



## SEMMELWEIS EGYETEM

Általános Orvostudományi Kar I.sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet

Egyetemi tanár / igazgató

**DR. MATOLCSY ANDRÁS**

Professzor Balázs Margit  
bíráló

### Válasz Balázs Margit Professzor Asszony bírálatára

Először is szeretném megköszönni, hogy Professzor Asszony vállalta értekezésem bírálatát. Nagyon köszönöm, hogy rendkívül alaposan tanulmányozta eredményeimet és, hogy felhívta a figyelmemet egyes, a szerkesztést érintő és a jövőben is hasznos javaslatra, pontatlanságra. A formai megjegyzésekkel kapcsolatosan nagyon sajnálom, hogy már nem tudom módosítani a rövidítésjegyzék elhelyezését, máskor mindenképpen az összefoglalók, a dolgozatok elejére teszem majd és az irodalomjegyzék esetében is megfogadom a tanácsát. Sajnos az EndNote-tal sokszor meggyűlt a bajom, így legvégül manuálisan ellenőriztem a referenciákat, emiatt lehet egy-egy szerkesztési pontatlanság. A jövőben igyekezni fogok, hogy az ábrák zsúfoltságát is kerüljem, talán annyi mentségem lehet, hogy a saját eredmények között nehéz szelektálni, és így egyes helyeken talán túl részletesen mutattam be az eredményeimet.

A feltett kérdésekre a válaszaimat a következőkben kérdésenként foglalnám össze:

1. A dolgozat elméleti bevezetőjében is hangsúlyt kap és saját eredményeik több esetben igazolták az mTOR hiperaktivitás szerepét a hagyományos kemoterápiás kezelésekkel szembeni rezisztenciában. **Az mTOR gátlókkal szembeni rezisztencia kialakulása mennyire gyakori, milyen okok (molekuláris eltérések) állhatnak ezek hátterében?**

Az mTOR hiperaktivitás gátlás szerepét egyes terápiákkal szembeni rezisztenciák felfüggesztésében sokan hangsúlyozzák. A kombinált mTORI-terápiák tervezését is erre, illetve az adott hagyományos kezeléssel szembeni érzékenyítésre alapozzák a legtöbb esetben. Az mTOR hiperaktivitás biomarkerei között több olyan mutáció vagy molekuláris változás ismert (PI3K CA egyes mutációi vagy PTEN, TSC mutációk, emelkedett p-S6, illetve Rictor vagy p-Ser473-Akt in situ a tumorszövetben), amelyek a kezelés szempontjából a betegszelekcióban szerepet játszhatnak a jövőben. Az mTOR jelátviteli csomópont szerepe miatt ezeknek a markereknek pozitivitása esetében a kezelés várható hatásának jóval nagyobb esélyei vannak. Sajnos azonban igaz, hogy az mTORI-kal szembeni rezisztencia, vagy a kombinált kezeléssel szembeni érzékenység változása is megjelenhet.

Erre jó példát mutat a sejtvonalak esetében tapasztalható érzékenység különbségek vizsgálata. Nem a legerencsésebb csak in vitro IC50 értékeket összehasonlítani, mivel a tumornövekedés-gátló hatása az mTORI-oknak in vivo sokkal kifejezettebb is lehet (pl. a tumorangiogenezis-gátló hatások miatt), de ezekben az esetekben akár egyes mutációk rezisztenciában játszott szerepével kapcsolatosan lényegesen több adat áll rendelkezésre. A Sanger adatbázisban elérhető 358 tesztelt tumorsejtvonal közül 213 esetében rapamycin rezisztenciáról beszélhetünk (ahol az IC50 50-100 ng/ml feletti), amelynek hátterében többféle molekuláris mechanizmus is állhat (1. ábra). Az adatbázis alapján néhány olyan génmutációt is ki lehet emelni, amelyek jelenléte vagy megjelenése a rezisztenciával összefüggést mutat. Az egyik ilyen **EWSR1.FLI1 mutáció vagy fúzió**, amelynek hatásai az mTOR kináztól függetlenül az mTOR effektor mechanizmusok hiperaktivitását okozzák; megjelenésével párhuzamosan valamennyi sejtvonal rapamycin-rezisztensnek bizonyult az in vitro vizsgálatokban. A sejtvonalak többségében hasonló összefüggést mutat a rapamycin-rezisztenciával például a KRAS, NRAS, BRAF és MET mutáció is, itt persze eltérő mutációk esetében eltérő hatások is lehetnek, amelyek vizsgálatára ez az adatbázis már kevésbé alkalmas.

Az mTOR hatások kísérletes és klinikai vizsgálatai az előbbieknél részletesebben jellemzett rezisztenciamechanizmusokra és molekuláris változásokra hívják fel a figyelmet.

Az egyik ilyen mechanizmus az mTOR kináz molekula **FRB, FKBP12 kötő részét érintő mutációk** (A2034V, F2108L) rapamycin-rezisztenciát okozó hatása. Ebben az esetben a rapamycin-FKBP12 mTOR-komplexhez kötődés marad el a rezisztencia hátterében. A rapamycin alloszterikus gátlószer, így adott effektor mechanizmusok esetében az mTOR target molekulák térbeli elhelyezkedése is okozhat különbségeket az érzékenységekben. Például az mTOR kináz 4E-BP1 fehérjét foszforiláló hatását a target és a kináz térbeli elhelyezkedése miatt kevésbé hatásosan gátolja az FKBP12-rapamycin. Ennek következménye, hogy míg a gyengébben kötődő riboszómális S6K esetében az mTOR-gátló hatások szinte minden esetben kimutathatók, a p-S6K és a következményes p-S6 mennyiségének csökkenése megjelenik a kezelést követően, addig **az mTORC1 komplex 4E-BP1 foszforiláló hatása hosszabb rapamycin kezelés esetében elmaradhat, ez az mTOR-aktivitás függő effektor hatás gyakrabban lehet rapamycin-rezisztens.**

A rezisztencia szempontjából legjelentősebb, legjobban vizsgált hatások a negatív feedback mechanizmusokat érintik. mTORC1 gátlás esetében, **S6K aktivitás hiányában az IRS-1 foszforilációja, és gátló hatása az IGF1R szignálban elmarad**, ami PI3K/Akt szignál hiperaktivitást eredményezhet és ezen keresztül az mTORC1-aktivitás független onkogén, tumorsejtek túlélését segítő hatások felerősödhetnek. Előbbieknél mellett az **S6K-nak a legújabb adatok szerint a Rictor foszforilációján keresztül mTORC2-t gátló hatásai is elmaradhatnak** mTORC1 inhibitor kezeléseknél és ez is hozzájárulhat az mTORC2-komplex aktivitásának, és ezen keresztül az Akt útvonal aktivitásának fenntartásához mTOR-inhibitor rezisztenciában. Ezzel összefüggésben jelenhet meg a **RAF stimuláció és az MEK/Erk szignál hiperaktiváció** is, ami további növekedési és túlélési előnyt jelent a rezisztens sejteknek és ez adhéziós, migrációs képességeknél bekövetkező változásokkal is összefügghet. A RAS/RAF útvonal hiperaktivitása, ahogy a sejtvonalaknál a mutációjuk, egyéb esetekben alternatív jelpályák hiperaktivitásán keresztül is eredményezhet rapamycin/rapalóg-rezisztenciát. Ezt alátámasztva számos vizsgálat beszámolt az MEK/Erk kináz aktivitásának megemelkedéséről, mTORI-rezisztenciával összefüggésben, több esetben beszámoltak előbbi felfüggesztéséről MEK-inhibitor kombinált kezelésben. Betegek esetében azonban a két kináz-gátló kezelés kombinációja, a multikináz-gátlókhöz hasonlóan súlyos mellékhatásokat okozhat.

Egyes eredmények arra is utalnak az **mTOR kináz katalitikus doménjének aktiváló mutációival** kapcsolatban, hogy ilyen esetekben akár sokszorosára kell emelni a gátlószerek dózísát a megfelelő tumornövekedés-gátló hatás érdekében. A dózisemelés szintén fokozhatja a mellékhatások súlyosságát. mTORI-rezisztenciában további kompenzációs mechanizmus lehet más downstream útvonalak változása is. Az ATP kompetitív mTOR kináz-gátlók alkalmazásakor, a rapalógok esetében eddig megismert mechanizmusok (pl. az Erk hiperaktiváció) mellett például más mechanizmusokat is igazoltak már. Ezek egyike a **FOXO transzkripciós faktorok receptor tirozin kináz transzkripciót fokozó hatása**, ezt pl. emlőcarcinomák mTOR rezisztenciájában írták le, ahol ezzel összefüggésben sejtmagi lokalizációban intenzívebb FOXO festődést mutattak ki. Az mTOR-aktivitás-mediált transzkripciós hatásokban az elongációs iniciációs faktor (eIF4E) és a funkcióját gátló 4E-BP1 arányának is nagy jelentősége lehet. Az mTOR-gátlás hatása ezen a ponton áttörhető, ha az eIF4E/4EBP arány emelkedik. Azok a mechanizmusok, például a **Snail expresszió fokozása**, ami mTOR-aktivitástól és így mTOR-gátlástól függetlenül **gátolja a 4EBP1 transzlációját**, biztosíthatja a nem 4EBP kötött, szabad eIF4E tumornövekedést serkentő hatását. Utóbbi expresszió változások az EMT és az őssejtszerű fenotípusos markerek megjelenésével (ALDH) párhuzamosan a nyugvó tumorsejtek megjelenését, a sejtek adott kezelésekk mellett túlélését is támogatják, így járulhatnak hozzá a kezelésekkkel szembeni rezisztencia kialakulásához. Ugyanezekkel a változásokkal összefüggésben írtak le olyan anyagcsere-változásokat is, amelyek szintén összefügghetnek az mTOR inhibitor rezisztenciával. Ezekkel a metabolikus adaptációt segítő változásokkal foglalkozunk jelenleg mi is. Megfigyelhető a kezelést túlélő sejtekben a korábbi Warburg-fenotípus és glikolízis felől eltolódás a mitokondriális oxidációs folyamatok felé. Ebben az esetben a glükóz helyett alternatív tápanyagok felhasználása, akár autofágiás mechanizmusok aktiválódása (ALDH, SOD expresszió és oxidációs folyamatok fokozódása) jelenhet meg. Amennyiben a sejtek erre képesek, akkor ez segíti alkalmazkodásukat a kezeléshez. Ha ehhez az átalakuláshoz rendelkezésre állnak a megfelelő útvonalak a sejtekben és az alkalmazkodás gyorsabban következik be, akkor ez szelekciós, majd növekedési előnyt jelent a tumorsejteknek a normál sejtekhez képest.

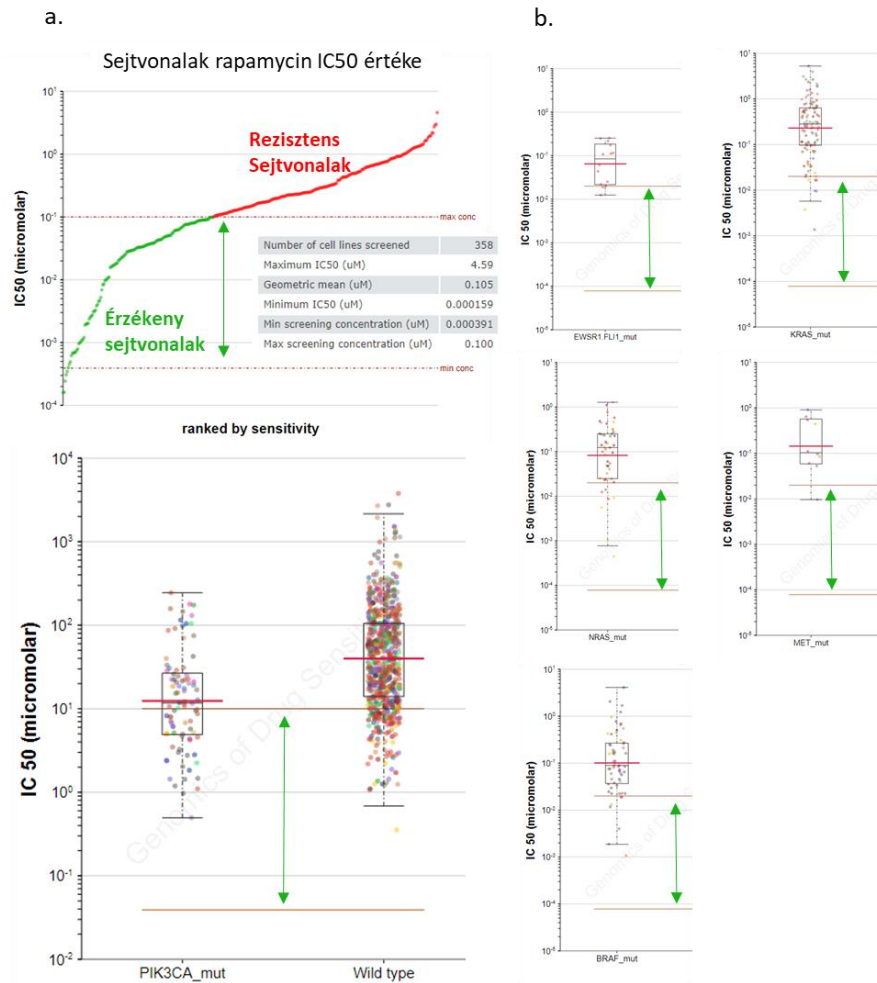
Felhasznált egyik első a témával foglalkozó illetve néhány további új irodalom

-Formisano L, et al. Mechanisms of resistance to mTOR inhibitors. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2020 Mar;147:102886.

-Kurmasheva RT, Huang S, Houghton PJ. Predicted mechanisms of resistance to mTOR inhibitors. *Br J Cancer*. 2006 Oct 23;95(8):955-60.

-Yu, C., et al. Integrin-Src-YAP1 signaling mediates the melanoma acquired resistance to MAPK and PI3K/mTOR dual targeted therapy. *Mol Biomed* 1, 12 (2020).

-Hsueh WT, et al. SOD2 Enhancement by Long-Term Inhibition of the PI3K Pathway Confers Multi-Drug Resistance and Enhanced Tumor-Initiating Features in Head and Neck Cancer. *Int J Mol Sci*. 2021 Oct 19;22(20):11260.



## 1. ábra Rapamycin-érzékeny és rezisztens sejtvonalak egyes adatai

A grafikonon a rapamycin kezelések IC50 értékeit ábrázoltuk a 358 vizsgált sejtvonal esetében. Az 5  $\mu\text{M}$  (50 ng/ml) alatti IC50 értékkel jellemezhető szenzitív sejteket, illetve ezek megoszlását a PI3KCA mutáns és vad sejtvonalak között mutatja a két baloldali ábra. Az átlag IC50 érték és a sejtek eloszlása mutatja a PI3KCA mutáció szerepét a rapamycin-szenzitív mTOR-hiperaktivításban (a.). A jobb oldali ábrákon más típusú mutációkkal rendelkező sejtvonalak esetében is bemutatom az IC50 értékeket, ezen mutációk esetében a vizsgált sejtek többsége rapamycin-rezisztensnek bizonyult (b.); az ábrát a <https://www.cancerrxgene.org/> adatbázis felhasználásával készítettem.

2. A szolid daganatok közel 5%-a hordoz mTOR kináz aktiváló mutációkat. A mutációk mellett RICTOR amplifikációnak és fokozott expresszióknak jelentőségét is leírták és bebizonyosodott, hogy az amplifikáció korrelál a metasztázis képzéssel és a rezisztencia kialakulással. Ennek ellenére a RICTOR amplifikáció rutinszerű meghatározása nem történik meg. **Milyen esetekben javasolható a RICTOR amplifikáció és fokozott expresszió vizsgálata? Milyen daganatokban fordul elő RICTOR amplifikáció? Van-e adat arra, hogy az mTOR inhibitor kezeléseknél milyen hatása van azokra a sejtekre melyek RICTOR gén amplifikációt mutatnak?**

A RICTOR amplifikáció vizsgálata FISH-sel, a RICTOR gén helyzete, centromer közelsége miatt, speciális (jelenleg igen drága) próbákat igényel, ezért a FISH analíziseket mi is az amerikai partnereinknél kiviteleztuk. A digitális PCR analízist azonban beállítottuk az intézetben, így amennyiben az NGS szekvenálási eredmények arra utalnak, vagy egyéb okokból felmerül ennek kérdése, akkor el tudjuk végezni a vizsgálatot. Saját munkáink alapján azokban a daganatokban, ahol a RICTOR amplifikációnak jelentősége lehet az eseteket Rictor és p-Ser473-Akt immunfestéssel előszűrhetjük. Az előbbi festések ugyan alacsonyabb specificitással, de nagyon magas szenzitivitással kijelölik azokat az eseteket, amelyek között a RICTOR amplifikált eseteket (pl. a tüdődaganatok esetében) keresni érdemes. Az irodalmi adatok alapján nemcsak kissejtes tüdődaganatokban, de alacsonyabb frekvenciával más tumorok esetében is leírtak már RICTOR amplifikációt. Hólyag- és nyelőcső-, fejnyci daganatok esetében 5-10% közötti az amplifikáció előfordulása. Hepatobiliáris és emlődaganatokban csak 1-2%, de igazoltak már amplifikációt colorectális, vesedaganatokban, gliomában és egyes melanomákban (subungual) is.

Az intézetben elvégzett újgenerációs szekvenálások eddig 25 esetben vetették fel a RICTOR amplifikáció gyanúját, ezeket az eseteket most kezdtük el vizsgálni. Köztük az előbbieknél megfelelően tüdődaganatok; azok, illetve máj- és emlődaganatok metasztázisai; más nőgyógyászati daganatok, egy glioma és ritka tumor is szerepelnek.

Saját vizsgálataink és klinikai tapasztalataink is vannak azzal kapcsolatban, hogy a RICTOR amplifikáció, illetve a Rictor overexpresszió (mTORC2 hiperaktivitás) befolyásolhatja az mTOR, elsősorban az mTORC1-inhibitor érzékenységet. SCLC tüdőcarcinoma sejtvonalakban jelenleg is végzünk ilyen vizsgálatokat. A RICTOR amplifikációval rendelkező sejtvonalakban a vistusertib (mTORC1 és C2-gátló) szignifikánsan jelentősebb proliferációgátlást okoz, mint a rapamycin. Illetve az egyik ilyen sejtvonal esetében az mTOR-gátló kezelés jelentősen fokozza a ciszplatin hatását is. Természetesen ezekben a sejtekben más, a PI3K/Akt/mTOR-útvonalat érintő zavar is van, így az is érdekes, hogy az általunk, a vizsgálatainkban használt SCLC sejtvonalak esetében mono- és ciszplatin kombinált terápiában is a vistusertib, mTORC1-C2 gátló volt a leghatásosabb. (2. ábra)

A másik idevonatkozó klinikai adatunk, lágyszövetes gyerekek kezelésével kapcsolatos, ahol eredményeink szerint Rictor overexpresszió mellett a jelenleg elérhető mTOR-gátló kezelés nem volt hatásos. Ennek hátterében állhat az általunk később igazolt Rictor overexpresszió és mTORC2 hiperaktivitás is. A vistusertib még egyedi engedélyeztetéssel sem állt rendelkezésre abban az időben, amikor korábban a gyermek kezelése zajlott (jelenleg is fázisvizsgálatokban zajlik a tesztelése).

A válaszban felhasznált

, a disszertációban nem szereplő irodalmak:

-Zhao D, et al. The role of RICTOR amplification in targeted therapy and drug resistance. *Mol Med.* 2020 Feb 10;26(1):20.

-Bang H, et al. Correlation between RICTOR overexpression and amplification in advanced solid tumors. *Pathol Res Pract.* 2020 Jan;216(1):152734.

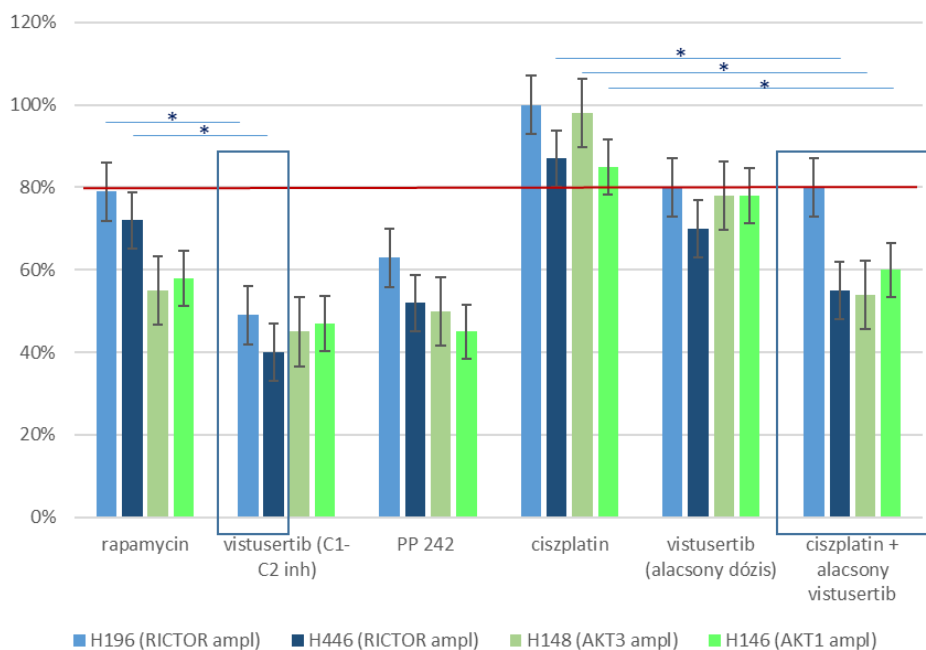
-Gkoutakos A, et al. Unmasking the impact of Rictor in cancer: novel insights of mTORC2 complex. *Carcinogenesis.* 2018 Jul 30;39(8):971-980.

-Kim ST, et al. Rapamycin-insensitive companion of mTOR (RICTOR) amplification defines a subset of advanced gastric cancer and is sensitive to AZD2014-mediated mTORC1/2 inhibition. *Ann Oncol.* 2017 Mar 1;28(3):547-554.

-Holman BN, et al. Clinical and molecular features of subungual melanomas are site-specific and distinct from acral melanomas. *Melanoma Res.* 2020 Dec;30(6):562-573.

-Laugier F, et al. RICTOR involvement in the PI3K/AKT pathway regulation in melanocytes and melanoma. *Oncotarget.* 2015 Sep 29;6(29):28120-31.

### Vistusertib (új mTOR C1-C2 gátló) hatékonysága RICTOR amplifikáció mellett



2. ábra 4 SCLC sejtvonal (2 RICTOR amplifikált és két RICTOR vad) rapamycin (50 ng/ml), vistusertib (1  $\mu$ M, 0,1  $\mu$ M), cisplatin (3  $\mu$ M) érzékenysége in vitro, illetve három esetben az alacsony dózisú vistusertib in vitro cisplatin érzékenyítő hatása (még nem közölt saját eredmények).

3. A metabolit koncentráció vizsgálatok egyik jelentősége, hogy nemcsak a sejtekben, hanem a sejtek felülűszójában is lehet mérni ennek mértékét, ami alapján feltételezhető, hogy a betegek egyéb testfolyadékáiban (pl. szérumban) is megjelenhetnek ezek a metabolit koncentráció változások (onkometabolitok).

**Elképzelése szerint, milyen klinikai mintákban lehetséges a metabolitok változásainak meghatározása és milyen feltételeknek kell teljesülni? Adott kezelések során várható-e az onkometabolitok mellett, más metabolitok mennyiségi változása? Léteznek-e olyan vizsgálatok, melyek során egyéni (pl. a betegek állapotát jellemző) metabolikus jellegzetességeket határoznak meg metabolit vagy metabolomikai szinten?**

Saját vizsgálatainkban az onkometabolitok közül a 2-hidroxioglutarátot (2HG-t), szukcinátot, fumarátot, illetve laktátot mértünk az általunk beállított LC-MS technikával nemcsak sejtes vagy szöveti mintákban, hanem például szérumban, sejtenyészetek felülűszójában, de ezeket a méréseket el lehetne végezni liquorban, vizeletben is. Ami fontos, hogy a minták gyűjtésekor standardizálni kell a körülményeket és ezeket a mintákat a mérésig mindenképpen  $-80^{\circ}\text{C}$ -on kell tárolni. A mérés előtti előkészítésekhez pedig nagy szükség van az analitikusok tanácsaira, adott metabolit, metabolitok esetén a mérés beállítására, megfelelő standard-ekre.

AML-es betegek perifériás mintából gyűjtött perifériás vér és csontvelői mintákkal végzett vizsgálatainkban az IDH-mutációnak megfelelő magas 2HG-szinteket mutattunk ki LC-MS

méréseinkben az IDH-mutáns betegek perifériás vérből vagy csontvelői mintából szeparált sejtjeiben, illetve szérumban is. Ez a mérésünk alkalmas lenne, a jelenleg megkezdett IDH-gátló kezelésekben a terápiás válasz és a kezelés után, közben az AML sejtek megjelenésének, mennyiségi változásának követésére is. A beállításokat IDH-mutáns sejtvonallakkal végzett metabolitkoncentráció vizsgálataink segítették. Előbbihez hasonló metabolikus vizsgálatainkban többféle, elsősorban citrátköri metabolit- és laktátkoncentrációt mértünk, illetve ezek koncentrációváltozását exosomákban is meg tudtuk határozni. Ilyenkor a mérés kivitelezéséhez szükséges idő, illetve a mérhető mennyiségben kimutatható metabolitok adják a megfontolandó tényezőket, érdemes kiválasztani előzetes vizsgálatokkal a legfontosabb metabolitokat. A metabolitok mennyiségi változásának mérése és követése vizsgálataink alapján nagyon sok érdekes lehetőséget tartogat – például a kezelések hatásaival összefüggő koncentrációváltozások és azok elemzése a terápiás érzékenységgel, válasszal összefüggő adatokat nyújthat a jövőben.

Nemcsak idegrendszeri, de több daganatos betegség esetében számos tömegspektrometriai – daganatkutató munkacsoport foglalkozik jelenleg is a legkülönbözőbb, a betegek szérum- vagy egyéb testfolyadékmintáinak metabolomikai vizsgálatával. Céljuk, az adott tumort megelőző állapotok vagy tumoros beteg esetében a diagnóziskori vagy a kezelés közbeni, illetve egészséges kontroll személyek szérum- és vizeletmintáinak metabolomikai elemzése, valamint diagnosztikus, prognosztikus markerek keresése. Olyan vizsgálatok is folynak, amelyek például a COVID fertőzött betegek szérumban egyes aminosavak arányában megfigyelt különbségeket hoztak összefüggésbe a várható fatális következményekkel és a szövődményekkel (pl. kynaurin, tryptophan, glutamate, citruline, ornitine szintek). Ezeknek a vizsgálatoknak eredményei arra utalnak, hogy a különbségeket az egyéni metabolikus jellegzetességek is befolyásolhatják, ami összefüggésbe hozható azzal, hogy a COVID fertőzés súlyosabb lefolyásában az elhízás fontos rizikó faktor. Az ilyen vizsgálatok egyre nagyobb számban folynak akár a mikrobiom, akár a terápiás érzékenység különbségek, vagy metabolikus és daganatos betegségek jellemzőinek megismerése érdekében.

Néhány a kérdéshez kapcsolódó irodalom, ami nem szerepelt a disszertációban:

- Xu H, et al. Metabolomics Identifies Biomarker Signatures to Differentiate Pancreatic Cancer from Type 2 Diabetes Mellitus in Early Diagnosis. *Int J Endocrinol.* 2021 Nov 25;2021:9990768.
- Mello-Grand M, et al. Two Novel Ceramide-Like Molecules and miR-5100 Levels as Biomarkers Improve Prediction of Prostate Cancer in Gray-Zone PSA. *Front Oncol.* 2021 Nov 19;11:769158.
- Genua F, et al. Association of circulating short chain fatty acid levels with colorectal adenomas and colorectal cancer. *Clin Nutr ESPEN.* 2021 Dec;46:297-304.
- D'Amora P, et al. Towards risk stratification and prediction of disease severity and mortality in COVID-19: Next generation metabolomics for the measurement of host response to COVID-19 infection. *PLoS One.* 2021 Dec 1;16(12):e0259909.
- Deja S, et al. Gender-Specific Metabolomics Approach to Kidney Cancer. *Metabolites.* 2021 Nov 10;11(11):767.

**4. A tumor mikrokörnyezetében az mTOR gátlók immunsejteket érintő hatásai hogyan befolyásolják a tumor ellenes immunválaszt? Vannak-e adatok arról, hogy melyik a jelentősebb az mTOR gátlók daganatsejteket és metabolizmusukat érintő hatásai vagy az immunsejteket, tumor ellenes immunsejteket érintő hatásai? Ismer-e olyan vizsgálatokat, ahol az mTOR gátló kezelést kombinálták immunterápiával (PD-L1 gátlással)?**

Az mTOR-aktivitás és a tumorelles immunitás komplexitása rendkívül érdekes terület. A rapamycin (mint immunszuppresszív szer) hatásait a daganatellenes hatásmechanizmushoz hasonlóan, proliferációgátló hatásán keresztül, a limfociták proliferációjának gátlásában is kifejti. Az mTOR-gátlók egyik legnagyobb előnyét éppen ez a kettősség jelenti: transzplantációt követően immunszuppresszív kezelésként adva jelentősen csökkentik a poszttranszplantációs daganatok előfordulását (az immunszuppresszánsként szintén gyakran alkalmazott calcineurin-inhibitorokkal összehasonlítva). Az mTOR-gátlók és a tumorelles immunitás viszonyáról azonban még kevés és egyelőre ellentmondásos adatok állnak csak rendelkezésünkre. A rapamycin T-sejtek proliferációját gátló hatása mellett azonban ismert, hogy az mTOR-gátlás segíti a memória T-sejtek képződését, amin keresztül fokozhatja az effektor T-sejt funkciók hosszabb fennmaradását. Azt is tudjuk, hogy az mTOR-jelátvitel számos mikrokörnyezeti hatáson keresztül – pl. kemokinek/citokinek (pl. IL-1, TGF- $\beta$ ) és membránreceptorok (pl. CTLA-4 és PD-1) termelése – befolyásolhatja a tumorelles immunitást.

Az elmúlt években az immun-checkpoint gátlók és az mTOR-gátlók kombinációját potenciálisan eredményes terápiként kezdték vizsgálni, nemcsak mTORC1-inhibitor, hanem más, elsősorban az újgenerációs vagy egyéb PI3K-, illetve Akt-gátlókkal. Több daganattípusban folynak fázisvizsgálatok jelenleg is. Nem-kissejtes tüdődaganatokban több fázisvizsgálat (I/II) is folyik, például sirolimus (mTORC1-gátló) + durvalumab (PD-L1-gátló) (NCT04348292), vistusertib (mTORC1/2-gátló) + durvalumab (PD-L1-gátló) (NCT03334617), IPI-549 (PI3K-gátló) + nivolumab (PD-1-gátló) (NCT02637531), ipatasertib (Akt-gátló) + atezolizumab (PD-L1-gátló) (NCT03337698). Előbbi szélesebb spektrumú vizsgálatok között egyesekbe nemcsak előrehaladott carcinomákat, hanem melanomákat, lymphomákat, sarcomákat, gliomákat is bevontak, illetve akár mTOR-aktiváló mutáció igazolása is beválasztási kritérium lehet (NCT04317105, NCT03502733, NCT03673787, NCT04431635, NCT03059147, NCT03772561). Az eredményekről még sok adat nem érhető el. Van olyan, amelyik egyes vizsgált tumortípusok esetében III. fázisba lép hamarosan, de például húgyúti daganatok esetében az egyik vizsgálat a hozzáfűzött reményeket csak az esetek kevesebb mint 20%-ában tudta kimutatni és megfelelő biomarkert sem tudtak meghatározni ezek kiválasztásához. Ezeket az eredményeket nemrég közzölték a Nature Medicine-ben (Powles T et al. Nat Med. 2021 May;27(5):793-801.)



Vizsgálati azonosító	PI3K, Akt, mTOR inhibitor	Immun-checkpoint inhibitor	Vizsgálat	Fázis	Státusz
NCT03190174	<b>nab-rapamycin</b>	nivolumab	csont- és lágyrésztumорок nem kissejtes tüdőrák (NSCLC) urotelialis karcinóma melanoma veserák laphámsejtes karcinóma hepatocellularis karcinóma Hodgkin-limfóma vastagbélrák mTOR mutációval rendelkező tumорок	fázis 1/2	<b>befejezett</b>
NCT02423954	<b>temsirolimus</b>	nivolumab	hasnyálmirigyrák veserák nem kissejtes tüdőrák (NSCLC) vastagbélrák méhtest- és petefészekrák	fázis 1/2	<b>megszakított</b>
NCT00565773	<b>rapamycin</b>	belatacept	szervtranszplantáció	fázis 2	<b>befejezett</b>
NCT00346151	<b>rapamycin</b>	belatacept	vese transzplantáció	fázis 2	<b>megszakított</b>
NCT04348292	<b>rapamycin</b>	durvalumab	nem kissejtes tüdőrák (NSCLC)	fázis 1	<b>aktív</b>
NCT03334617	<b>vistusertib</b>	durvalumab	nem kissejtes tüdőrák (NSCLC)	fázis 2	<b>aktív</b>
NCT03257722	<b>idelalisib (PI3K inhibitor)</b>	pembrolizumab	nem kissejtes tüdőrák (NSCLC)	fázis 1/2	<b>ismeretlen</b>
NCT02637531	<b>IPI-549/eganelisib (PI3K-γ inhibitor)</b>	nivolumab	előrehaladott tumor nem kissejtes tüdőrák (NSCLC) melanoma fej-nyaki laphámrák triplanegatív emlődaganat mellékvesekéreg daganat mezotelióma	fázis 1	<b>aktív</b>
NCT03337698	<b>ipatasertib (AKT inhibitor)</b>	atezolizumab	nem kissejtes tüdőrák (NSCLC)	fázis 1/2	<b>aktív</b>
NCT04317105	<b>copanlisib (PI3K inhibitor)</b>	ipilimumab nivolumab	előrehaladott, kiújuló, nem reszekábilis, vagy metasztatizáló tumорок	fázis 1/2	<b>aktív</b>
NCT03502733	<b>copanlisib (PI3K inhibitor)</b>	ipilimumab nivolumab	limfóma előrehaladott, kiújuló, nem reszekábilis, vagy metasztatizáló tumорок	fázis 1	<b>aktív</b>
NCT03673787	<b>ipatasertib (AKT inhibitor)</b>	atezolizumab	szolid tumor glioblastoma metasztatikus prosztatarák	fázis 1/2	<b>aktív</b>
NCT04431635	<b>copanlisib (PI3K inhibitor)</b>	nivolumab	limfóma	fázis 1	<b>aktív</b>
NCT03059147	<b>SF1126 (PI3K inhibitor)</b>	nivolumab	hepatocellularis karcinóma	fázis 1	<b>aktív</b>
NCT03772561	<b>AZD5363 (Akt inhibitor)</b>	durvalumab	szolid tumor	fázis 1	<b>aktív</b>

1. táblázat Jelenleg zajló vagy befejezett immun-checkpoint gátló és mTOR/PI3K-inhibitor kombinált fázisvizsgálatok

5. Eredményeik szerint a calcineurin inhibitor kezelés fokozhatja az mTOR jelút és elsősorban az mTORC2 aktivitását, sőt vese carcinoma sejtek proliferációját.

**Az mTOR aktivitás különbségek jellegzetességeit más poszt-transzplantációs daganatok esetében vizsgálták-e?**

Saját vizsgálataikban még nem rapalóg immunterápiában részesültek azok a betegek, akikben a megjelenő daganatok megoszlását és jellegzetességeit vizsgálták. **Vannak-e már adataik az mTOR**

**alapú immunszuppresszióban részesült betegek tumorairól? Ezek esetében milyen mTOR aktivitásra vagy milyen egyéb molekuláris vagy jelátviteli változásokra lehet számítani?**

A transzplantációt követően kialakuló daganatok ilyen jellegű, főleg a két komplex aktivitás különbségét is elemző eredmények, illetve a de novo és poszttranszplantációs daganatok összehasonlító vizsgálatáról adatok még nincsenek. Azzal kapcsolatban találunk csak elemzéseket, hogy például a poszttranszplantációs lymphoproliferatív elváltozásokban, illetve transzplantáció mellett megjelenő EBV-indukált lymphomák esetében az mTOR-gátlók alkalmazása hatásos lehet. Munkánkat, amelyben elsőként vizsgáltuk a de novo és transzplantációs immunszuppresszió mellett megjelent vesedaganatok mTOR-aktivitását (ez szerepel is a dolgozatomban) szeretnénk hamarosan közölni. Sajnos mTOR-alapú immunszuppresszió mellett is alakulhatnak ki poszttranszplantációs daganatok, ezek száma rendkívül alacsony (lényegesen alacsonyabb, mint calcineurin-inhibitor mellett), így statisztikailag is elemezhető mintaszámú daganat összegyűjtése nem könnyű feladat, de jelenleg a Sebészeti, Transzplantációs és Gasztroenterológiai Klinika segítségével megkezdtük ezek összegyűjtését. Ezek között az eddigi gyűjtésünk alapján más típusú daganatok is lehetnek; a magyarországi populációban eddig még vesedaganatot például nem, de melanoma, prosztatata-, emlő, és vastagbél daganatokat találtunk a jövőben vizsgálatra kerülő biopsziás anyagok között. Ezekben az esetekben elképzelhető, hogy az mTOR-inhibitor-rezisztenciával összefüggő jelátviteli változások és/vagy esetleg akár ezzel is összefüggő onkogén mutációk megjelenése lesz a tumorigenezis hátterében (pl. mTOR FRB régió mutáció, PI3K mutációk, RAS/RAF vagy MEK/Erk útvonal mutáció), de metabolikus változások vizsgálatát is tervezzük.

Remélem, a válaszaimmal és egyes újabb adatainkkal sikerült felelnem a Professzor Asszony kérdéseire. Tisztelettel kérem válaszaim elfogadását.

Végül szeretném még egyszer megköszönni a doktori pályázatom bírálatát, a hasznos észrevételeket, valamint a szerteágazó klinikai, terápiás lehetőségeket érintő kérdéseket. Köszönöm a méltató szavakat és a pozitív értékelést. Külön köszönöm, ahogy összefoglalta, majd kiemelte a legjelentősebbnek tartott eredményeimet. Ez nekem is sokat segít majd az előadásra készülésemben, hiszen ezek alapján talán könnyebb kiválasztanom azokat, amelyeket a rövid előadásban bemutathatok majd.

Köszönettel és tisztelettel:

Sebestyén Anna



Budapest, 2022. január 14.