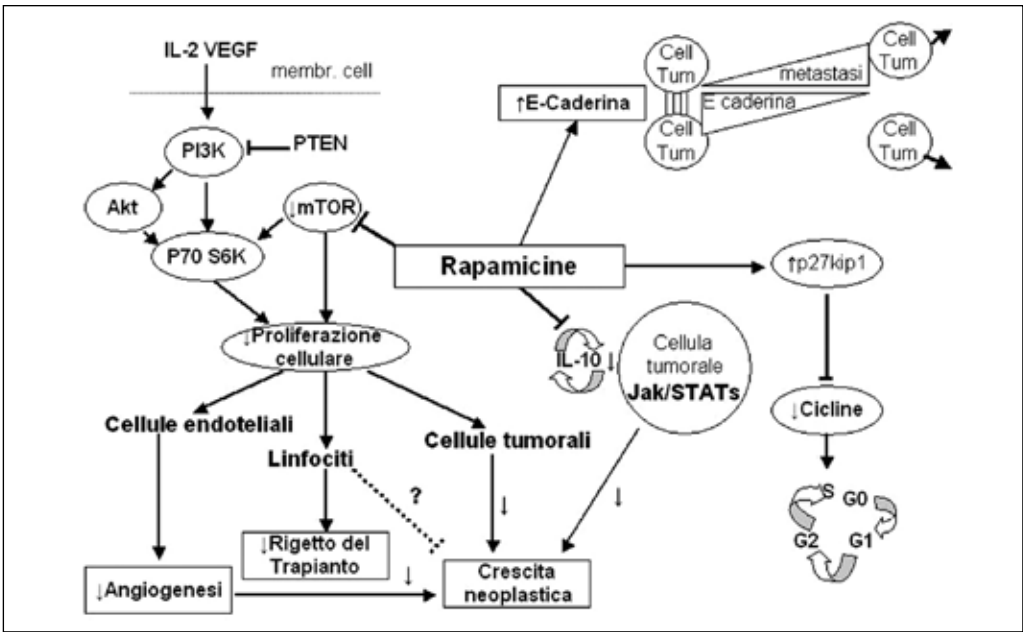


Fig. 2 - Relazione fra inibitori della calcineurina, cancro e trapianto.

Fig. 3 - Relazione fra rapamicine e cancro.



La sintesi proteica, a sua volta, è essenziale per la crescita della cellula, la proliferazione e l'angiogenesi. Questo è rilevante per tutte le cellule fra cui i linfociti e questo è il motivo per cui PSIs sono impiegati come immunosoppressori. È opportuno tenere presente che la cascata degli mTOR è diffusa in tutte le cellule e che tali farmaci agiscono bloccando la crescita cellulare indipendentemente dall'azione immunosoppressiva. In particolare tutti i fattori di crescita sopra menzionati agiscono attraverso dei recettori tirosin-chinasi situati sulla superficie della cellula. Dopo il legame di questi

recettori, la *kinasi* lipidica PI3K si attiva e fosforilizza il *fosfatidil inositolo* 4.5-bifosfato (PIP2) a *fosfatidilinositolo* 3,4,5-trifosfato (PIP3). Questa reazione può essere invertita da un enzima defosforilante generato da un gene *tumor suppressor* chiamato PTEN (*phosphatase and tension homologue deleted on chromosome 10*). Una volta generato, il fosfolipide PIP3 serve come stimolo per reclutare *kinasi* presso le membrane plasmatiche fra cui l'Akt della famiglia delle *protein kinasi* B. L'Akt attiva il Rheb (*Ras homologue enriched in brain*) che in condizioni di base è inibito dalle proteine della

Fig. 4 - Fattori di crescita e via delle mTOR.

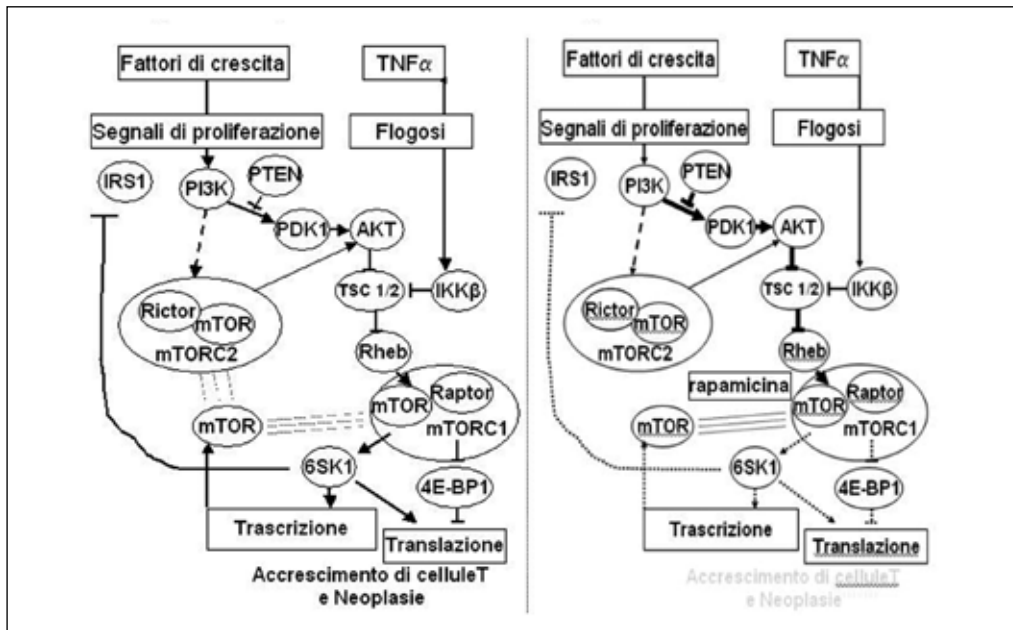
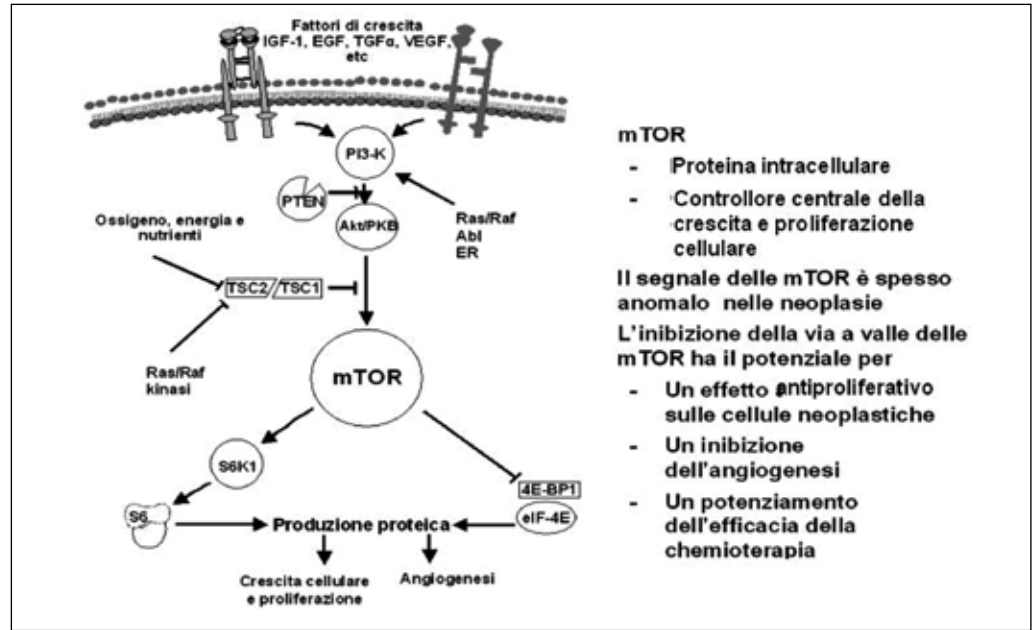


Fig. 5 - Principali vie di attivazione degli mTOR e feedback.

sclerosi tuberosa (TSC 1/2). mTOR viene attivato dal Rheb nell'ambito della via innescata dal PI3K, ma anche riceve segnali di attivazione dai nutrienti (14, 15). Le molecole effetttrici di mTOR sono la proteina ribosomiale S6K1 e l'eukariotic initiation factor 4E (eIF-4E). eIF-4E è legato ed inattivato da una proteina legante (4E-BP1). L'azione di mTOR consiste nel liberare l'enzima attivo dalla proteina. Le molecole effetttrici funzionano come regolatori della biogenesi ribosomiale e della traslazione proteica. Tali molecole effetttrici sono entrambe importanti regolatrici della traslazione

ne dell'mRNA (Fig. 4) (16). Di conseguenza l'attivazione della via di mTOR è legata all'aumento della sintesi proteica, attraverso la modulazione di elementi che sono importanti in un gran numero di processi cellulari, quali la crescita, la proliferazione, l'angiogenesi e l'uptake dei nutrienti.

In realtà è stato visto recentemente che questa via è estremamente più complessa. Una delle scoperte più recenti è che lo stesso mTOR fa parte di due distinti complessi molecolari (Fig. 5) (17); un complesso, mTORComplex1 (mTORC1) riceve il segnale da

molecole a monte di Akt, e il secondo complesso, mTORComplex2 (mTORC2) regola l'attivazione di Akt attraverso la fosforilazione della serina 473 (11). Come già detto Akt è anche fosforilato da *phosphoinositide-dependent kinase 1* (PDK1) che fosforilizza la treonina 308. Con questa seconda fosforilazione Akt è attivato al massimo. Il complesso si amplifica reclutando ulteriori recettori di substrato (come *insulin receptor substrate*) (IRS-1). Quando viene attivato, Akt media l'attivazione di mTORC1 attraverso l'inibizione di un complesso *tumor suppressor* costituito dalle due proteine della sclerosi tuberosa, l'amartina (TSC1) e la tuberina (TSC2). Il complesso TSC1/2 funziona come una proteina attivante la glutatione tri-fosfatasi. Come conseguenza il Rheb non è più fosforilato ed è inattivo e non in grado di complessarsi con il mTORC1. Inoltre recentemente è stata vista una connessione fra il *tumor necrosis factor* alfa (TNF- $\alpha$ , che è associato alla flogosi cronica e mTOR (18). Infatti, il fattore inibente kappa-B kinasi $\beta$  (IKK $\beta$ ) generato dal TNF- $\alpha$  è in grado di attivare mTORC1, inibendo il complesso delle tuberine.

Inoltre è stato visto sempre di recente, che esistono dei *feedback* negativi, dei quali uno dei più importanti riguarda la S6K1. La S6K1 riduce l'attivazione di IRS-1 che è il principale responsabile dell'attivazione della fosforilazione della treonina 308 dell'Akt. Come conseguenza si ha che l'attivazione di S6K1 è in grado di inibire in modo imprevedibile la cascata enzimatica attivante mTORC1.

mTOR è associato ad altri complessi proteici che ne condizionano l'azione. In particolare sono importanti il *regulatory associated protein of mTOR* (raptor) e il *rapamycin in sensitive companion of mTOR* (riCTOR).

Raptor è indispensabile per l'attivazione di mTORC1 e favorisce l'accoppiamento fra Rheb-GTP con mTOR. Per quanto concerne il rictor si associa esclusivamente con mTORC2 ed il complesso ha una peculiare azione nella fosforilazione di Akt. Un aspetto importante dei due complessi è che le rapamicine sono efficaci solo nel bloccare l'attività di mTORC1. La Figura 5 fa vedere l'effetto della rapamicina sull'azione di mTOR. L'aggiunta di rapamicina (sezione destra) causa inibizione di mTORC1, blocco del loop di *feedback* su IRS1, indirettamente potenziamento dei segnali di attivazione di mTORC1 mediati da Akt.

Oltre a quanto descritto mTORC1 aumenta la produzione di *hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$*  (HIF-1 $\alpha$ ), una proteina regolatrice della trascrizione dei fattori di crescita angiogenici, quali il VEGF e il PDGF (19, 20). L'attività di mTORC1 può inoltre proteggere le cellule dal danno del DNA causato da agenti che attivano la p53; la p53, infatti, stimola la riparazione del DNA che permette alla cellula di sopravvivere (21).

mTORC1 è essenziale per la sopravvivenza, la proli-

ferazione e la crescita cellulare e la sua inibizione determina riduzione della crescita e della proliferazione. Questo meccanismo è alla base della scelta dei PSi nell'immunosoppressione perché riducono la crescita e la proliferazione dei linfociti. Poiché il sistema degli mTOR è comune a molte cellule, oltre ai linfociti, i PSi hanno assunto un ruolo come agenti antineoplastici.

## ANOMALIE DELLA BIOLOGIA DELLE CELLULE NEOPLASTICHE

Come riassunto nelle Tabelle I e II i componenti dei segnali a monte e a valle di mTORC1 sono frequentemente alterati in un gran numero di tumori umani. In modo particolare l'attività di mTORC1 è elevata in modo aberrante in diversi tumori ed in sindromi amartomatose (11).

In effetti evidenze scientifiche sempre crescenti dimostrano che l'inattivazione del gene onco-soppressore PTEN rivaleggia in frequenza con la p53 in un discreto numero di tumori epiteliali (22-24). Globalmente lo sviluppo e la crescita dei tumori sono il risultato del bilancio fra molecole promotrici ed inibenti (Fig. 6). Molti recettori di fattori di crescita e vie di attivazione dei segnali sono deregolati nei tumori. Perdita di regolazione delle vie legate a mTORC1 aumenta il rischio di sviluppare tumori ed è stata identificata in diversi tumori umani. La perdita di regolazione include l'iperespressione dei fattori di crescita, l'iperespressione o la mutazione dei recettori dei fattori di crescita, la perdita dei geni *tumor suppressor* e l'aumentata attivazione delle vie legate al mTORC1 nelle mutazioni. Queste anomalie permettono la sopravvivenza, la crescita, la proliferazione e la migrazione delle cellule cancerogene e promuovono l'angiogenesi. Per cui avere come bersaglio gli mTORC1,

TABELLA I - PROTO-ONCOGENI FUNZIONALMENTE CONNESSI AI SEGNALI MEDIATI DA mTORC1

Proto-oncogeni	Evidenze scientifiche
<b>PI3K</b>	Aberrante attività PI3K è implicata nella trasformazione cellulare e nella progressione verso fenotipi neoplastici
<b>PKB/Akt</b>	Akt è amplificato in alcuni tumori dell'uomo
<b>Rheb</b>	Espressione di Rheb è elevata in molte cellule neoplastiche
<b>Ras</b>	Mutazioni del Ras, che determinano iperattivazione proteica sono estremamente frequenti nelle neoplasie umane
<b>eIF-4E eIF-4E</b>	è iperespresso in molte neoplasie umane
<b>S6K1</b>	S6K1 è amplificato ed iperespresso in molti tumori mammari ed è correlato con una cattiva prognosi

**TABELLA II - TUMOR SUPPRESSORS FUNZIONALMENTE CONNESSI AI SEGNALI MEDIATI DA mTORC1**

Tumor Suppressors	Evidenze scientifiche
<b>PTEN</b>	Perdita di funzione PTEN è stata trovata in molti tumori. Individui con mutazioni PTEN sviluppano sindromi amartomatose e sono a rischio elevato di sviluppare tumori
<b>TSC1, TSC2</b>	Individui con mutazioni in TSC1 o 2 sviluppano sclerosi tuberosa, caratterizzata da formazione di amartomi in molti organi
<b>NF1</b>	Individui con mutazioni in NF1 sviluppano neurofibromatosi di tipo 1, caratterizzata da tumori benigni e maligni a carico del sistema nervoso periferico
<b>LKB1</b>	Individui con mutazioni a carico di LKB1 sviluppano la sindrome di Peutz-Jeghers caratterizzata da amartomi del tratto gastroenterico
<b>p53</b>	La p53 esercita numerose attività antineoplastiche ed è mutata nella maggioranza dei tumori umani
<b>4E-BP1</b>	Iperespressione della 4E-BP1 attivata blocca la trasformazione neoplastica delle cellule
<b>beclin-1</b>	Ridotta espressione di beclin-1 è associata con neoplasie mammarie, e topi con beclin-1 mutata sviluppano spesso tumori

così come queste vie alterate, può provvedere a fornire un'efficace terapia antitumorale.

Inoltre, l'attivazione di mTORC1 stimola la traduzione di HIF-1 $\alpha$ , che aumenta la produzione di fattori pro-angiogenici come il VEGF-A. Nelle cellule ben

ossigenate, HIF-1 $\alpha$  è degradato dalla proteina di von Hippel-Lindau (VHL), a cui si lega e la avvia a distruzione per via proteosomica; la perdita della proteina VHL è il meccanismo principale dello sviluppo di alcuni tumori, come il carcinoma a cellule chiare renale (25, 26). Nelle cellule ipossiche, come quelle trovate nei tumori, HIF-1 $\alpha$  trasloca nel nucleo e si lega all'HIF-1 $\beta$ , dando inizio alla trascrizione di geni ipossia regolati, come quelli per il VEGF-A e per la nitrossi sintetasi inducibile (iNOS), che promuove la sopravvivenza delle cellule in condizioni anaerobiche, angiogenesi e metastasi. La iperespressione di HIF-1 $\alpha$  è stato visto essere associata a malattie più aggressive e ad una prognosi peggiore nei tumori della mammella, dell'ovaio, della cervice, dell'esofago, del cervello; la perdita dell'attività della HIF-1 $\alpha$  riduce la crescita del tumore, la vascolarizzazione e il metabolismo energetico. L'inibizione di mTORC1 può ridurre i livelli di HIF-1 $\alpha$  e inibire la produzione di VEGF. HIF-2 $\alpha$  è controllato da mTORC1 nello stesso modo, e in alcuni tessuti HIF-2 $\alpha$  è un importante fattore responsabile dell'angiogenesi e della progressione del tumore (27). Nelle cellule cancerogene, l'attivazione di mTOR da parte dell'ipossia porta alla sintesi proteica di geni che rispondono allo stress ipossico, quali i fattori di crescita angiogenici come VEGF e PDGF. Quando questi fattori angiogenici sono secreti da parte delle cellule tumorali, si legano a recettori posti sulla superficie delle cellule dei vasi, quali le cellule endoteliali ed i periciti. I recettori attivati danno inizio a segnali di crescita all'interno delle cellule della parete vascolare. La crescita e la proliferazione sia delle cellule endoteliali, che dei periciti sono essenziali per l'angiogenesi.

**Fig. 6 -** La via delle mTOR è anomala per mutazioni nelle neoplasie.

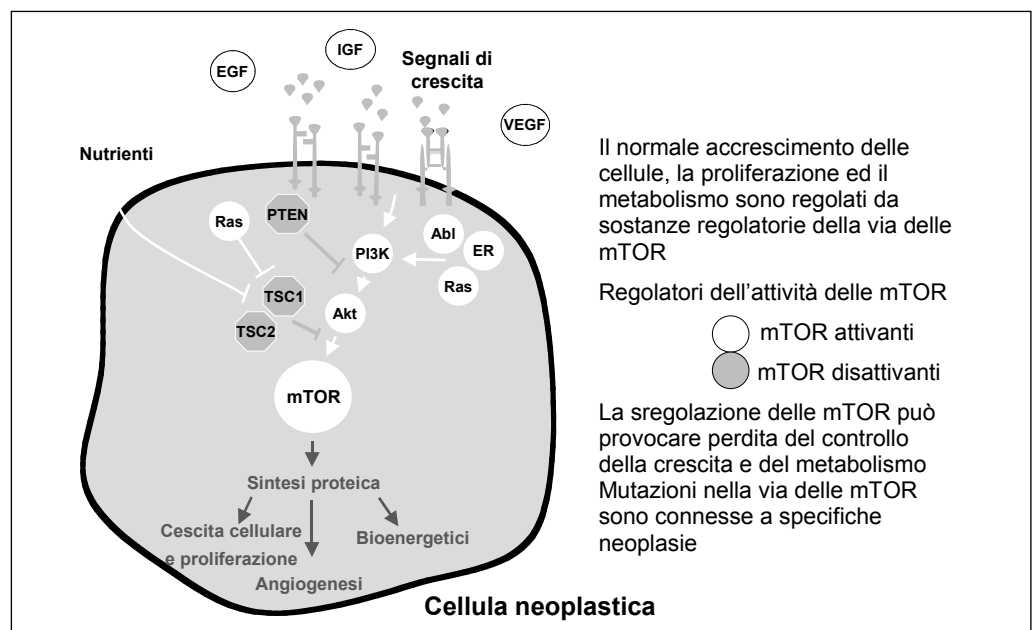


TABELLA III - TERAPIE ANTINEOPLASTICHE CHE COLPISCONO PROTEINE ONCOGENE

Farmaco	Target	Malattia
<b>Anticorpi monoclonali</b>		
Trastuzumab	ERB2	Tumore mammario
Cetuximab	EGFR	Cancro del colon-retto
Bevacizumab	VEGF	Cancro coloretale, tumore polmonare non a cellule piccole
<b>Piccole molecole</b>		
Imatinib	ABL, PDGFR, KIT	Leucemia mieloide cronica, tumori stromali gastroenterici
Gefitinib	EGFR	Tumore polmonare non a cellule piccole
Erlotinib	EGFR	Tumore polmonare non a cellule piccole
Sorafenib	VEGFR, PDGFR, FLT3	Carcinoma renale
Sunitinib	VEGFR, PDGFR, FLT3	Tumori stromali gastroenterici, carcinoma renale

Come già detto mTORC1 possono essere alterate nei tumori da aumentati segnali a monte, da mutazioni che alterano la funzione degli inibitori a monte e da mutazioni che potenziano gli attivatori di mTORC1. L'aumentata attività di mTORC1 porta all'aumentata sintesi proteica di oltre 100 geni e proteine coinvolti nella risposta cellulare (28).

La perdita di regolazione della via metabolica può comportare un'iperespressione di fattori di crescita, un'iperespressione o mutazione dei recettori dei fattori di crescita, perdita dei geni *tumor suppressor* o potenziamento di funzione per le mutazioni delle vie metaboliche legate agli mTORC1, come ad esempio:

- segnale inappropriato attraverso svariate famiglie dei recettori dell'*epidermal growth factor* nell'uomo (HER/EGFR) nei tumori del polmone, colon e mammella;
- attivazione del recettore dell'estrogeno attraverso una via metabolica indipendente dal legame, collegata agli mTORC1 nel tumore della mammella;
- alti livelli di IGF-1 o aumentata espressione dei recettori di IGF-1 nei tumori della mammella, prostata, polmone, tiroide, rene, nei melanomi e nei sarcomi;
- aumentati segnali di Ras o PI3K attraverso mutazioni attivanti o mutazioni con perdita di espressione di *geni tumor suppressor* in alcuni tumori;
- formazione di geni di fusione Bcl-Abl che causano la leucemia mieloide cronica Ph+ (29-33).

La perdita di regolazione dei segnali o l'interferenza con le vie metaboliche mTORC1 collegate può portare ad un aumento dell'attività di mTORC1; inibire mTORC1 può contrastare i segnali deregolati. La combinazione di un agente che direttamente agisce sugli mTOR con un agente che interferisce a qualche livello sulla via

mTOR mediata, può portare a una maggiore attività antineoplastica rispetto ad un agente da solo, particolarmente in quei tumori in cui è persa la funzione del *gene tumor suppressor* (PTEN) (34).

Come conseguenza di quanto detto, proteine oncogene nelle cellule tumorali possono essere il *target* di agenti chemioterapici a piccola molecola, e nel caso siano espresse sulla superficie delle cellule possono essere il *target* di anticorpi monoclonali (Tab. III) (35).

In questo contesto si inserisce l'attività antineoplastica degli inibitori di mTORC1.

#### EFFETTO ANTINEOPLASTICO DEGLI INIBITORI DI mTOR NEI PAZIENTI TRAPIANTATI

È stata ben documentata, sia in *trials* clinici che da singoli *reports*, l'efficacia degli inibitori di mTORC1 nel prevenire diversi tipi di tumore nei pazienti trapiantati o nel far regredire i tumori che si sono sviluppati in questi pazienti. In uno studio di Campistol (36), i pazienti in terapia con sirolimus sviluppavano significativamente meno tumori di quelli in terapia con inibitori della calcineurina. Stallone (37) ha documentato una completa guarigione nel sarcoma di Kaposi dopo *switch* da inibitori della calcineurina a terapia con sirolimus. Dati di de Fijter (38), in accordo con risultati pubblicati in alcuni *trials* clinici, suggeriscono che la conversione da CNi a PSIs può essere di aiuto nel trattamento di tumori della pelle non melanoma nei trapiantati di rene. Gomez-Camarero (39), ha documentato una migliore sopravvivenza nei pazienti trapiantati di fegato che avevano sviluppato tumori dopo trapianto, quando trattati con everolimus, rispetto a quelli trattati con CNIs. Infine lo studio CONVERT ha

documentato una minore incidenza di tumori nei pazienti trapiantati con *switch* a sirolimus, se paragonati con quelli che continuavano la terapia con inibitori della calcineurina (40).

Indipendentemente dai pazienti trapiantati, l'efficacia degli inibitori di mTORC1 è stata ben documentata e pubblicata su autorevoli riviste principalmente nel trattamento dei tumori renali e neuroendocrini.

## EFFETTO ANTINEOPLASTICO DEGLI INIBITORI DI mTORC1 NELLA POPOLAZIONE GENERALE

In uno studio randomizzato in fase III nel carcinoma renale con metastasi, resistente alle terapie tradizionali con target VEGF, everolimus ha dimostrato una riduzione del rischio di progressione o di morte, paragonato a pazienti in placebo (41). Basandosi su simili considerazioni, everolimus è stato recentemente sperimentato in uno studio multicentrico in fase II (RADIANT) in cui era usato come trattamento di seconda scelta in pazienti con tumori pancreatici neuroendocrini, dopo fallimento della terapia citotossica. Un *trial* simile in fase II è stato disegnato per valutare l'uso di everolimus in pazienti con tumori carcinoidi. In entrambi i casi everolimus è stato usato sia in monoterapia che in combinazione con octreotide, che inibisce la via attivata IGF/IGFR dei tumori neuroendocrini gastroenteropancreatici (NET). Il razionale sottostante è quello che una duplice inibizione dell'attivazione degli mTORC1, avendo come *target* diretto gli mTORC1 con everolimus, e la attivazione a monte del segnale IGF/IGFR con octreotide, dovrebbe completamente bloccare questa importante via patologica nei NET (42).

## CONCLUSIONI

In conclusione, mTORC1 è una proteina intracellulare che agisce come regolatore centrale di molteplici segnali che possono mediare abnormi risposte di crescita e proliferazione. L'attività di mTORC1 è influenzata dai livelli di nutrienti ed energetici e dai segnali di vie patologiche spesso deregolate o iperespresse nei tumori quali:

- recettori della superficie cellulare quali EGFR/HER, IGFR e VEGFR;
- la via metabolica PI3K/Akt, in cui spesso è assente o mutato PTEN;
- Ras/Raf;

- recettori cellulari come i recettori degli estrogeni.

Segnali aberranti attraverso le vie metaboliche a monte possono non appropriatamente attivare mTORC1, promuovendo una crescita abnorme delle cellule, proliferazione, angiogenesi e sopravvivenza delle cellule tumorali in un ambiente tumorale depleto di nutrienti e di ossigeno. Colpire queste vie metaboliche è stata la strategia che ha portato a buoni risultati clinici nel campo dei tumori. Una terapia di associazione in cui, oltre al farmaco che colpisce direttamente mTORC1, si sia unito un farmaco che avesse come *target* le vie metaboliche alterate che coinvolgono mTORC1, ha portato ad ottenere un'aumentata attività antineoplastica sia nei pazienti trapiantati, che nella popolazione generale.

## RIASSUNTO

*Gli autori rivedono l'effetto antineoplastico degli inibitori della mTOR e gli effetti biologici correlati. Nelle cellule normali mTOR è una serin/treonin/chinasi intracellulare che funziona come controllore centrale della crescita e proliferazione cellulare. mTOR integra i segnali che provengono da numerosi stimoli come nutrienti e fattori di crescita. La regolazione di mTOR influenza l'angiogenesi, la crescita cellulare, l'up-take dei nutrienti ed il loro utilizzo, il metabolismo. Fattori di crescita come IGF, EGF, PDGF e VEGF si legano e attivano recettori collocati sulla superficie delle cellule. L'attivazione dei recettori inizia una cascata di segnali intracellulari via PI3K-Akt-mTOR che porta alla sintesi proteica. La perdita di regolazione di mTOR altera le vie metaboliche aumentando il rischio di sviluppare dei tumori. Alcune di queste sono state identificate in diversi tumori nell'uomo. L'alterata regolazione include un'iperespressione dei fattori di crescita, un'iperespressione o mutazione dei recettori dei fattori di crescita, perdita dei geni tumor suppressor e mutazioni con aumentata attività delle vie metaboliche mTOR collegate. Queste alterazioni possono permettere la sopravvivenza, la crescita, la proliferazione e la migrazione delle cellule tumorali e promuovere l'angiogenesi del tumore. Strategie antitumor si sono dimostrate efficaci nell'avere come target queste vie. L'efficacia degli mTOR inhibitors nel prevenire alcuni tipi di tumore nei pazienti trapiantati o nel farli regredire è stata ben documentata sia in trials terapeutici, che in singoli reports.*

## DICHIARAZIONE DI CONFLITTO DI INTERESSI

Gli Autori dichiarano di non avere conflitto di interessi.



## BIBLIOGRAFIA

1. Kauffman HM, Cherikh WS, McBride MA, Cheng Y, Hanto DW. Post-transplant de novo malignancies in renal transplant recipients: the past and present. *Transpl Int* 2006; 19: 607-20.
2. Guba M, Graeb C, Jauch KW, Geissler EK. Pro- and anti-cancer effects of immunosuppressive agents used in organ transplantation. *Transplantation* 2004; 77: 1777-82.
3. Sheil AGR. Cancer Report 1997. In: Disney APS ed. The 20th annual report of the Australian and New Zealand Dialysis and Transplant Registry. Queen Elisabeth Hospital, Adelaide, South Australia 1997; p 13, p 138.
4. Penn I. Occurrence of cancers in immunosuppressed organ transplant recipients. In Cecka JM, Terasaki PI, eds. *Clinical Transplants 1998*. Los Angeles, UCLA Tissue Typing Laboratory 1998: 147.
5. Geissler EK, Schlitt HJ. The relation between immunosuppressive agents and malignancy. *Curr Opin Organ Transplant* 2004; 9: 394-9.
6. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100: 57-70.
7. Mathew T, Kreis H, Friend P. Two-year incidence of malignancy in sirolimus-treated renal transplant recipients: results from five multicenter studies. *Clin Transplant* 2004; 18: 446-9.
8. Campistol JM, Eris J, Oberbauer R, et al. Sirolimus therapy after early cyclosporine withdrawal reduces the risk for cancer in adult renal transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 581-9.
9. Webster AC, Lee VW, Chapman JR, Craig JC. Target of rapamycin inhibitors (sirolimus and everolimus) for primary immunosuppression of kidney transplant recipients: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Transplantation* 2006; 81: 1234-48.
10. Huang S, Bjornsti MA, Houghton PJ. Rapamycins: mechanisms of action and cellular resistance. *Cancer Biol Ther* 2003; 2: 222-32.
11. Wullschleger S, Loewith R, Hall MN. TOR signaling in growth and metabolism. *Cell* 2006; 124: 471-84.
12. Humar R, Kiefer FN, Berns H, Resink TJ, Battagay EJ. Hypoxia enhances vascular cell proliferation and angiogenesis in vitro via rapamycin (mTOR)-dependent signaling. *FASEB J* 2002; 16: 771-80.
13. Eninger AL, Thompson CB. Akt maintains cell size and survival by increasing mTOR-dependent nutrient uptake. *Mol Biol Cell* 2002; 13: 2276-88.
14. Manning BD, Cantley LC. Rheb fills a GAP between TSC and TOR. *Trends Biochem Sci* 2003; 28: 573-6.
15. Jaeschke A, Dennis PB, Thomas G. mTOR: a mediator of intracellular homeostasis. *Curr Top Microbiol Immunol* 2004; 279: 283-98.
16. Mellinghoff IK, Sawyers CL. TORward AKTually useful mouse models. *Nat Med* 2004; 10: 579-80.
17. Geissler EK, Schlitt HJ, Thomas G. mTOR, cancer and transplantation. *Am J Transplant* 2008; 8: 2212-8.
18. Lee DF, Kuo HP, Chen CT, et al. IKK beta suppression of TSC1 links inflammation and tumor angiogenesis via the mTOR pathway. *Cell* 2007; 130: 440-55.
19. Majumder PK, Febbo PG, Bikoff R, et al. mTOR inhibition reverses Akt-dependent prostate intraepithelial neoplasia through regulation of apoptotic and HIF-1 dependent pathways. *Nat Med* 2004; 10: 594-601.
20. Stoeltzing O, McCarty MF, Wey JS, et al. Role of hypoxia-inducible factor 1alpha in gastric cancer cell growth, angiogenesis, and vessel maturation. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96: 946-56.
21. Beuvink I, Boulay A, Fumagalli S, et al. The mTOR inhibitor RAD001 sensitizes tumor cells to DNA-damaged induced apoptosis through inhibition of p21 translation. *Cell* 2005; 120: 747-59.
22. Sansal I, Sellers WR. The biology and clinical relevance of the PTEN tumor suppressor pathway. *J Clin Oncol* 2004; 22: 2954-63.
23. Shi Y, Gera J, Hu L, et al. Enhanced sensitivity of multiple myeloma cells containing PTEN mutations to CCI-779. *Cancer Res* 2002; 62: 5027-34.
24. Neshat MS, Mellinghoff IK, Tran C, et al. Enhanced sensitivity of PTEN-deficient tumors to inhibition of FRAP/mTOR. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 10314-9.
25. Powis G, Kirkpatrick L. Hypoxia inducible factor-1alpha as a cancer drug target. *Mol Cancer Ther* 2004; 3: 647-54.
26. Vaupel P. The role of hypoxia-induced factors in tumor progression. *Oncologist* 2004; 9 (Suppl. 5): 10-7.
27. Haase VH. Hypoxia-inducible factors in the kidney. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 291: F271-81.
28. Kaper F, Dornhoefer N, Giaccia AJ. Mutations in the PI3K/PTEN/TSC2 pathway contribute to mammalian target of rapamycin activity and increased translation under hypoxic conditions. *Cancer Res* 2006; 66: 1561-9.
29. Cunningham D, Humblet Y, Siena S, et al. Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer. *New Engl J Med* 2004; 351: 337-45.
30. Ali S, Coombes RC. Endocrine-responsive breast cancer and strategies for combating resistance. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 101-12.
31. Schips L, Zigeuner R, Ratschek M, Rehak P, Rühoff J, Langner C. Analysis of insulin-like growth factors and insulin-like growth factor I receptor expression in renal cell carcinoma. *Am J Clin Pathol* 2004; 122: 931-7.
32. Mandal M, Kim S, Younes MN, et al. The Akt inhibitor KP372-1 suppresses Akt activity and cell proliferation and induces apoptosis in thyroid cancer cells. *Br J Cancer* 2005; 92: 1899-905.
33. Kantarjian H, Sawyers C, Hochaus A, et al. Hematologic and cytogenetic responses to imatinib mesylate in chronic myelogenous leukemia. *N Engl J Med* 2002; 346: 645-52.
34. Hynes NE, Lane HA. ERBB receptors and cancer: the complexity of targeted inhibitors. *Nat Rev Cancer* 2005; 5: 341-54.
35. Croce CM. Oncogenes and cancer. *N Engl J Med* 2008; 358: 502-11.
36. Campistol JM, Eris J, Oberbauer R, et al. Sirolimus therapy after early cyclosporine withdrawal reduces the risk for cancer in adult renal transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 581-9.
37. Stallone G, Schena A, Infante B, et al. Sirolimus for Kaposi's sarcoma in renal-transplant recipients. *N Engl J Med* 2005; 352: 1317-23.
38. de Fijter JW. Use of proliferation signal inhibitors in non-melanoma skin cancer following renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22 (Suppl. 1): i23-6.
39. Gomez-Camareno J, Salcedo M, Rincon D, et al. Use of everolimus as a rescue immunosuppressive therapy in liver transplant patients with neoplasms. *Transplantation* 2007; 84: 786-91.
40. Alberu J, Schena FP, Wali R, for the sirolimus CONVERT trial study group. Lower malignancy rates in renal allograft recipients converted to sirolimus (SRL)-based, calcineurin inhibitor-free immunotherapy: 24-month results from the CONVERT trial. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 18A.
41. Motzer RJ, Escudier B, Oudard S, et al. RECORD-1 Study Group. Efficacy of everolimus in advanced renal cell carcinoma: a double-blind, randomised, placebo-controlled phase III trial. *Lancet* 2008; 372: 449-56.
42. Höpfner M, Schuppan D, Scherübl H. Treatment of gastrointestinal neuroendocrine tumors with inhibitors of growth factor receptors and their signaling pathways: recent advances and future perspectives. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 2461-73.