

### SOMMARIO

- **Studio in fase 1 della immunotossina anti-mesotelina SSP1 in combinazione con cisplatino e pemetrexed nel trattamento del Mesotelioma Pleurico e correlazione tra la risposta alla terapia e i livelli sierici di mesotelina, megacariocyte potentiating factor e CA125**
- **Il gene homeobox EMX2 è un marker prognostico e predittivo nel mesotelioma pleurico maligno**
- **CD157 promuove l'aggressività del mesotelioma pleurico maligno e predice uno scarso risultato clinico.**

---

### **Studio in fase 1 della immunotossina anti-mesotelina SSP1 in combinazione con cisplatino e pemetrexed nel trattamento del Mesotelioma Pleurico e correlazione tra la risposta alla terapia e i livelli sierici di mesotelina, megacariocyte potentiating factor e CA125**

A cura della Dott.ssa ***Ombretta Melaiu***

***Razionale e obiettivi:*** Il mesotelioma pleurico maligno (MPM) è una malattia estremamente aggressiva e con una prognosi sfavorevole. La terapia di prima linea per i pazienti non sottoponibili a chirurgia si basa sulla combinazione di cisplatino e pemetrexed. Tuttavia, i tassi di risposta alla chemioterapia sono modesti, pari al 41% e la sopravvivenza globale media è di 12,1 mesi. Questo sottolinea la necessità di nuove terapie. A tale proposito, un attraente bersaglio della terapia tumore-specifica per il mesotelioma è la mesotelina, una glicoproteina presente sulle cellule mesoteliali che rivestono la pleura, il peritoneo ed il pericardio. E' stata creata una immunotossina ricombinante (SS1P), costituita da un frammento anticorpale murino anti-mesotelina unito ad una porzione troncata dell'esotossina A di Pseudomonas. E' stato visto che in topi xenotrapianti l'immunotossina SS1P esercitava un'attività antitumorale modesta di per sé; tuttavia, quando combinato con la chemioterapia standard, veniva osservata una notevole sinergia del trattamento. Sulla

base di questi dati preclinici, gli autori hanno progettato uno studio per determinare se un tale effetto antitumorale sinergico (basato sulla combinazione tra SS1P e chemioterapia standard) osservato nei topi poteva essere anche ottenuto nei pazienti con MPM. L'obiettivo primario di questo studio era quello di determinare la sicurezza e la dose massima tollerata (MTD) di SS1P in combinazione con pemetrexed e cisplatino in pazienti con stadio avanzato di MPM, naïve alla chemioterapia. Gli obiettivi secondari includevano la valutazione dell'efficacia della misurazione dei livelli sierici di mesotelina, megacariocyte potentiating factor (MPF) e CA125 come biomarcatori utili per monitorare la risposta del tumore alla terapia.

**Disegno dello studio:** sono stati inclusi nello studio 24 pazienti con mesotelioma di tipo epiteliomorfo o bifasico, non resecabile, allo stadio III o IV, naïve alla chemioterapia e con funzionalità degli organi normali. Pemetrexed (500 mg/m<sup>2</sup> al giorno 1) e cisplatino (75 mg/m<sup>2</sup> al giorno 1) sono stati somministrati ogni 3 settimane per 6 cicli con dosi crescenti di SS1P somministrata per via endovenosa ai giorni 1, 3, e 5 durante i cicli 1 e 2. Prima dell'inizio della terapia i livelli di mesotelina sono stati valutati tramite la tecnica dell'immunoistochimica. I livelli sierici di mesotelina, MPF e CA125 sono stati misurati con kits preposti. La risposta tumorale è stata valutata ogni 6 settimane.

**End point:** determinare la sicurezza e la dose massima tollerata della immunotossina SS1P in combinazione con pemetrexed e cisplatino nei pazienti di mesotelioma pleurico maligno in stadio avanzato.

**Risultati:** Dei 24 pazienti che hanno ricevuto il trattamento in analisi, sono stati considerati valutabili per la risposta alla terapia 20. Tre pazienti si sono ritirati dal processo ed un paziente è deceduto durante la terapia prima della valutazione della risposta terapeutica. Dei 20 pazienti valutabili, il 60% ha dato una risposta parziale, il 15% ha avuto una stabilizzazione della malattia ed il 20% è andato incontro ad una malattia progressiva.

13 pazienti hanno ricevuto la dose massima tollerata: di questi 10 hanno registrato una parziale risposta alla terapia, 1 una stabilizzazione della stessa, mentre i restanti due hanno evidenziato progressione tumorale. La mediana globale di sopravvivenza dei pazienti valutabili è risultata di 13,6 mesi. La dose massima tollerata di SS1P è pari a 45 mcg / kg. Tossicità di grado 3 associate con SS1P hanno incluso ipoalbuminemia (21%), mal di schiena (13%), e ipotensione (8%). Per quanto riguarda i livelli di mesotelina, una forte espressione della proteina è stata rilevata nel 90% delle cellule tumorali di 8 pazienti: per 6 di questi è stata valutata la risposta alla terapia registrando progressione tumorale per uno, stabilizzazione per un altro e parziale risposta per i 4 restanti. Altri tre pazienti avevano la mesotelina espressa nel 35-65% delle cellule

tumorali. Per uno di questi ultimi è stata registrata la stabilizzazione della malattia e per gli altri due parziale risposta alla terapia. Gli esami radiologici per valutare la risposta dei pazienti alla terapia in sperimentazione sono stati associati con la misurazione dei livelli sierici di mesotelina, MFP e CA125, registrando un loro significativo decremento. Complessivamente, la mesotelina ha mostrato un 70% di accuratezza come biomarcatore di monitoraggio, classificando correttamente 14 dei 20 pazienti in studio; MFP ha mostrato un 75% di accuratezza, classificando correttamente 15 pazienti; CA125 ha mostrato un 60% di accuratezza, classificando correttamente 12 pazienti.

**Discussione:** E' stato registrato un tasso di risposta obiettiva del 41% in pazienti che hanno ricevuto pemetrexed e cisplatino confrontati con il 17% in pazienti che hanno ricevuto solo cisplatino, utilizzato come singolo agente chemioterapico. La combinazione di SS1P con cisplatino e pemetrexed ha portato a tassi di risposta del 60% in tutti i pazienti valutabili e del 77% nei pazienti che hanno ricevuto la dose massima tollerata. Sebbene promettente, i tassi di risposta riportati in questo studio dovrebbero essere interpretati comunque con cautela, trattandosi di una fase 1 in cui è stato analizzato un numero limitato di pazienti. Gli effetti collaterali più comuni legati alla somministrazione dell'immunotossina SS1P hanno incluso aumento di peso, edema, ipoalbuminemia, e dolore pleurico. Il dolore pleurico toracico è causato da una risposta infiammatoria innescata dal legame della immunotossina con la mesotelina endogena normalmente espressa sulle cellule mesoteliali della pleura. Il dolore pleurico è stato riscontrato sia durante che entro poche ore l'infusione di SS1P, ma è risultato transitorio ed i pazienti hanno risposto bene agli analgesici narcotici. Altro evento avverso SS1P-correlato è rappresentato dalla sindrome da perdita vascolare, ma fortunatamente mite e non dose-limitante. Strategie da esplorare al fine di ridurre al minimo la immunogenicità di SS1P e permettere così ripetute somministrazioni della stessa, potrebbero essere costituite dal tentativo di modificare la sua struttura proteica, in modo da minimizzare la formazione di anticorpi neutralizzanti l'attività della immunotossina stessa.

La valutazione radiologica per monitorare la progressione di tale neoplasia è notoriamente difficile: da qui la necessità di avvalersi di efficaci biomarcatori. Numerosi studi hanno indicato i livelli sierici di mesotelina, MPF, e CA125 come potenziali markers di risposta per il mesotelioma. Gli autori confermano tali evidenze e sono stati in grado di dimostrare che i cambiamenti dei livelli sierici di mesotelina e MPF danno risultati maggiormente accurati rispetto a quelli ottenibili con la misurazione di CA125.

Sforzi traslazionali in corso sono adesso focalizzati sulla minimizzazione della immunogenicità di SS1P e sulla ottimizzazione dell'efficacia di questa

combinazione terapeutica.

**Conclusioni:** In conclusione, l'immunotossina SS1P somministrata insieme a pemetrexed e cisplatino risulta sicura e ben tollerata, mostrando una significativa attività antitumorale nei pazienti con mesotelioma pleurico non resecabile e in stadio avanzato. Inoltre, i livelli sierici di mesotelina, MFP e CA125 correlano con la risposta tumorale alla terapia.

**Parole chiave:** mesotelina, mesotelioma pleurico, SS1P, immunotossina.

**Riferimento Bibliografico:** Hassan R, et al., Cancer. 2014 Jul 2. doi: 10.1002/cncr.28875.

## **Il gene homeobox *EMX2* è un marker prognostico e predittivo nel mesotelioma pleurico maligno**

### **A cura della *Dott.ssa Elisa Barone***

**Razionale e obiettivi:** *EMX2* svolge un'importante funzione regolatoria nel pathway di Wnt durante lo sviluppo. *EMX2* appartiene alla famiglia di geni homeobox i cui membri regolano la morfogenesi e la differenziazione cellulare durante l'embriogenesi attivando o reprimendo l'espressione di geni target. È stato recentemente dimostrato che *EMX2* agisce da soppressore tumorale nell'adenocarcinoma polmonare attraverso la regolazione del pathway di wnt. Basandosi su queste osservazioni, il gruppo dell'Università della California coordinato da Etienne Giroux Leprieur, ha ipotizzato che *EMX2* possa essere un importante biomarker nel mesotelioma.

**Disegno dello studio:** I campioni di MPM (50) sono stati ottenuti da pazienti che tra il 1999 e il 2005 hanno subito un intervento chirurgico. I campioni di tessuto tumorale e di tessuto normale adiacente sono stati raccolti immediatamente dopo la resezione chirurgica e congelati a -170°C. Successivamente è stato estratto l'RNA totale, è stato retrotrascritto a cDNA ed è stata valutata l'espressione di *EMX2* attraverso Real-time PCR quantitativa. Inoltre è stata effettuata colorazione immunoistochimica per visualizzare l'espressione proteica di *EMX2* su fettine di tessuto tumorale. Infine è stata analizzata la correlazione tra i dati di espressione di *EMX2* con i dati clinici relativi allo stadio del tumore, al sito primario e alla presenza di metastasi ai linfonodi

**End point:** Valutare il ruolo predittivo dell'espressione di *EMX2* come biomarker nel mesotelioma pleurico maligno.

**Risultati:** Alti livelli d'espressione di *EMX2* sono stati osservati in 31 pazienti; il dato interessante è che di 18 pazienti con MPM allo stadio II, 15 pazienti appartenevano al gruppo con alti livelli di *EMX2*. L'espressione proteica di *EMX2* è stata confermata su 6 campioni attraverso colorazione immunoistochimica ed è stato osservato che i livelli di espressione proteica in quei campioni erano coerenti ai livelli di mRNA riscontrati attraverso Real-time PCR. Bassi livelli di *EMX2* sono risultati significativamente associati a una diminuzione della sopravvivenza globale (OS, overall survival) e ad una diminuzione della sopravvivenza senza progressione della malattia (PFS, progression-free survival, indicativa dell'efficacia terapeutica). Bassi livelli di espressione di *EMX2* sono risultati associati a caratteristiche clinicopatologiche quali la dimensione del tumore. Pazienti non fumatori mostravano livelli più alti di *EMX2*. Il confronto dell'espressione di *EMX2* in tessuti normali e tumorali ha dimostrato una significativa diminuzione dell'espressione di *EMX2* nei tessuti tumorali. Tra i pazienti che non avevano ricevuto una terapia neo-adiuvante (NC) pre-operatoria la sopravvivenza senza

progressione della malattia era maggiore tra i pazienti con alti livelli di *EMX2*.

**Discussione:** Recenti lavori effettuati da questo gruppo di ricerca hanno evidenziato il ruolo di *EMX2* come soppressore tumorale nel carcinoma polmonare non a piccole cellule. In questo lavoro si è voluto indagare sul ruolo di *EMX2* nel MPM. Non solo è stato osservato che i livelli d'espressione di *EMX2* sono downregolati nel tessuto tumorale rispetto al tessuto normale adiacente ma è stata osservata una correlazione inversa con il sistema di stadiazione IMIG (International Mesothelioma Interest Group system). L'analisi della correlazione tra l'espressione di *EMX2* e la PFS in gruppi di pazienti separati in base allo stadio del tumore ha permesso di affermare che il potere prognostico di *EMX2* è indipendente; questo dimostra che l'espressione di *EMX2* è in grado di predire l'esito della malattia come biomarker prognostico in gruppi di pazienti in cui i metodi convenzionali di stadiazione non sono informativi. Recentemente l'uso di terapia pre-operatoria nel MPM è diventata pratica comune ma non offre sempre un beneficio in termini di sopravvivenza; anzi a volte interferisce con la radioterapia e la terapia chirurgica, mettendo quindi in luce la necessità di identificare quali pazienti potrebbero avere maggior beneficio dalla NC. In questo studio tra i pazienti che non avevano ricevuto NC, quelli con alti livelli di *EMX2*, avevano una miglior sopravvivenza senza progressione della malattia (PFS) rispetto a quelli con bassi livelli di *EMX2* mentre tra quelli che avevano ricevuto NC i pazienti con più alti livelli di *EMX2* hanno mostrato una peggiore PFS. Queste osservazioni suggeriscono che alti livelli di *EMX2* sono indicativi di un gruppo di pazienti in cui questo tipo di terapia dovrebbe essere evitato. Questo studio dimostra che *EMX2* è downregolato nel tessuto tumorale ed in particolar modo nei casi avanzati di MPM e che può essere utilizzato come un importante biomarcatore prognostico e predittivo in grado di offrire un significativo miglioramento nel trattamento e nella stadiazione del MPM.

**Conclusioni:** *EMX2* è downregolato nei casi avanzati di mesotelioma pleurico maligno e può essere un marcatore molecolare prognostico e predittivo di sopravvivenza senza progressione della malattia dopo trattamento (PFS).

**Parole chiave:** *EMX2*; Mesotelioma; chemioterapia; sopravvivenza; marker predittivi; prognosi.

**Riferimento Bibliografico:** Giroux Leprieur E, Hirata T et al. Lung cancer 2014 Jun 30 doi: 10.1016/j.lungcan.2014.06.018. [Epub ahead of print]

## **CD157 promuove l'aggressività del mesotelioma pleurico maligno e predice uno scarso risultato clinico**

**A cura della** *Dott.ssa Elisa Paolicchi*

**Razionale e obiettivi:** Il mesotelioma maligno è un tumore mortale la cui diagnosi e trattamento rimangono molto difficili da comprendere. Vi è un urgente bisogno di far avanzare la comprensione della biologia del mesotelioma e di identificare nuovi marcatori molecolari per la migliore gestione dei pazienti. Il CD157 è una glicoproteina di membrana correlata con la progressione e la differenziazione mesenchimale nel cancro ovarico. L'origine embrionale comune delle cellule epiteliali ovariche e di quelle mesoteliali e le somiglianze evidenti tra cancro ovarico e mesoteliale ha spinto i ricercatori del laboratorio di Immunogenetica, del dipartimento di scienze mediche dell'Università di Torino a studiare il ruolo biologico e il significato clinico di CD157 nel mesotelioma pleurico maligno (MPM).

**Disegno dello studio:** Le sezioni di tessuto sono state retrospettivamente ottenute da 81 campioni (37 epitelioidi; 44 bifasici) da pazienti operati per MPM tra il 1998 e il 2005 presso l'Ospedale San Giovanni (Torino, Italia). A causa della sua origine chirurgica, questo gruppo non riflette la prevalenza attesa del tipo istologico epitelioidale. L'esposizione occupazionale all'amianto è stata riscontrata in 41 pazienti. La sopravvivenza mediana globale (OS) era di 18 mesi. 20 biopsie toracoscopiche di sarcomatoide MPM diagnosticati tra il 2004 e il 2010 sono state ottenute dall'Ospedale San Luigi (Orbassano, Italia). Tutti i tessuti sono stati valutati per l'espressione di CD157 con l'immunoistochimica. Sulle linee cellulari di MPM è stato effettuato il silenziamento di CD157 attraverso shRNA, il silenziamento è stato confermato con l'utilizzo della RT-qPCR e Western Blot. Gli studi funzionali sono stati effettuati con "Cells proliferation assay", "Colony forming assay", "Soft agar assay", "Wound healing assay", "Chemotaxis and invasion assay". Infine per verificare la sensibilità ai farmaci le cellule sono state trattate per 8 h con 10 nM di rapamicina da sola o in seguito all'aggiunta di cisplatino o carboplatino alle concentrazioni indicate. La vitalità cellulare è stata valutata a 48 h.

**End point: Studiare la rilevanza clinica e il ruolo biologico di CD157 nel MPM.**

**Risultati:** L'espressione del mRNA e della proteina CD157 è stata rilevata in quattro delle nove linee cellulari di MM di diverso isotipo e nell'85,2% dei campioni di tessuto resecato chirurgicamente di MPM (32/37 epitelioidi; 37/44 bifasica). L'espressione di CD157 correla con l'aggressività clinica nel MPM bifasico.

Infatti, dati ottenuti con l'analisi multivariata mostrano che l'elevata espressione di CD157 è un fattore prognostico negativo e un predittore

indipendente di una bassa sopravvivenza per i pazienti con MPM bifasico (HR = 2.433, 95% CI 1,120-5,284; p = 0,025). Nelle linee cellulari di mesotelioma l'iperespressione di CD157, (nelle linee cellulari che erano negative per CD157), oppure il silenziamento, (nelle linee che erano positive per l'espressione di CD157) modificavano la crescita, la migrazione, l'invasione e la cancerogenicità delle cellule, in particolare nelle linee cellulari di tipo bifasico. In queste cellule, l'espressione di CD157 è stata associata con una maggiore attivazione della via molecolare di mTOR, con conseguente diminuita sensibilità al platino. Inoltre, una tendenza verso una ridotta sopravvivenza è stata osservata nei pazienti con MPM bifasico che ricevevano chemioterapia a base di platino post-operatoria.

**Discussione:** Nel complesso, i nostri risultati *in vitro* ed *in vivo* puntano a CD157 come un marcatore promettente per l'efficacia del trattamento con i composti del platino in pazienti con MPM bifasico. Finora, la disponibilità di affidabili markers predittivi di risposta alla terapia è scarsa, tra questi il CD26 sta emergendo come un promettente candidato da quando la sua espressione è stata trovata associata con una migliore risposta alla chemioterapia. Dato che il mesotelioma rappresenta una grande sfida sia per i clinici che per ricercatori dovuta alla sua prognosi infausta ed alla marcata resistenza alle terapie correnti, l'identificazione di marcatori che individuerà un gruppo di pazienti con maggiori probabilità di beneficiare di un certo regime chemioterapico specifico è un obiettivo importante. Questi dati evidenziano un ruolo fondamentale di CD157 in molteplici aspetti della progressione del MPM e suggeriscono che il CD157 ha un potenziale clinico come marcatore per la stratificazione dei pazienti con MPM bifasico in diversi gruppi prognostici. Inoltre, CD157 è in grado di selezionare pazienti con un MPM altamente aggressivo che potrebbero beneficiare di un particolare approccio chemioterapico includendo anche inibitori di mTOR.

**Conclusione:** Questi risultati indicano che il CD157 è implicato in molteplici aspetti della progressione del MPM e suggeriscono che l'espressione di CD157 potrebbe essere utilizzata per stratificare i pazienti in diversi gruppi prognostici o per selezionare pazienti che potrebbero beneficiare di un particolare approccio chemioterapico.

**Parole chiave:** Malignant Pleural mesothelioma, CD157, chemioterapia

**Riferimento Bibliografico:** Ortolan E Oncotarget. 2014 Jul 8.

## NEWSLETTER GRUPPO ITALIANO MESOTELIOMA (GIMe)

**Direttore:** Prof. Luciano Mutti (Direttore del Dipartimento di Medicina Generale e del Laboratorio di Oncologia Clinica, Vercelli/ Ospedale di Borgosesia)

**Coordinatrici:** Dott.ssa Ombretta Melaiu (Università di Pisa)  
Dott.ssa Elisa Paolicchi (Università di Pisa)

**Web editor:** Lillo Mendola

### Hanno contribuito a questo numero:

Dott.ssa Ombretta Melaiu (Università di Pisa) Dott.ssa Elisa Paolicchi (Università di Pisa) Dott.ssa Elisa Barone (Università di Pisa)

Supervisione Prof. Luciano Mutti (Direttore del Dipartimento di Medicina Generale e del Laboratorio di Oncologia Clinica, Vercelli/ Ospedale di Borgosesia)

Contatti: luciano.mutti@hotmail.it,  
ombretta.melaiu@for.unipi.it  
elisa.paolicchi@for.unipi.it

### **DISCLAMER – Leggere attentamente**

Gli autori e redattori della newsletter del Gruppo Italiano Mesotelioma sono Medici, Farmacisti e Biologi, e quanto riportato deriva da affidabili ed autorevoli fonti e studi scientifici, accompagnato dai relativi estratti o riferimenti bibliografici alle pubblicazioni. In ogni caso, le informazioni fornite, le eventuali nozioni su procedure mediche, posologie, descrizioni di farmaci o prodotti d'uso sono da intendersi come di natura generale ed a scopo puramente divulgativo ed illustrativo. Non possono, pertanto, sostituire in nessun modo il consiglio del medico o di altri operatori sanitari.

Nulla su <http://www.gime.it/>, sulle relative newsletter, e-mails, o qualsiasi dei progetti del GIMe, può essere interpretato come un tentativo di offrire o rendere un'opinione medica o in altro modo coinvolta nella pratica della Medicina. Il gruppo italiano mesotelioma, i suoi Soci od altre parti ad esso connesse non possono, quindi, essere ritenuti responsabili circa risultati o conseguenze di qualunque utilizzo o tentato utilizzo di una qualsiasi delle informazioni riportate.

Il servizio è totalmente gratuito e non esistono conflitti di interesse o finalità di lucro.

Non sono ammesse la divulgazione e la diffusione della newsletter "GIMe" senza precedente autorizzazione scritta del Gruppo Italiano Mesotelioma.

### **Sostieni il Gruppo Italiano Mesotelioma (GIMe)!**

Il GIMe è un'associazione senza scopo di lucro, **sostienilo con il tuo 5 per mille dell'IRPEF** per destinare tali fondi a Borse di studio e di ricerca per giovani ricercatori.