

TUMORI DEL RENE E DELLA VIA URINARIA: COSA DEVE SAPERE IL NEFROLOGO

Margherita Gigante¹, Raffaele Ivan Cincione^{1,2}, Elena Ranieri^{1,2}

¹Centro di Ricerca Interdipartimentale Bioagromed, Università degli Studi, Foggia

²Dipartimento di Scienze Biomediche, Cattedra di Patologia Clinica, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi, Foggia

Renal and upper urinary tract tumors: what the nephrologist should know

Urinary tract carcinomas are among the most common malignancies and are derived from neoplastic transformation of the urothelium. They can be located in the lower (bladder, urethra) or upper (pyelocaliceal cavities, ureter) urinary tract. Urothelial carcinomas are the fourth most common cancer type after prostate or breast cancer, lung cancer, and colorectal cancer. Bladder cancer accounts for 90-95% of urothelial carcinomas and it is the most common malignancy of the urinary tract. Renal cancer also belongs to the urothelial carcinomas and is a relatively uncommon solid tumor, accounting for about 3% of all adult malignancies, although its incidence is on the rise. The most common histological subtype, renal cell carcinoma (RCC), is a clear cell carcinoma that makes up approximately 70-80% of all renal neoplasms and appears to be the only histological subtype that is partially responsive to immunotherapeutic approaches. The current review gives an overview of upper urinary tract tumors and renal cancer, in particular RCC, highlighting issues related to its molecular pathogenesis and the new immunotherapeutic approaches.

Conflict of interest: None

KEY WORDS:

Renal cell carcinoma (RCC), Urothelial carcinomas, Immunotherapy, Pathogenesis

PAROLE CHIAVE:

Carcinoma renale a cellule chiare (RCC), Carcinoma uroteliale, Immunoterapia, Patogenesi

✉ Indirizzo degli Autori:

Prof.ssa Elena Ranieri
Cattedra di Patologia Clinica
Dipartimento di Scienze Biomediche
Università degli Studi
Ospedali Riuniti di Foggia
Viale Luigi Pinto 1
71100 Foggia
e-mail: e.ranieri@unifg.it

I tumori della via escrettrice urinaria (uroteliomi) derivano dalla trasformazione neoplastica dell'urotelio, l'epitelio di rivestimento della via escrettrice urinaria che si estende dai calici renali all'uretra. Tale epitelio è costituito da: a) uno strato di cellule basali cuboidali; b) uno o più strati intermedi di cellule simili alle precedenti, ma di maggiori dimensioni; c) uno strato di cellule superficiali ancora più grandi, simili alle cellule squamose. I tumori uroteliali si possono localizzare in qualsiasi punto della cosiddetta via escrettrice urinaria e cioè la strada che porta l'urina dai reni fino alla vescica e da qui all'esterno attraverso l'uretra (1).

Circa il 90% delle neoplasie della via escrettrice urinaria si sviluppa a carico della vescica (2). Il carcinoma della vescica presenta un aumento di incidenza nei paesi industrializzati, con prevalenza nel sesso maschile (un rapporto maschi/femmine di circa 3:1). L'età media alla diagnosi è di circa 65 anni nei maschi e di poco superiore nelle femmine (3). L'incidenza annuale per età e per sesso dei tumori della

vescica mostra una crescita regolare del numero dei nuovi casi a partire dalla quarta decade per i due sessi. Alla prima diagnosi, in genere, il 74% dei casi di carcinoma della vescica si presenta come malattia localizzata; il 19% si manifesta in stadio avanzato, ma confinato allo scavo pelvico, ed infine solo il 3% ha metastasi a distanza. La neoplasia costituisce la quarta più comune causa di morte nel sesso maschile e l'ottava nel sesso femminile. Numerosi sono i fattori di rischio conosciuti. Essi includono l'esposizione a prodotti chimici occupazionali (beta-naftilamina, benzidina, 4-aminodifenile "xenilamina", auramina) ed a fattori ambientali (il fumo di sigaretta, i fattori dietetici, le infezioni croniche, l'abuso di analgesici e di farmaci citotossici, l'irradiazione dello scavo pelvico). Altro possibile fattore implicato nella genesi del carcinoma vescicale, associato con la frequenza di tumori della vescica in alcune regioni dell'Africa, è rappresentato dall'infestazione delle acque e dei cibi da parte del parassita *Schistosoma Haematobium* (Bilharziosi).

Essenzialmente, ci sono tre tipi di cancro alla vescica (4): carcinomi delle cellule transizionali che nascono nelle pareti delle cellule della vescica, carcinomi delle cellule squamose nelle pareti della vescica, e adenocarcinomi che originano dalle cellule ghiandolari. Ulteriori forme di cancro alla vescica sono identificate secondo la loro diffusione. Se il tumore è localizzato solo all'interno del muscolo della parete della vescica, esso si caratterizza come cancro superficiale, mentre i carcinomi estesi alla parete muscolare della vescica sono considerati invasivi. Il carcinoma delle cellule transizionali (CCT) è il tipo più comune di cancro della vescica e rappresenta circa il 90% dei casi. Il 70% dei CCT sono superficiali, con scarse probabilità di metastatizzare. Il 30% rimasto entra a far parte del gruppo invasivo del muscolo. Per quanto riguarda la forma meno comune di cancro alla vescica, i carcinomi delle cellule squamose rappresentano all'incirca l'8% dei casi, mentre gli adenocarcinomi soltanto l'1-2% dei casi. Naturalmente, le diverse forme di cancro della vescica rispondono in maniera diversa al trattamento, perciò l'approccio al trattamento varia da un paziente all'altro.

Tra i tumori del tratto urinario vi sono i tumori del rene. Questi sono classificati secondo il sistema redatto dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) nel 2004. La classificazione OMS 2004 definisce numerosi sottotipi di neoplasie, che presentano aspetti istopatologici, alterazioni genetiche e comportamenti clinici distinti (5). Essa è pertanto assai importante per l'inquadramento clinico e terapeutico, in particolare alla luce dei nuovi approcci chirurgici e delle nuove terapie proposti per la cura delle neoplasie renali. In questa classificazione sono inclusi sia tumori benigni, di natura epiteliale (cisti e adenoma) e connettivale (fibroangioma, fibroide, ecc.), che tumori maligni maggiormente rappresentati dal carcinoma renale (CR) che trae origine dal parenchima renale.

Il CR rappresenta la forma più comune di tumore maligno primitivo del rene e costituisce circa il 75% degli stessi: l'incidenza massima si colloca tra la VI e la VII decade di vita ed il rapporto maschio/femmina è di 2:1 (6). Ogni anno, in Europa vengono diagnosticati circa 86000 nuovi casi; in Italia 8200 (5600 uomini e 2600 donne), circa il 3% di tutte le neoplasie nella popolazione. Nel corso degli ultimi decenni, si è osservato un aumento dell'incidenza nei paesi industrializzati. Circa il 60% dei carcinomi si osserva oltre i 65 anni ed il rischio di ammalarsi di cancro renale è circa il doppio nei maschi rispetto alle femmine.

Tra i fattori eziologici responsabile del CR vanno annoverati il tabacco, l'obesità e la dieta, esposizioni professionali, farmaci, radiazioni ionizzanti, fattori ormonali e riproduttivi e patologie pregresse come l'ipertensione arteriosa (7). Esiste una predisposizione familiare e genetica allo sviluppo del CR. Una sto-

ria familiare di cancro renale è associata ad un rischio 4 volte superiore rispetto a quello della popolazione generale. Gli studi di genetica dei tumori renali hanno portato ad una migliore comprensione dei meccanismi biologici responsabili del loro sviluppo e della loro progressione.

Tra i sottotipi istologici, la forma più comune di CR è il RCC. Nell'RCC, l'alterazione altamente specifica è la delezione del cromosoma 3p, che è stata mappata in corrispondenza di tre distinte regioni cromosomiche, 3p14 (gene FHIT), 3p21.3 e 3p25 (gene VHL) (8). Alterazioni a carico del gene VHL appaiono essere responsabili di circa il 60% dei carcinomi a RCC. In condizioni di normossia e normale funzione del gene VHL, il suo prodotto proteico lega il fattore di trascrizione indotto dall'ipossia 1 alfa (HIF-1 α), determinandone l'ubiquitinazione e la degradazione nel citoplasma. In condizioni di ipossia o di mutazione/alterata funzione di VHL, HIF-1 α , espresso costitutivamente, dimerizza con la subunità HIF-1 β trasloca nel nucleo e, legandosi alle sequenza consenso, determina la trascrizione di geni proangiogenici indotti dall'ipossia, quali VEGF, PDGF, TGF α ed Anidraasi Carbonica IX. Tale *pathway* ha consentito l'individuazione di potenziali bersagli per la terapia dell'RCC, come il bevacizumab, anticorpo umanizzato inibitore del VEGF, e di più recente utilizzo il sorafenib e sunitinib, inibitori di recettori chinatici quali il recettore 2 del VEGF (VEGFR2) e il recettore β del PDGF (PDGFR β). Un analogo esterificato della rapamicina, il CCI-779, è attualmente oggetto di studio come possibile agente antitumorale (9). CCI-779 inibisce una serina-treonina-chinasi omologa a PI3K, chiamata *mammalian target of rapamycin* (mTOR), bloccando tutte le cascate a valle di mTOR che, normalmente, stimolano la progressione del ciclo cellulare, la proliferazione, la sopravvivenza, la mobilità e l'angiogenesi (10). Studi effettuati nel nostro laboratorio, hanno dimostrato che il CCI-779 è in grado di inibire l'angiogenesi in quanto inibisce la differenziazione e la proliferazione delle cellule progenitriche endoteliali (EPC) che giocano un ruolo significativo nell'angiogenesi e vasculogenesi tumorale (dati non mostrati).

Il CR, come la maggior parte dei tumori maligni, è una malattia eterogenea per molti aspetti. La nefrectomia radicale rimane il trattamento di scelta per questa neoplasia tuttavia, il tempo mediano di recidiva dopo la nefrectomia varia dai 15 ai 18 mesi e l'85% delle recidive avviene entro 3 anni. Pertanto è evidente la necessità di una terapia adiuvante efficace per pazienti con malattia chirurgicamente resecabile. Il RCC presenta una cellularità neoplastica molto resistente ai tradizionali regimi di chemioterapia e radioterapia convenzionale mentre appare rispondere con una certa consistenza ad approcci d'immunoterapia (11). L'immu-

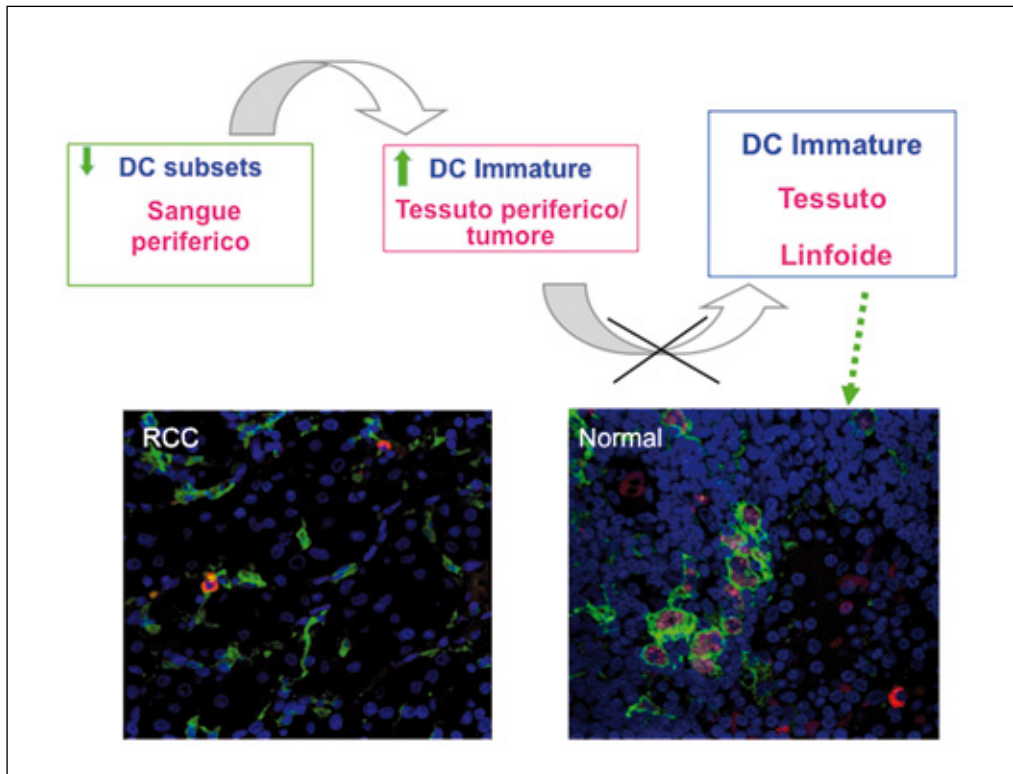


Fig. 1 - Alterazione funzionale delle DC in pazienti con RCC. Il numero delle sottopopolazioni di DC nel sangue periferico dei pazienti risulta significativamente più basso rispetto a quello di soggetti sani. Al contrario, le DC sono presenti in elevata percentuale all'interno del tessuto tumorale dove esibiscono un fenotipo immaturo, incapace di migrare nei linfonodi.

Come mostrato nelle immagini di microscopia confocale, nei linfonodi dei pazienti RCC vi è un ridotto numero di DC di origine mieloide (CD11c⁺/verde), in forma immatura (CD83⁻/rosso) rispetto ai linfonodi di donatori sani. Ciò è in contrasto con lo stato fisiologico in cui le DC mature presentano l'Antigene ai linfociti T naive e generano una forte risposta T cellulare.

noterapia è disponibile dagli anni '80. I trattamenti più ampiamente studiati ed utilizzati in terapia adiuvante, comprendono la somministrazione di interferone alfa (IFN- α), l'interleuchina 2 (IL-2), usati singolarmente od in combinazione (12). L'immunoterapia basata sulle citochine ha fornito risultati molto favorevoli su un gruppo consistente di pazienti (13). Questi dati suggeriscono che il RCC è un tumore che si può definire di tipo "immunologico" in quanto il sistema immunitario di tali malati si è dimostrato capace di attivare una minima risposta spontanea anti-tumorale la quale, tuttavia, risulta essere anergica, non funzionale e con tendenza ad andare in apoptosi. Infatti, studi effettuati dal nostro gruppo di ricerca hanno messo in evidenza che i linfociti T CD8⁺ dei pazienti RCC, sebbene riconoscano la cellula tumorale, non sono efficaci nell'indurre una risposta immune efficace contro di esso. Mediante tecnologia *microarray*, sono state rilevate differenze a livello di espressione di geni coinvolti nella proliferazione, nel ciclo cellulare e nell'apoptosi che portano ad un cambiamento fenotipico e funzionale dei linfociti T CD8⁺ responder nei pazienti affetti da RCC. Tra i geni analizzati sono stati presi in considerazione quelli coinvolti nella *pathway* JAK3/STAT5-STAT6. Un ruolo chiave è svolto da JAK3 che regola un ampio spettro di processi cellulari quali la proliferazione e la differenziazione dei linfociti T. Nei pazienti RCC sono stati riscontrati varia-

zioni nucleotidiche del gene JAK3, che "scompensano" i meccanismi che regolano la proliferazione e differenziazione dei linfociti T CD8⁺.

Un altro meccanismo di "escape" immunologico da parte dell'RCC può essere rappresentato da una non efficiente stimolazione dei linfociti T da parte delle cellule presentanti l'antigene (APC). Le cellule dendritiche (DC) sono le più potenti APC e svolgono un ruolo centrale nella regolazione, maturazione e mantenimento della risposta immune cellulare contro patogeni ed antigeni tumorali (14). Come illustrato nella Figura 1, le DC analizzate nel sangue periferico, tessuto e linfonodi di questi pazienti, hanno mostrato alterazioni nel numero e nello stato di attivazione/maturazione, quindi non sono in grado di generare efficientemente la risposta immune (15).

Data l'intrinseca capacità delle DC di stimolare una potente risposta immune, sono state integrate in approcci d'immunoterapia attiva. Le DC possono essere generate mediante un approccio "ex vivo" dal sangue dei pazienti RCC ed utilizzati come vaccini terapeutici (16). Il metodo comunemente usato, è basato sulla generazione di DC immature da monociti di sangue periferico (CD14⁺) dopo coltura per 6 giorni con GM-CSF ed IL-4. Le DC così ottenute, vengono indotte a maturazione dopo l'aggiunta di agenti stimolatori quali CD40L, LPS o cocktail di citochine (IL-6, IL-1beta,

TNF-alfa, PGE-2) e "caricate" con il format antigenico specifico. Abbiamo dimostrato che la somministrazione endovenosa di questi vaccini in pazienti RCC, gli stessi in cui avevamo osservato alterazioni del numero e funzionalità delle DC circolanti, era in grado di "ri-stabilire" una funzionale ed efficace risposta immune (15). Inoltre, obiettivo dei nostri studi è stato quello di stabilire il migliore protocollo per ottenere vaccini basati su DC altamente efficaci. Sono stati valutati gli effetti dell'IFN- α , sulla differenziazione/attivazione delle DC, utilizzando varie combinazioni di citochine includenti IFN- α : IFN-DC ed α -DC-1. Gli esperimenti hanno evidenziato che le "IFN- α -conditioned DC" promuovono efficacemente una più potente risposta T cellulare rispetto alle DC generate con il metodo classico, e possano avere potenzialità particolari per lo sviluppo di una nuova strategia immunoterapica in pazienti RCC (17). Nel complesso, studi clinici che utilizzano vaccini in pazienti RCC hanno fornito risultati promettenti, espressi in termini di sopravvivenza (18). Tuttavia, una limitazione a questo approccio, che ne riduce l'efficacia, è rappresentato dal fatto che il RCC viene spesso diagnosticato tardivamente ad uno stadio in cui è presente invasione locale o metastasi a distanza. Pertanto, la ricerca di *biomarkers* validati per la diagnosi precoce di CR rappresenta un ambizioso obiettivo in quanto aumenterebbe le prospettive di sopravvivenza dei pazienti.

Il recente sviluppo della proteomica quale scienza in grado di analizzare il contenuto proteico globale di un campione biologico, ha fornito nuovi ed incoraggianti strumenti (tra cui l'analisi SELDI-TOF/MS) per la ricerca di biomarcatori precoci di malattia renale e sistemica (19). Nei nostri laboratori è stata utilizzata la tecnologia SELDI-TOF/MS per l'analisi del proteoma urinario di pazienti RCC, pre- e post-ablazione chirurgica, al fine di verificare la presenza di un pannello

di putativi *biomarkers* di patologia (20). Nelle urine dei pazienti RCC è stata evidenziata l'esistenza di uno specifico set di marcatori proteici sensibili e specifici, la cui purificazione e sequenziamento potrà contribuire a fornire nuovi strumenti per la diagnosi precoce ed il miglioramento del *management* terapeutico di tale tumore contribuendo, pertanto, ad aumentare la qualità e la speranza di vita dei pazienti affetti.

RIASSUNTO

I carcinomi delle vie urinarie sono tra i più comuni tipi di tumori maligni e sono derivati dalla trasformazione neoplastica dell'urotelio. Possono essere localizzati nel tratto inferiore (vescica, uretra) o nel tratto superiore (cavità pyelocaliceale, uretere). I carcinomi uroteliali sono quarti come incidenza, dopo il carcinoma della prostata, della mammella, dei polmoni e coloretale. Il tumore della vescica rappresenta il 90-95% dei carcinomi uroteliali ed è la neoplasia più comune del tratto urinario. Appartengono ai carcinomi uroteliali vi è il carcinoma renale. Esso è un tumore solido relativamente raro, che rappresenta circa il 3% di tutte le neoplasie degli adulti, tuttavia questo tasso di incidenza è in aumento. Il più comune sottotipo istologico è il carcinoma renale a cellule chiare (RCC), che costituisce circa il 70-80% di tutte le neoplasie renali e sembra essere l'unico sottotipo istologico che risponde agli approcci di immunoterapia. Il presente lavoro offre una panoramica sui tumori del tratto superiore urinario e del rene, in particolare sul RCC, evidenziando gli aspetti relativi alla sua patogenesi molecolare e ai nuovi approcci immunoterapeutici.

DICHIARAZIONE DI CONFLITTO DI INTERESSI

Gli Autori dichiarano di non avere conflitto di interessi.

BIBLIOGRAFIA

1. Amin MB. Histological variants of urothelial carcinoma: diagnostic, therapeutic and prognostic implications. *Mod Pathol* 2009; 22 (Suppl. 2): S96-118.
2. Kaufman DS, Shipley WU, Feldman AS. Bladder cancer. *Lancet* 2009; 374: 239-49.
3. Madeb R, Golijanin D, Knopf J, Messing EM. Current state of screening for bladder cancer. *Expert Rev Anticancer Ther* 2007; 7: 981-7.
4. Knowles MA. Molecular subtypes of bladder cancer: Jekyll and Hyde or chalk and cheese? *Carcinogenesis* 2006; 27: 361-73.
5. Srigley JR, Delahunt B. Uncommon and recently described renal carcinomas. *Mod Pathol* 2009; 22 (Suppl. 2): S2-23.
6. Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM. GLOBOCAN 2002 Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide IARC Cancer Base No. 5, version 2.0 IARC Press, Lyon 2004.
7. Dhote R, Thiounn N, Debré B, Vidal-Trean G. Risk factors for adult renal cell carcinoma. *Urol Clin North Am* 2004; 31: 237-47.
8. Sutphin PD, Chan DA, Li JM, Turcotte S, Krieg AJ, Giacca AJ. Targeting the loss of the von Hippel-Lindau tumor suppressor gene in renal cell carcinoma cells. *Cancer Res* 2007; 67: 5896-905.
9. Kapoor A, Figlin RA. Targeted inhibition of mammalian tar-

- get of rapamycin for the treatment of advanced renal cell carcinoma. *Cancer* 2009; 115: 3618-30.
10. Dudkin L, Dilling MB, Cheshire PJ, et al. Biochemical correlates of mTOR inhibition by the rapamycin ester CCI-779 and tumor growth inhibition. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 1758-64.
 11. Rini BI, Campbell SC, Rathmell WK. Renal cell carcinoma. *Curr Opin Oncol* 2006; 18: 289-96.
 12. Atzpodien J, Schmitt E, Gertenbach U, et al. Adjuvant treatment with interleukin-2- and interferon-alpha2a-based chemoimmunotherapy in renal cell carcinoma post tumour nephrectomy: results of a prospectively randomised trial of the German Cooperative Renal Carcinoma Chemoimmunotherapy Group (DGCIN). *Br J Cancer* 2005; 92: 843-6.
 13. Bleumer I, Oosterwijk E, De Mulder P, Mulders PF. Immunotherapy for renal cell carcinoma. *Eur Urol* 2003; 44: 65-75.
 14. Gigante M, Storkus WJ, Ranieri E. Dendritic cells and posttransplant malignancies. *International Transplantation Updates*, Permyer Publications, 2008.
 15. Gigante M, Blasi A, Loverre A, et al. Dysfunctional DC subsets in RCC patients: ex vivo correction to yield an effective anti-cancer vaccine. *Mol Immunol* 2009; 46: 893-901.
 16. Ranieri E, Gigante M, Storkus WJ, Gesualdo L. Translational mini-review series on vaccines: Dendritic cell-based vaccines in renal cancer. *Clin Exp Immunol* 2007; 147: 395-400.
 17. Gigante M, Mandic M, Wesa AK, et al. Interferon-alpha (IFN-alpha)-conditioned DC preferentially stimulate type-1 and limit Treg-type *in vitro* T-cell responses from RCC patients. *J Immunother* 2008; 31: 254-62.
 18. Schwaab T, Schwarzer A, Wolf B, et al. Clinical and immunologic effects of intranodal autologous tumor lysate-dendritic cell vaccine with Aldesleukin (Interleukin 2) and IFN- α 2a therapy in metastatic renal cell carcinoma patients. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 4986-92.
 19. Wong SC, Chan CM, Ma BB, et al. Advanced proteomic technologies for cancer biomarker discovery. *Expert Rev Proteomics* 2009; 6: 123-34.
 20. Papale M, Pedicillo MC, Thatcher BJ, et al. Urine profiling by SELDI-TOF/MS: monitoring of the critical steps in sample collection, handling and analysis. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2007; 856: 205-13.