

Mutlay Sayan¹, Swati Mamidanna¹, Mehmet Fuat Eren², Vasudev Daliparty³, Teuta Zoto Mustafayev⁴, Carl Nelson⁵, Nisha Ohri¹, Salma K. Jabbour¹, Aslihan Guven Mert⁴, Banu Atalar⁴

¹Rutgers Cancer Institute of New Jersey, New Brunswick, Stany Zjednoczone

²Radiation Oncology Clinic, Marmara University Istanbul Pendik Education and Research Hospital, Istanbul, Turcja

³Department of Internal Medicine, Raritan Bay Medical Center, Perth Amboy, New Jersey, Stany Zjednoczone

⁴Department of Medical Oncology, Mehmet Ali Aydınlar Acibadem University, School of Medicine, Istanbul, Turcja

⁵Department of Radiation Oncology, University of Vermont Medical Center, Burlington, Vermont, Stany Zjednoczone

Nowe perspektywy leczenia złośliwego międzybłoniaka opłucnej

Praca jest tłumaczeniem artykułu:

Sayan M, Mamidanna S, Fuat Eren M, et al. New horizons from novel therapies in malignant pleural mesothelioma. *Adv Res Med.* 2020; 88(4): 343–351, doi: 10.5603/ARM.a2020.0103, indexed in Pubmed: 32869268.

Należy cytować wersję oryginalną.

Streszczenie

Złośliwy międzybłoniak opłucnej to stosunkowo rzadko występująca choroba rozrostowa komórek mezotelialnych opłucnej, cechująca się dużą śmiertelnością. Jej patogeneza nieodłącznie wiąże się z ekspozycją na działanie azbestu. I chociaż coraz więcej wiadomo na ten temat, nadal wiele zagadnień dotyczących mechanizmu powstawania i rozwoju złośliwego międzybłoniaka opłucnej pozostaje niejasnych. Terapia trójmodalna, składająca się z leczenia chirurgicznego skojarzonego z chemioterapią i/lub radioterapią, nadal pozostaje terapią standardową. Rozwój oporności komórek guza na radioterapię oraz niektóre środki chemioterapeutyczne bardzo utrudniają leczenie tego nowotworu. Promieniowanie jonizujące uszkadza DNA komórek nowotworowych i zwiększa odpowiedź na leczenie, lecz uaktywnia także szlaki sygnałowe przeżycia komórki, co pozwala komórkom nowotworowym pokonać cytotoksyczność wywołaną promieniowaniem. Uważna ocena międzybłoniaka na poziomie biologicznym, z naciskiem na mechanizmy działania szlaków sygnałowych prowadzących komórkę na drogę przeżycia, może być pomocna przy wyborze opcji terapeutycznej. Niniejsza praca skupia się na dostępnych metodach leczenia złośliwego międzybłoniaka opłucnej, nowym podejściu terapeutycznym opartym na najnowszych badaniach, wykorzystującym inhibitory ukierunkowane na różne szlaki sprzyjające przeżyciu i radioterapii stosowanej w celu optymalizacji metod leczenia.

Słowa kluczowe: złośliwy międzybłoniak opłucnej, chemioterapia, radioterapia, terapia celowana, immunoterapia

Pneumologia Polska 2021; 1–2: 51–60

Wstęp

Złośliwy międzybłoniak opłucnej (ZMO) jest rzadkim i agresywnym nowotworem, występującym zaledwie u 10–30 osób na milion [1]. Guz wywodzi się z komórek mezotelialnych opłucnej, a jego patogeneza wiąże się bezpośrednio z długotrwałą ekspozycją na znajdujące się w powietrzu cząsteczki azbestu. Długotrwałe narażenie na azbest prowadzi do zmian zapal-

nych w nabłonku surowiczym opłucnej, które z kolei ulegają transformacji nowotworowej [2]. Najczęściej występującymi podtypami złośliwego międzybłoniaka opłucnej są typ nabłonkowy, a następnie mięsakowaty i mieszany [3].

Standardowa terapia ZMO obejmuje obecnie leczenie chirurgiczne guzów zakwalifikowanych do resekcji w skojarzeniu z radioterapią i chemioterapią. Pomimo postępów i badań skupionych na nowym podejściu do leczenia średni czas

Adres do korespondencji: Mutlay Sayan, Rutgers Cancer Institute of New Jersey, New Brunswick, United States; e-mail: ms2641@cinj.rutgers.edu

Otrzymano: 19.04.2020

Tłumaczenie: Mikołaj Iwański

Copyright © 2021 PTChP

ISSN 2719–2881, e-ISSN 2719–9002

przeżycia chorych na ZMO nadal jest szacowany na 8–14 miesięcy [4]. Wraz z pojawiającą się opornością komórek guza na radioterapię i chemioterapię wzrasta potrzeba nowego podejścia do leczenia, pozwalającego pokonać te przeszkody. Immunoterapia nowotworów okazała się niezwykle obiecująca w kwestii dostarczania rozwiązań, które mogą się przyczyniać do poprawy słabych wyników związanych z leczeniem ZMO. Bardziej szczegółowe poznanie molekularnych i biologicznych mechanizmów działających w obrębie nowotworu budzi nadzieję, że nowe połączenie terapii celowanych i radioterapii może doprowadzić do poprawy odpowiedzi immunologicznej na ZMO. Mając to na względzie, autorzy dokonali oceny dostępnych metod leczenia ZMO, zwracając szczególną uwagę na różne szlaki sygnałowe przeżycia komórki, oraz najnowszych osiągnięć w dziedzinie terapii celowanej i immunoterapii.

Aktualne podejście do leczenia złośliwego międzybłoniaka opłucnej

Leczenie trójmodalne, obejmujące zabieg chirurgiczny wraz z chemioterapią i/lub radioterapią, nadal jest standardowym sposobem postępowania w przypadku ZMO. Zabieg chirurgiczny stanowi ważną i powszechnie stosowaną metodę leczenia, która umożliwia resekcję zmian lub złagodzenie dolegliwości. Dwie główne metody chirurgiczne obejmują pneumonektomię zewnątrzopłucnową (EPP, *extra-pleural pneumonectomy*) oraz pleurektomię z dekortykacją (P/D, *pleurectomy with decortication*). Na temat preferowanej metody nadal toczą się dyskusje, a wyniki niektórych badań są sprzeczne. Pewne badania retrospektywne przemawiają za poszerzoną P/D, ponieważ w porównaniu z EPP wiąże się ona z niższym wskaźnikiem śmiertelności okołoperacyjnej, zachorowalności, rzadszymi powikłaniami pooperacyjnymi oraz wyższym wskaźnikiem przeżycia [5, 6]. Ze względu na brak randomizowanych badań kontrolowanych trudno jest jednak wysnuć jednoznaczny wniosek na temat optymalnego zabiegu chirurgicznego. Wytyczne wiodącego amerykańskiego centrum onkologicznego (NCCN, *National Comprehensive Cancer Network*) dotyczące ZMO sugerują, że P/D jest bardziej bezpieczna niż EPP z powodu rzadziej występujących powikłań pooperacyjnych oraz lepszej jakości życia.

Radioterapia jest metodą uzupełniającą leczenie ZMO, stosowaną głównie w celu złagodzenia dolegliwości [7]. W jednym z najnowszych badań, obejmującym 7 pacjentów, jako możliwą opcję terapeutyczną zasugerowano terapię protonową

z modelowaniem intensywności mocy dawki [8]. Pod uwagę brano także terapię wykorzystującą technikę łuków dynamicznych (*volumetric modulated arc therapy*), która stanowi obrotową formę radioterapii o modelowanej intensywności mocy dawki [9]. Chemioterapia jest uważana za element składowy trójmodalnego leczenia nowotworu u chorych przed zabiegiem chirurgicznym lub po nim i wykazano, że zapewnia średni czas całkowitego przeżycia wynoszący 24 miesiące [10]. W przypadku pacjentów, którzy nie wyrażają zgody na operację, i/lub tych, którzy się do niej nie kwalifikują, chemioterapia może być jedyną opcją terapeutyczną [11]. Leczenie pierwszej linii w leczeniu ZMO stanowi pemetreksed w skojarzeniu z cisplatiną. W odniesieniu do wyników ostatniego badania Zalcmana i wsp. u chorych z nieresekcyjną postacią guza wytyczne NCCN zalecają dodanie bewacyzumabu do schematu cisplatiną–pemetreksed [12]. Sugerując się wynikami innych ostatnio przeprowadzonych badań, za akceptowalne metody leczenia pierwszej linii uznano też schematy pemetreksed–karboplatiną oraz gemcytabina–cisplatiną [13, 14].

Indukcja szlaków sygnałowych przeżycia komórki

Szlak sygnałowy receptora naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR)

Naskórkowy czynnik wzrostu (EGFR, *epidermal growth factor receptor*) to glikoproteina przezbłonowa należąca do grupy Her1 rodziny ErbB kinaz tyrozynowych [15]. Receptor ten stanowi integralną część złożonej kaskady sygnałowej, która odgrywa istotną rolę w szlakach fizjologicznych, w tym w kontrolowaniu wzrostu komórek, ich rozrostu i przeżycia. Trzy etapy, które prowadzą do proliferacji komórek, obejmują wiązanie liganda z EGFR, fosforylację reszt tyrozynowych i dimeryzację receptora [16]. Nadmierna ekspresja tych receptorów została uznana za istotną w patogenezie niektórych nowotworów, co spowodowało powstanie terapii celowanych ukierunkowanych na te receptory [17]. Nadmierną ekspresję receptora EGFR obserwuje się w około 70% próbek tkankowych ZMO [18]. Azbest, będący głównym czynnikiem rakotwórczym w rozwoju ZMO, wywołuje agregację receptora EGFR poprzez tworzenie reaktywnych form tlenu, co prowadzi do autofosforylacji i aktywacji receptora EGFR. To z kolei skutkuje aktywacją szlaku RAS/RAF/MAPK powodującą proliferację komórek nowotworowych i przerzuty [19, 20]. W ciągu ostatnich kilku lat mutacje genu *EGFR* związane z rozwojem ZMO stały się przedmiotem

wielu analiz. Badanie przeprowadzone w Japonii wykazało w niektórych przypadkach ZMO obecność mutacji zmiany sensu genu *EGFR* [21]. Najnowsze prace sugerują rolę czynnika epigenetycznego w rozwoju ZMO. Ponadto odkryto, że onkogenny gen *EGFR* powoduje regulację w dół i represję białek TET (*ten-eleven translocation*) metylazy DNA, czego konsekwencją jest wyciszenie genów supresorowych guza [22].

Wpływ promieniowania na proliferację komórek nowotworowych i związek z EGFR był szczegółowo analizowany. Zwiększenie proliferacji komórek po ekspozycji na promieniowanie jonizujące jest określane jako przyspieszone przywracanie populacji, ponadto uważa się, że ma ono częściowo związek z rozwojem oporności na promieniowanie, zwłaszcza w nowotworach głowy i szyi [23]. Możliwe mechanizmy fosforylacji EGFR i następującą po niej aktywację poprzez promieniowanie przypisuje się uwolnieniu transformującego czynnika wzrostu α (TGF- α , *transforming growth factor α*), który jest ligandem wiążącym EGFR [24]. Badanie analizujące skutki zastosowania skojarzenia radioterapii i ZD1839 (Iressa), który jest selektywnym inhibitorem EGFR, w niektórych nowotworach, m.in. w ZMO, wykazało, że grupa poddana terapii skojarzonej uzyskała znaczną poprawę wskaźników terapeutycznych po radioterapii w zakresie zwiększenia supresji guza w porównaniu z grupą poddaną tylko radioterapii [25].

Dwie klasy leków wykazujących dowiedzione działanie anti-EGFR obejmują inhibitory kinazy tyrozynowej (TKI, *tyrosine kinase inhibitors*) i przeciwciała monoklonalne. TKI, takie jak gefitynib, afatynib, erlotynib, kanertynib i lapertynib, działają jako analogi trifosforanu adenozy (ATP, *adenosine triphosphate*), hamując katalityczną domenę kinazy tyrozynowej na poziomie wewnątrzkomórkowym. Badania *in vitro* wykazały, że drobnocząsteczkowe TKI skutecznie zmniejszają rozrost komórek ZMO [26]. Jednak początkowe badania kliniczne dotyczące gefitynibu nie potwierdziły jego skuteczności klinicznej u chorych z tym nowotworem [27]. Sprzeczność tę może wyjaśnić teoria, według której TKI ujawniają swoje działanie tylko w obecności aktywowanych mutacji w genie *EGFR*, które są bardzo rzadkie w ZMO. Ponieważ mutacje te stwierdzono u niewielu chorych, kliniczna skuteczność TKI stosowanych w monoterapii nie jest znana [28]. W Japonii przeprowadzono badanie z udziałem chorego ze stwierdzoną rzadką mutacją *EGFR* G719C i S768I, który został wyleczony afatynibem [29].

Przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko domenie zewnątrzkomórkowej EGFR, takie jak cetuksymab, nimotuzumab i panitumumab, działają poprzez hamowanie ligandu, blokując dimeryzację receptora, a następnie dalsze elementy szlaku sygnałowego. Powodują one także internalizację i degradację receptorów EGFR, nasilając ten proces [30]. Stosowanie cetuksymabu, chimerycznego przeciwciała uzyskanego z linii komórkowych myszy i ludzi, na modelach gryzoni wykazało istotne zahamowanie wzrostu guza i poprawiło czas przeżycia [31]. Inne przeciwciała monoklonalne, nimotuzumab, zatwierdzone do leczenia nowotworów jelita grubego oraz głowy i szyi, doprowadziło do znacznej redukcji wielkości guza w porównaniu z chemioterapią cisplatyną i gemcytabiną w modelach zwierzęcych [32]. Nowoczesne, celowane na receptor EGFR, oparte na nanotechnologii techniki dostarczania chemioterapeutyków, takie jak TargomiRs, które wykorzystują celowane minikomórki z prekursorami mikroRNA miR-16, także przyniosły obiecujące wyniki w modelach przedklinicznych i badaniach klinicznych [33, 34].

Szlak kinazy regulowanej sygnałem zewnątrzkomórkowym (ERK)

Szlak kinazy białka aktywowanego przez mitogen (MAPK, *mitogen-activated protein kinase*), który stanowi integralne łącze pomiędzy bodźcami zewnątrzkomórkowymi „wyższego rzędu” a niższymi efektorami wewnątrzkomórkowymi, reguluje różnicowanie, proliferację i śmierć komórek na poziomie zarówno fizjologicznym, jak i patologicznym [35]. Kaskada ta, która została uznana za najczęściej mutujący ludzki szlak sygnałowy, składa się z łańcucha RAS-RAF-MEK-ERK. Dwie formy białka ERK (*extracellular signal-regulated kinase*) — ERK1 i ERK2 — są aktywowane przez kinazę MEK (*mitogen-activated extracellular signal-regulated kinase*) i fosforylację ich reszt tyrozynowych i treoninowych, co skutkuje aktywacją czynników transkrypcyjnych oraz kinaz i w głównej mierze odpowiada za proliferację komórek. Aktywacja kilku sprzężeń zwrotnych pomiędzy substratami a kinazą ERK prowadzi do wzmocnienia różnicowania komórek [36]. Znaczenie kinazy ERK zostało udowodnione w badaniach dotyczących ZMO typu nabłonkowego. Z kolei w badaniach na zwierzętach wykazano, że ERK2 odgrywa niezmiernie ważną rolę w transformacji i homeostazie międzybłoniaka poprzez kontrolowanie ekspresji genu [37]. Natomiast dogłębna analiza szlaków sygnałowych indukowanych działaniem azbestu po

raz kolejny potwierdziła znaczenie kinazy ERK w rozwoju ZMO. Czynniki transkrypcyjny *activator protein-1* kontroluje proliferację komórek mezotelialnych poprzez zwiększenie ekspresji zależnego od kinazy ERK antygenu związanego z podjednostkami czynnika transkrypcyjnego *activator protein-1* Fos (Fra)-1 [38]. Dlatego też kinaza ERK, która kontroluje krytyczne łącze tego szlaku, została uznana za potencjalny cel w leczeniu nowotworów, w szczególności tych z mutacjami kinazy MEK oraz białek RAF i RAS.

Napromienianie prowadzi do aktywacji szlaku kinazy ERK poprzez wywołanie fosforylacji tyrozynowej i treoninowej ERK1 i ERK2 przez kinazę MEK, co wydłuża przeżycie komórki i proliferację [39]. Ta aktywacja kinazy ERK poprzez napromienianie prowadzi do ekspresji białek zapobiegających apoptozie, takich jak Mcl-1 i Bcl-xL [40]. Hamuje także niektóre białka indukujące apoptozę, takie jak kaspazy 9 i Bim, powstrzymując supresję komórek guza [41]. Związek pomiędzy opornością na radioterapię a kinazą ERK5 analizowali Jiang i wsp., którzy wykazali, że nadmierną aktywność ERK5 odnotowano podczas rozwoju raka płuc i transmisji cyklu komórkowego G2/M. Kinaza ERK5 została także uznana za potencjalny regulator wrażliwości na promieniowanie w komórkach nowotworowych oraz biomarker predykcji tej wrażliwości [42].

W podejściu terapeutycznym do szlaku MAPK nowe leki powstawały na bazie białek RAF i MEK. Jednak na skutek rozwoju nieuniknionej oporności na inhibitory RAF i MEK uwagę naukowców przyciągnęły nowe inhibitory kinazy ERK. Zastosowanie inhibitora ERK5 (XMD8-92) w ludzkich komórkach ZMO jednoznacznie wykazało zahamowanie fosforylacji ERK5, co dzięki mechanizmowi wykorzystującemu inflamasom ostatecznie doprowadziło do zmniejszenia wzrostu guza [43]. Niedawno przeprowadzone badanie wykazało, że kwas zoledronowy może sprzyjać zachowaniu reaktywności układu immunologicznego i wrażliwości na chemioterapię w przypadku ZMO poprzez zmniejszenie aktywności RAS/ERK [44]. Jednoramienne badanie obejmujące grupę 8 pacjentów z zaawansowanym ZMO ujawniło umiarkowaną aktywność kliniczną i brak istotnych toksycznych działań niepożądanych u chorych, którzy otrzymywali kwas zoledronowy [45]. Badanie mikrośrodowiskowe *in vivo* wykazało, że pirfenidon może zmniejszyć proliferację i migrację komórek ZMO poprzez zahamowanie kinazy ERK [46]. Wykazano, że trójtlenek arsenu (ATO), związek nieorganiczny

stosowany w tradycyjnej medycynie chińskiej, indukuje apoptozę w liniach komórkowych ZMO, wpływając na szlaki sygnałowe MAPK, takie jak ERK i szlak NH2 końcowej kinazy c-Jun [47]. Dodatkowe mechanizmy działania ATO, wykazane na liniach komórkowych ZMO, mogą polegać na indukcji apoptozy poprzez regulację w dół syntezy tymidylatu (*thymidylate synthase*), ekspresji Gli1 i czynnika transkrypcyjnego E2F1 [48, 49]. Potencjalne pozytywne skutki działania tych czynników ukazane w wymienionych badaniach stwarzają możliwość ich wykorzystania w leczeniu ZMO w przyszłości.

Białko CREB

Białko wiążące z elementem odpowiedzi na cykliczny adenozylo-3',5'-monofosforan (cAMP) (CREB, *cAMP response element binding*), które należy do grupy podstawowego zamka leucynowego (bZIP) obejmującego czynniki transkrypcyjne, jest głównym regulatorem podstawowej homeostazy, różnicowania i wzrostu komórek [50]. Po przejściu fosforylacji na resztach serynowych przez inne kinazy białko CREB rozpoczyna swoją aktywność transkrypcyjną [51]. Następnie poprzez kierowanie metylacją histonów H3 i H4, która kontroluje pobór chromatyny, białko CREB reguluje wiele procesów fizjologicznych, takich jak cykl komórkowy, naprawa DNA, proliferacja komórek, angiogeneza, stan zapalny i odpowiedzi immunologiczne [52, 53]. Nadmierną ekspresję białka CREB wykazano w wielu nowotworach, m.in. w glejaku, niedrobnokomórkowym raku płuca, raku piersi, nowotworach układu krwiotwórczego i ZMO [54, 55]. Wykazano ponadto, że nadekspresja białka CREB korelowała z nawrotami nowotworów, gorszym rokowaniem i krótszym czasem przeżycia chorych [56, 57]. W kilku badaniach zwrócono uwagę na znaczenie białka CREB w patogenezie ZMO. Badanie *in vitro* przeprowadzone na komórkach międzybłoniaka wykazało, że apoptoza wywołana działaniem azbestu skutkowała także ekspresją kilku docelowych genów CREB. Ujawniło ono też, że doksorubicyna zwiększała fosforylację CREB1 [58]. Inne badanie, wykorzystujące linie komórkowe ZMO z genetycznie wyciszonym białkiem CREB oraz modele myszy z przeszczepem ksenogenicznym, udowodniło, że poprzez regulowanie sygnałów zapalnych białko CREB odgrywa kluczową rolę w kontroli wzrostu i rozwoju ZMO [59].

Aktywację białka CREB w następstwie indukcji poprzez naświetlanie w wielu badaniach przypisuje się zjawisku promienioczułości. D'Auria i wsp. zasugerowali, że napromienianie małymi

dawkami może wywołać aktywację białka CREB, powodując przeżycie komórki. Autorzy badania analizowali także rolę białka CREB w indukowaniu apoptozy po ekspozycji na promieniowanie jonizujące. Fakt ten wskazuje na to, że w interakcje pomiędzy promieniowaniem a białkiem CREB zaangażowanych jest wiele mechanizmów oraz że potrzebne są w przyszłości badania mające na celu odkrycie nowych rozwiązań w leczeniu raka [60]. W kolejnym badaniu Cataldi i wsp. odkryli, że aktywacja białka CREB poprawia przekaznictwo sygnałowe w komórkach dotkniętych białaczką i poddanych promieniowaniu jonizującemu [61].

Stwierdzono, że inhibitor białka CREB, KG-501, wykazuje zdolność odwracalnego hamowania interakcji między CREB a białkiem wiążącym CREB (CBP, *CREB binding protein*). Ponadto zaobserwowano, że wandetanib, będący TKI, stosowany w monoterapii w ludzkich liniach komórkowych ZMO wpływał na zmniejszenie liczby komórek w nabłonkowatych liniach komórkowych, lecz podawany w skojarzeniu z doksorubicyną działał synergicznie i skutkował zwiększoną toksycznością doksorubicyny w liniach komórkowych zarówno nabłonkowatych, jak i mięsakowatych [62]. Badanie sugerowało stosowanie obu tych leków jako potencjalnej metody leczenia ZMO ze względu na działanie na oba szlaki sygnałowe kinazy ERK5 i białka CREB. Odkryto nowy środek, 666-15, będący inhibitorem białka CREB, wykazującym silne działanie przeciwnowotworowe, udokumentowane zarówno w badaniach *in vivo*, jak i *in vitro*, co wzbudza duże nadzieje odnośnie do przyszłych możliwości terapeutycznych w ZMO [63, 64].

Kinaza białkowa B (AKT)

Kinaza AKT jest kinazą serynową/treoninową, która występuje w postaci trzech izoform i kontroluje liczne aktywności komórkowe, takie jak metabolizm glukozy, postęp cyklu komórkowego i synteza białek. Blokuje również apoptozę poprzez dezaktywację kilku białek indukujących apoptozę [65, 66]. Po aktywacji przez fosforylację kinaza AKT indukuje wiele białek znajdujących się w jądrze, cytozolu oraz błonie komórkowej takich jak PRAS40, wimentyna, palladyna, p21, p27, które zwiększają proliferację komórek [67, 68]. System znajdujący się przed kinazą AKT generuje trifosforan fosfatydyloinozytolu (PIP3, *phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate*) z udziałem 3-kinazy fosfoinozytydu (PI3K, *phosphoinositide 3-kinase*) [69]. Nadmierna aktywność kinazy AKT jest często obserwowana w pewnych

nowotworach występujących u ludzi: raku jajnika, raku żołądka i raku trzustki [70]. Gdy niektóre białka szlaku sygnałowego AKT, takie jak PI3K, periostyna i białko eIF4E, ulegają nadekspresji, funkcjonują jako onkoproteiny. Z drugiej strony dezaktywacja genów supresorowych guza w szlaku AKT, takich jak *PTEN*, *TSC* i *FOXO*, prowadzi do tworzenia szlaków sprzyjających powstawaniu nowotworów, z najczęstszymi mutacjami *PTEN* [71, 72].

Wpływ napromieniania na szlak AKT był analizowany w wielu badaniach. Li i wsp. w badaniu obejmującym 8 linii komórkowych glejaka wielopostaciowego udowodnili, że wywołanie aktywacji AKT poprzez promieniowanie jonizujące doprowadziło do wzrostu oporności komórek nowotworowych na promieniowanie. Autorzy wykazali, że w tym procesie może uczestniczyć czynnik surowicy (*serum factor*) oraz że zahamowanie receptora EGFR przez AG1478 i zahamowanie kinazy PI3K przez LY294002 mogą się przyczyniać do zwiększenia wrażliwości komórek nowotworowych na radioterapię [73]. Toulany i wsp. wskazują, że zrozumienie konkretnych zaburzeń regulacji kinazy AKT, takich jak amplifikacja genu, mutacja punktowa i nadekspresja, które ostatecznie prowadzą do aktywacji AKT, doprowadziłyby do bardziej jednoznacznej oceny efektów radioterapii [74]. Autorzy wykazali, że podwójne zahamowanie kinaz AKT i MEK podniosło wrażliwość na radioterapię komórek niedrobnokomórkowego raka płuc z mutacją genu *KRAS*. Uznali oni także, że kontrola naprawy dwuniciowego DNA poprzez aktywację kinazy AKT może w przyszłości służyć jako sposób zwiększenia wrażliwości na radioterapię.

Związek pomiędzy nieprawidłowościami szlaku AKT/PI3K i ich rolą w patogenezie ZMO był tematem wielu analiz. W badaniu, które przeprowadzili Suzuki i wsp. na 21 liniach komórkowych międzybłoniaka, regulacja w dół fosfatazy *PTEN* była najczęściej uznawana za przyczynę aktywacji szlaku kinazy AKT [75]. Varghese i wsp. w badaniu dotyczącym molekularnego charakteru ZMO udowodnili, że aktywacja kinaz PI3K i mTOR (*mammalian target of rapamycin kinase*) spowodowała krótszy czas przeżycia chorych na ZMO [76]. Zhou i wsp. wykazali, że szlak PI3K/AKT/mTOR jest kluczową kaskadą w dół wielu receptorów o aktywności kinazy tyrozynowej (RTK, *receptor tyrosine kinase*), sugerując możliwość wykorzystania w przyszłości wielopunktowego działania PI3K/mTOR w leczeniu ZMO. Wykorzystanie dwóch punktów uchwytu PI3K/mTOR przez BEZ235 spowodowało

znacznie większe zahamowanie rozwoju międzybłoniaka w porównaniu z działaniem jednokierunkowym [77]. Białko oddziałujące z kinazą AKT (Aki1) jest białkiem rusztowania dla modułu PI3K-PDK1-AKT. Badanie przeprowadzone przez Yamadę i wsp., oparte na komórkowych technikach analitycznych, ujawniło, że wyciszenie Aki1 wpłynęło na szlak białka CREB i doprowadziło do zmniejszenia żywotności komórek [78].

Ligand 1 programowanej śmierci komórki (PD-L1)

Receptor programowanej śmierci 1 (PD-1, *programmed cell death receptor 1*) ulega ekspresji na aktywowanych limfocytach T i wraz ze swoimi ligandami PD-L1 i PD-L2 kontroluje funkcje efektorowe limfocytów T [79]. W kilku badaniach wykazano, że nadekspresja PD-L1 występuje u około 30–40% chorych na ZMO i jest częstsza w jego podtypach nienabłonkowych [80]. Co więcej, ZMO z ekspresją PD-L1 był związany z istotnie gorszym rokowaniem niż ZMO bez ekspresji PD-L1 (średni czas przeżycia 4,8–5,0 miesiący w porównaniu z 14,5–16,3 miesiąca) [81, 82]. Spostrzeżenie to doprowadziło do wniosku, że inhibitory immunologicznego punktu kontrolnego, które oddziałują na PD-L1, mogą wpływać korzystnie na leczenie ZMO.

Pembrolizumab — humanizowane przeciwciało monoklonalne skierowane przeciwko receptorowi PD-1, o dobrym profilu bezpieczeństwa i silnym działaniu przeciwnowotworowym — został zatwierdzony do użycia w leczeniu kilku nowotworów w ponad 50 krajach [83]. Jednym z pierwszych badań dotyczących działania pembrolizumabu w leczeniu ZMO było badanie I fazy Keynote-028, obejmujące 25 chorych. Wykazało ono wskaźnik kontroli choroby (DCR, *disease control rate*) na poziomie 72%, wskaźnik odpowiedzi na lek (*response rate*) 20%, średni czas odpowiedzi 12 miesięcy; odnotowano także dobrą tolerancję leku [84]. Jednoramienne badania II fazy dotyczące niwolumabu, który także działa na receptor PD-1, ujawniły odsetek obiektywnych odpowiedzi (ORR, *objective response rate*) w zakresie 15–29% oraz medianę czasu przeżycia wolnego od progresji choroby (mPFS, *median progression-free survival*) w przedziale 2,6–6,1 miesiąca [85, 86]. Z kolei w badaniu obejmującym 53 chorych leczonych innym lekiem — awelumabem, który wpływa hamująco na PD-L1, odnotowano wskaźnik odpowiedzi 9,4% [87]. Obecnie prowadzone w Wielkiej Brytanii badanie CONFIRM obejmuje 336 chorych na ZMO wybieranych losowo do terapii niwolumabem

lub placebo. Należy mieć nadzieję, że jego wyniki rzucą więcej światła na to zagadnienie [88].

Antygen cytotoksycznych limfocytów 4 (CTLA-4)

Receptor hamujący CTLA-4 (*cytotoxic T lymphocyte-associated antigen*), który występuje na limfocytach T, wiąże się kompetycyjnie z ligandami CD80 i CD86 i osłabia aktywację limfocytów T wywołaną przez CD-28. Zahamowanie CTLA-4 może prowadzić do wzrostu aktywności limfocytów T, co sprzyja budowaniu silniejszej odpowiedzi przeciwnowotworowej przez układ immunologiczny. Ipilimumab i tremelimumab należą do rodziny CTLA-4 i wykazały istotne korzystne działanie u chorych z zaawansowanymi nowotworami [89, 90]. Analiza retrospektywna badania II fazy MESOT-TREM-2008 ujawniła, że dawkowanie tremelimumabu (15 mg/kg co 90 dni) w zaawansowanym ZMO opornym na chemioterapię było niskie [91]. Po tym badaniu przeprowadzono badanie MESOT-TREM-2012, w którym dawkowanie tremelimumabu zostało zwiększone (10 mg/kg co 4 tygodnie, a po 6 cyklach co 12 tygodni). W badaniu z 2012 roku objawy choroby ustąpiły u 11 chorych w porównaniu z 1 chorym w badaniu z 2008 roku, u którego zaobserwowano częściową odpowiedź na leczenie [92]. Po sukcesie tych dwóch badań przeprowadzono randomizowane badanie z grupą kontrolną DETERMINE, obejmujące 571 chorych, którzy byli losowo wybierani do grupy przyjmującej tremelimumab lub placebo. Badanie to wykazało jednak, że tremelimumab nie przedłużył istotnie czasu przeżycia ani nie poprawił odpowiedzi na leczenie u osób z wcześniej leczonym nowotworem złośliwym [93].

Terapia skojarzona złożona z inhibitorów punktu kontrolnego PD-L1 i CTLA-4 także była przedmiotem analiz mających na celu znalezienie bardziej skutecznej odpowiedzi na leczenie chorych na ZMO. Badanie MAPS-II, obejmujące 125 pacjentów ze wznową ZMO, przebywających w 21 francuskich szpitalach, porównywało niwolumab (anty-PD1) z niwolumabem skojarzonym z ipilimumabem (anty-CTLA-4). Badanie to doprowadziło do konkluzji, że niwolumab stosowany w monoterapii lub z ipilimumabem powodował równie znaczącą odpowiedź kliniczną, jednak w grupie poddanej terapii skojarzonej odnotowano większe skutki niepożądane związane z podawaniem leku (93% w przypadku terapii skojarzonej w porównaniu z 89% w przypadku monoterapii) [94]. Połączenie tremelimumabu i durwalumabu w badaniu NIBIT, obejmującym

40 chorych na ZMO, przyniosło wyniki porównywalne do rezultatów badania MAPS-II [95]. W jednoramiennym badaniu II fazy INITIATE, obejmującym 36 pacjentów z nawrotowym ZMO, oceniano skojarzenie ipilimumabu z niwolumbem. W podsumowaniu stwierdzono wskaźnik odpowiedzi na leczenie na poziomie 38%, a ustąpienie objawów choroby u 68% pacjentów, jednak 94% chorych doświadczyło skutków niepożądanych terapii [96].

Leczenie z użyciem komórek dendrytycznych

Komórki dendrytyczne (DC, *dendritic cell*) są często nazywane naturalnym środkiem wspomagającym ze względu na ważną rolę, jaką odgrywiają w inicjowaniu odpowiedzi immunologicznej poprzez przechwytywanie antygenów i skuteczne ich prezentowanie limfocytom T. Komórki dendrytyczne modulują także odporność humoralną poprzez bezpośrednie działanie na limfocyty B oraz pośrednie działanie na limfocyty T pomocnicze CD4+ [97]. W ciągu ostatniej dekady DC stały się nieodłącznym elementem immunoterapii nowotworów. W badaniu, które przeprowadzili Cornelissen i wsp., DC były podawane w skojarzeniu z cyklofosfamidem 10 chorym na ZMO, przynosząc obiecujący efekt całkowitego średniego przeżycia wynoszącego 37 miesięcy [98]. Niedawno przeprowadzono badanie kliniczne, w którym 9 chorym na ZMO podawano DC stymulowane pulsacyjnie lizatem alogenicznych komórek nowotworowych, w wyniku czego 2 chorych osiągnęło częściową odpowiedź, a średni czas całkowitego przeżycia u wszystkich pacjentów wyniósł ponad 22,8 miesiąca [99].

Wnioski

Złośliwy międzybłoniak opłucnej jest agresywnym nowotworem nabłonka opłucnej, który wciąż stanowi wyzwanie terapeutyczne. Oporność komórek guza na radioterapię, a także wzrastająca oporność na środki chemioterapeutyczne sprawiły, że osiągnięcie optymalnych wskaźników odpowiedzi jest trudne. Lepsze zrozumienie różnych szlaków sygnałowych prowadzących komórkę na drogę przeżycia i indukujących apoptozę może wskazać nowe drogi rozwoju w leczeniu ZMO. Zastosowanie inhibitorów celowanych na szlaki EGFR, ERK, CREB i AKT w połączeniu z radioterapią może pomóc w pokonaniu rozwiniętej przez komórki nowotworowe oporności na radioterapię. Inną możliwą alternatywą w leczeniu ZMO są skojarzenia inhibitorów małowcząsteczkowych

z chemioterapią w aktualnie zatwierdzonym schemacie. Wyniki najnowszych badań dotyczących inhibitorów PD-L1, CTLA-4 i DC pozwalają mieć nadzieję, że w przyszłości metody leczenia będą mogły wykorzystywać możliwości immunoterapii. Istnieje potrzeba dalszego podejmowania wysiłków mających na celu poparcie dowodami i pogłębienie rozumienia mechanizmów molekularnych zachodzących w ZMO oraz prowadzenia badań klinicznych dążących do polepszenia metod leczenia tego nowotworu.

Konflikt interesów

Nie zgłoszono.

Piśmiennictwo:

1. Kameda T, Takahashi K, Kim R, Jiang Y, Movahed M, Park EK, et al. Asbestos: use, bans and disease burden in Europe. *Bull World Health Organ.* 2014;92(11):790–7.
2. Olsen NJ, Franklin PJ, Reid A, de Klerk NH, Threlfall TJ, Shilkin K, et al. Increasing incidence of malignant mesothelioma after exposure to asbestos during home maintenance and renovation. *Med J Aust.* 2011;195(5):271–4.
3. Carbone M, Yang H. Mesothelioma: recent highlights. *Ann Transl Med.* 2017;5(11):238.
4. Carbone M, Adusumilli PS, Alexander HR, Jr., Baas P, Bardelli F, Bononi A, et al. Mesothelioma: Scientific clues for prevention, diagnosis, and therapy. *CA Cancer J Clin.* 2019;69(5):402–29.
5. Cao C, Tian DH, Pataky KA, Yan TD. Systematic review of pleurectomy in the treatment of malignant pleural mesothelioma. *Lung Cancer.* 2013;81(3):319–27.
6. Rena O, Casadio C. Extrapleural pneumonectomy for early stage malignant pleural mesothelioma: a harmful procedure. *Lung Cancer.* 2012;77(1):151–5.
7. Baas P, Fennell D, Kerr KM, Van Schil PE, Haas RL, Peters S, et al. Malignant pleural mesothelioma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2015;26 Suppl 5:v31–9.
8. Pan HY, Jiang S, Sutton J, Liao Z, Chance WW, Frank SJ, et al. Early experience with intensity modulated proton therapy for lung-intact mesothelioma: A case series. *Pract Radiat Oncol.* 2015;5(4):e345–53.
9. Dumane V, Yorke E, Rimner A, Rosenzweig GK. SU-E-T-595: Comparison of Volumetric Modulated Arc Therapy (VMAT) and Static Intensity Modulated Radiotherapy (IMRT) for Malignant Pleural Mesothelioma in Patients with Intact Lungs/Post Pleurectomy. *Med Phys.* 2012;39(6Part19):3842.
10. Lang-Lazdunski L, Bille A, Belcher E, Cane P, Landau D, Steele J, et al. Pleurectomy/decortication, hyperthermic pleural lavage with povidone-iodine followed by adjuvant chemotherapy in patients with malignant pleural mesothelioma. *J Thorac Oncol.* 2011;6(10):1746–52.
11. Verma V, Wegner RE, Brooks ED, Miccio JA, Kann BH, Finley GG, et al. Chemotherapy Versus Supportive Care for Unresected Malignant Pleural Mesothelioma. *Clin Lung Cancer.* 2019;20(4):263–9.
12. Zalcman G, Mazieres J, Margery J, Greillier L, Audigier-Valette C, Moro-Sibilot D, et al. Bevacizumab for newly diagnosed pleural mesothelioma in the Mesothelioma Avastin Cisplatin Pemetrexed Study (MAPS): a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet.* 2016;387(10026):1405–14.
13. Arrieta O, Lopez-Macias D, Mendoza-Garcia VO, Bacon-Fonseca L, Munoz-Montano W, Macedo-Perez EO, et al. A phase II trial of prolonged, continuous infusion of low-dose gemcitabine plus cisplatin in patients with advanced malignant pleural mesothelioma. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2014;73(5):975–82.
14. Katirtzoglu N, Gkiozos I, Makrilia N, Tsaroucha E, Rapti A, Stratakis G, et al. Carboplatin plus pemetrexed as first-line

- treatment of patients with malignant pleural mesothelioma: a phase II study. *Clin Lung Cancer*. 2010;11(1):30–5.
15. Seshacharyulu P, Ponnusamy MP, Haridas D, Jain M, Ganti AK, Batra SK. Targeting the EGFR signaling pathway in cancer therapy. *Expert Opin Ther Targets*. 2012;16(1):15–31.
 16. Wee P, Wang Z. Epidermal Growth Factor Receptor Cell Proliferation Signaling Pathways. *Cancers (Basel)*. 2017;9(5).
 17. Yewale C, Baradia D, Vhora I, Patil S, Misra A. Epidermal growth factor receptor targeting in cancer: a review of trends and strategies. *Biomaterials*. 2013;34(34):8690–707.
 18. Mezzapelle R, Miglio U, Rena O, Paganotti A, Allegrini S, Antona J, et al. Mutation analysis of the EGFR gene and downstream signalling pathway in histologic samples of malignant pleural mesothelioma. *Br J Cancer*. 2013;108(8):1743–9.
 19. Rena O, Boldorini LR, Gaudino E, Casadio C. Epidermal growth factor receptor overexpression in malignant pleural mesothelioma: prognostic correlations. *J Surg Oncol*. 2011;104(6):701–5.
 20. Agarwal V, Lind MJ, Cawkwell L. Targeted epidermal growth factor receptor therapy in malignant pleural mesothelioma: where do we stand? *Cancer Treat Rev*. 2011;37(7):533–42.
 21. Enomoto Y, Kasai T, Takeda M, Takano M, Morita K, Kadota E, et al. Epidermal growth factor receptor mutations in malignant pleural and peritoneal mesothelioma. *J Clin Pathol*. 2012;65(6):522–7.
 22. Forloni M, Gupta R, Nagarajan A, Sun LS, Dong Y, Pirazzoli V, et al. Oncogenic EGFR Represses the TET1 DNA Demethylase to Induce Silencing of Tumor Suppressors in Cancer Cells. *Cell Rep*. 2016;16(2):457–71.
 23. Zimmermann M, Zouhair A, Azria D, Ozsahin M. The epidermal growth factor receptor (EGFR) in head and neck cancer: its role and treatment implications. *Radiat Oncol*. 2006;1:11.
 24. Gulbins E, Kolesnick R. Raft ceramide in molecular medicine. *Oncogene*. 2003;22(45):7070–7.
 25. She Y, Lee F, Chen J, Haimovitz-Friedman A, Miller VA, Rusch VR, et al. The epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor ZD1839 selectively potentiates radiation response of human tumors in nude mice, with a marked improvement in therapeutic index. *Clin Cancer Res*. 2003;9(10 Pt 1):3773–8.
 26. Barbieri F, Wurth R, Favoni RE, Pattarozzi A, Gatti M, Ratto A, et al. Receptor tyrosine kinase inhibitors and cytotoxic drugs affect pleural mesothelioma cell proliferation: insight into EGFR and ERK1/2 as antitumor targets. *Biochem Pharmacol*. 2011;82(10):1467–77.
 27. Govindan R, Kratzke RA, Herndon JE, 2nd, Niehans GA, Vollmer R, Watson D, et al. Gefitinib in patients with malignant mesothelioma: a phase II study by the Cancer and Leukemia Group B. *Clin Cancer Res*. 2005;11(6):2300–4.
 28. Schildgen V, Pabst O, Tillmann RL, Lusebrink J, Schildgen O, Ludwig C, et al. Low frequency of EGFR mutations in pleural mesothelioma patients, Cologne, Germany. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2015;23(2):118–25.
 29. Agatsuma N, Yasuda Y, Ozasa H. Malignant Pleural Mesothelioma Harboring Both G719C and S768I Mutations of EGFR Successfully Treated with Afatinib. *J Thorac Oncol*. 2017;12(9):e141–e3.
 30. Burgess AW, Cho HS, Eigenbrot C, Ferguson KM, Garrett TP, Leahy DJ, et al. An open-and-shut case? Recent insights into the activation of EGF/ErbB receptors. *Mol Cell*. 2003;12(3):541–52.
 31. Kurai J, Chikumi H, Hashimoto K, Takata M, Sako T, Yamaguchi K, et al. Therapeutic antitumor efficacy of anti-epidermal growth factor receptor antibody, cetuximab, against malignant pleural mesothelioma. *Int J Oncol*. 2012;41(5):1610–8.
 32. Talavera A, Friemann R, Gomez-Puerta S, Martinez-Fleites C, Garrido G, Rabasa A, et al. Nimotuzumab, an antitumor antibody that targets the epidermal growth factor receptor, blocks ligand binding while permitting the active receptor conformation. *Cancer Res*. 2009;69(14):5851–9.
 33. van Zandwijk N, Pavlakis N, Kao SC, Linton A, Boyer MJ, Clarke S, et al. Safety and activity of microRNA-loaded minicells in patients with recurrent malignant pleural mesothelioma: a first-in-man, phase 1, open-label, dose-escalation study. *Lancet Oncol*. 2017;18(10):1386–96.
 34. Reid G, Pel ME, Kirschner MB, Cheng YY, Mugridge N, Weiss J, et al. Restoring expression of miR-16: a novel approach to therapy for malignant pleural mesothelioma. *Ann Oncol*. 2013;24(12):3128–35.
 35. Liu F, Yang X, Geng M, Huang M. Targeting ERK, an Achilles' Heel of the MAPK pathway, in cancer therapy. *Acta Pharm Sin B*. 2018;8(4):552–62.
 36. Sturm OE, Orton R, Grindlay J, Birtwistle M, Vysheirsky V, Gilbert D, et al. The mammalian MAPK/ERK pathway exhibits properties of a negative feedback amplifier. *Sci Signal*. 2010;3(153):ra90.
 37. Shukla A, Hillegass JM, MacPherson MB, Beuschel SL, Vacek PM, Butnor KJ, et al. ERK2 is essential for the growth of human epithelioid malignant mesotheliomas. *Int J Cancer*. 2011;129(5):1075–86.
 38. Ramos-Nino ME, Timblin CR, Mossman BT. Mesothelial cell transformation requires increased AP-1 binding activity and ERK-dependent Fra-1 expression. *Cancer Res*. 2002;62(21):6065–9.
 39. Yan Y, Black CP, Cowan KH. Irradiation-induced G2/M checkpoint response requires ERK1/2 activation. *Oncogene*. 2007;26(32):4689–98.
 40. Jost M, Huggett TM, Kari C, Boise LH, Rodeck U. Epidermal growth factor receptor-dependent control of keratinocyte survival and Bcl-xL expression through a MEK-dependent pathway. *J Biol Chem*. 2001;276(9):6320–6.
 41. Clark CJ, McDade DM, O'Shaughnessy CT, Morris BJ. Contrasting roles of neuronal Msk1 and Rsk2 in Bad phosphorylation and feedback regulation of Erk signalling. *J Neurochem*. 2007;102(4):1024–34.
 42. Jiang W, Jin G, Cai F, Chen X, Cao N, Zhang X, et al. Extracellular signal-regulated kinase 5 increases radioresistance of lung cancer cells by enhancing the DNA damage response. *Exp Mol Med*. 2019;51(2):1–20.
 43. Thompson JK, Shukla A, Leggett AL, Munson PB, Miller JM, MacPherson MB, et al. Extracellular signal regulated kinase 5 and inflammasome in progression of mesothelioma. *Oncotarget*. 2018;9(1):293–305.
 44. Salaroglio IC, Campia I, Kopecka J, Gazzano E, Orecchia S, Ghigo D, et al. Zoledronic acid overcomes chemoresistance and immunosuppression of malignant mesothelioma. *Oncotarget*. 2015;6(2):1128–42.
 45. Jamil MO, Jerome MS, Miley D, Selander KS, Robert F. A pilot study of zoledronic acid in the treatment of patients with advanced malignant pleural mesothelioma. *Lung Cancer (Auckl)*. 2017;8:39–44.
 46. Li C, Rezov V, Joensuu E, Vartiainen V, Ronty M, Yin M, et al. Pirfenidone decreases mesothelioma cell proliferation and migration via inhibition of ERK and AKT and regulates mesothelioma tumor microenvironment in vivo. *Sci Rep*. 2018;8(1):10070.
 47. Eguchi R, Fujimori Y, Takeda H, Tabata C, Ohta T, Kuribayashi K, et al. Arsenic trioxide induces apoptosis through JNK and ERK in human mesothelioma cells. *J Cell Physiol*. 2011;226(3):762–8.
 48. You M, Varona-Santos J, Singh S, Robbins DJ, Savaraj N, Nguyen DM. Targeting of the Hedgehog signal transduction pathway suppresses survival of malignant pleural mesothelioma cells in vitro. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2014;147(1):508–16.
 49. Slee EA, Lu X. Requirement for phosphorylation of P53 at Ser312 in suppression of chemical carcinogenesis. *Sci Rep*. 2013;3:3105.
 50. Steven A, Seliger B. Control of CREB expression in tumors: from molecular mechanisms and signal transduction pathways to therapeutic target. *Oncotarget*. 2016;7(23):35454–65.
 51. Wen AY, Sakamoto KM, Miller LS. The role of the transcription factor CREB in immune function. *J Immunol*. 2010;185(11):6413–9.
 52. Wang F, Marshall CB, Ikura M. Transcriptional/epigenetic regulator CBP/p300 in tumorigenesis: structural and functional versatility in target recognition. *Cell Mol Life Sci*. 2013;70(21):3989–4008.
 53. Thakur JK, Yadav A, Yadav G. Molecular recognition by the KIX domain and its role in gene regulation. *Nucleic Acids Res*. 2014;42(4):2112–25.
 54. Pigazzi M, Manara E, Bresolin S, Tregnago C, Beghin A, Baron E, et al. MicroRNA-34b promoter hypermethylation induces CREB overexpression and contributes to myeloid transformation. *Haematologica*. 2013;98(4):602–10.

55. Suarez CD, Deng X, Hu CD. Targeting CREB inhibits radiation-induced neuroendocrine differentiation and increases radiation-induced cell death in prostate cancer cells. *Am J Cancer Res.* 2014;4(6):850-61.
56. Deng X, Liu H, Huang J, Cheng L, Keller ET, Parsons SJ, et al. Ionizing radiation induces prostate cancer neuroendocrine differentiation through interplay of CREB and ATF2: implications for disease progression. *Cancer Res.* 2008;68(23):9663-70.
57. Sakamoto KM, Frank DA. CREB in the pathophysiology of cancer: implications for targeting transcription factors for cancer therapy. *Clin Cancer Res.* 2009;15(8):2583-7.
58. Shukla A, Bosenberg MW, MacPherson MB, Butnor KJ, Heintz NH, Pass HI, et al. Activated cAMP response element binding protein is overexpressed in human mesotheliomas and inhibits apoptosis. *Am J Pathol.* 2009;175(5):2197-206.
59. Westbom CM, Shukla A, MacPherson MB, Yasewicz EC, Miller JM, Beuschel SL, et al. CREB-induced inflammation is important for malignant mesothelioma growth. *Am J Pathol.* 2014;184(10):2816-27.
60. D'Auria F, Centurione L, Centurione MA, Angelini A, Di Pietro R. Regulation of Cancer Cell Responsiveness to Ionizing Radiation Treatment by Cyclic AMP Response Element Binding Nuclear Transcription Factor. *Front Oncol.* 2017;7:76.
61. Cataldi A, di Giacomo V, Rapino M, Genovesi D, Rana RA. Cyclic nucleotide Response Element Binding protein (CREB) activation promotes survival signal in human K562 erythroleukemia cells exposed to ionising radiation/etoposide combined treatment. *J Radiat Res.* 2006;47(2):113-20.
62. Sayan M, Shukla A, MacPherson MB, Macura SL, Hillegass JM, Perkins TN, et al. Extracellular signal-regulated kinase 5 and cyclic AMP response element binding protein are novel pathways inhibited by vandetanib (ZD6474) and doxorubicin in mesotheliomas. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2014;51(5):595-603.
63. Li BX, Gardner R, Xue C, Qian DZ, Xie F, Thomas G, et al. Systemic Inhibition of CREB is Well-tolerated in vivo. *Sci Rep.* 2016;6:34513.
64. Xie F, Fan Q, Li BX, Xiao X. Discovery of a Synergistic Inhibitor of cAMP-Response Element Binding Protein (CREB)-Mediated Gene Transcription with 666-15. *J Med Chem.* 2019;62(24):11423-9.
65. Nitulescu GM, Van De Venter M, Nitulescu G, Ungurianu A, Juzenas P, Peng Q, et al. The Akt pathway in oncology therapy and beyond (Review). *Int J Oncol.* 2018;53(6):2319-31.
66. Song M, Bode AM, Dong Z, Lee MH. AKT as a Therapeutic Target for Cancer. *Cancer Res.* 2019;79(6):1019-31.
67. Rodgers SJ, Ferguson DT, Mitchell CA, Ooms LM. Regulation of PI3K effector signalling in cancer by the phosphoinositide phosphatases. *Biosci Rep.* 2017;37(1).
68. Dobbin ZC, Landen CN. The importance of the PI3K/AKT/MTOR pathway in the progression of ovarian cancer. *Int J Mol Sci.* 2013;14(4):8213-27.
69. Zhao GX, Pan H, Ouyang DY, He XH. The critical molecular interconnections in regulating apoptosis and autophagy. *Ann Med.* 2015;47(4):305-15.
70. Wang Q, Chen X, Hay N. Akt as a target for cancer therapy: more is not always better (lessons from studies in mice). *Br J Cancer.* 2017;117(2):159-63.
71. Xia P, Xu XY. PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in cancer stem cells: from basic research to clinical application. *Am J Cancer Res.* 2015;5(5):1602-9.
72. Milella M, Falcone I, Conciatori F, Cesta Incani U, Del Curatolo A, Inzerilli N, et al. PTEN: Multiple Functions in Human Malignant Tumors. *Front Oncol.* 2015;5:24.
73. Li HF, Kim JS, Waldman T. Radiation-induced Akt activation modulates radioresistance in human glioblastoma cells. *Radiat Oncol.* 2009;4:43.
74. Toulany M, Iida M, Keimath S, Iyi FF, Mueck K, Fehrenbacher B, et al. Dual targeting of PI3K and MEK enhances the radiation response of K-RAS mutated non-small cell lung cancer. *Oncotarget.* 2016;7(28):43746-61.
75. Suzuki Y, Murakami H, Kawaguchi K, Taniguchi T, Fujii M, Shinjo K, et al. Activation of the PI3K-AKT pathway in human malignant mesothelioma cells. *Mol Med Rep.* 2009;2(2):181-8.
76. Varghese S, Chen Z, Bartlett DL, Pingpank JF, Libutti SK, Steinberg SM, et al. Activation of the phosphoinositide-3-kinase and mammalian target of rapamycin signaling pathways are associated with shortened survival in patients with malignant peritoneal mesothelioma. *Cancer.* 2011;117(2):361-71.
77. Zhou S, Liu L, Li H, Eilers G, Kuang Y, Shi S, et al. Multipoint targeting of the PI3K/mTOR pathway in mesothelioma. *Br J Cancer.* 2014;110(10):2479-88.
78. Yamada T, Amann JM, Fukuda K, Takeuchi S, Fujita N, Uehara H, et al. Akt Kinase-Interacting Protein 1 Signals through CREB to Drive Diffuse Malignant Mesothelioma. *Cancer Res.* 2015;75(19):4188-97.
79. Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer.* 2012;12(4):252-64.
80. Sul J, Blumenthal GM, Jiang X, He K, Keegan P, Pazdur R. FDA Approval Summary: Pembrolizumab for the Treatment of Patients With Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer Whose Tumors Express Programmed Death-Ligand 1. *Oncologist.* 2016;21(5):643-50.
81. Mansfield AS, Roden AC, Peikert T, Sheinin YM, Harrington SM, Krco CJ, et al. B7-H1 expression in malignant pleural mesothelioma is associated with sarcomatoid histology and poor prognosis. *J Thorac Oncol.* 2014;9(7):1036-40.
82. Cedres S, Ponce-Aix S, Zugazagoitia J, Sansano I, Enguita A, Navarro-Mendivil A, et al. Analysis of expression of programmed cell death 1 ligand 1 (PD-L1) in malignant pleural mesothelioma (MPM). *PLoS One.* 2015;10(3):e0121071.
83. Garon EB, Rizvi NA, Hui R, Leigh N, Balmanoukian AS, Eder JP, et al. Pembrolizumab for the treatment of non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2015;372(21):2018-28.
84. Alley EW, Lopez J, Santoro A, Morosky A, Saraf S, Piperdi B, et al. Clinical safety and activity of pembrolizumab in patients with malignant pleural mesothelioma (KEYNOTE-028): preliminary results from a non-randomised, open-label, phase 1b trial. *Lancet Oncol.* 2017;18(5):623-30.
85. Quispel-Janssen J, van der Noort V, de Vries JF, Zimmerman M, Lalezari F, Thunnissen E, et al. Programmed Death 1 Blockade With Nivolumab in Patients With Recurrent Malignant Pleural Mesothelioma. *J Thorac Oncol.* 2018;13(10):1569-76.
86. Okada M, Kijima T, Aoe K, Kato T, Fujimoto N, Nakagawa K, et al. Clinical Efficacy and Safety of Nivolumab: Results of a Multicenter, Open-label, Single-arm, Japanese Phase II study in Malignant Pleural Mesothelioma (MERIT). *Clin Cancer Res.* 2019;25(18):5485-92.
87. Hassan R, Thomas A, Nemunaitis JJ, Patel MR, Bennouna J, Chen FL, et al. Efficacy and Safety of Avelumab Treatment in Patients With Advanced Unresectable Mesothelioma: Phase 1b Results From the JAVELIN Solid Tumor Trial. *JAMA Oncol.* 2019;5(3):351-7.
88. Fennell DA, Kirkpatrick E, Cozens K, Nye M, Lester J, Hanna G, et al. CONFIRM: a double-blind, placebo-controlled phase III clinical trial investigating the effect of nivolumab in patients with relapsed mesothelioma: study protocol for a randomised controlled trial. *Trials.* 2018;19(1):233.
89. Wolchok JD, Weber JS, Maio M, Neyns B, Harmankaya K, Chin K, et al. Four-year survival rates for patients with metastatic melanoma who received ipilimumab in phase II clinical trials. *Ann Oncol.* 2013;24(8):2174-80.
90. Ribas A, Camacho LH, Lopez-Berestein G, Pavlov D, Bulanhagui CA, Millham R, et al. Antitumor activity in melanoma and anti-self responses in a phase I trial with the anti-cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 monoclonal antibody CP-675,206. *J Clin Oncol.* 2005;23(35):8968-77.
91. Calabro L, Morra A, Fonsatti E, Cutaia O, Amato G, Giannarelli D, et al. Tremelimumab for patients with chemotherapy-resistant advanced malignant mesothelioma: an open-label, single-arm, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2013;14(11):1104-11.
92. Calabro L, Morra A, Fonsatti E, Cutaia O, Fazio C, Annesi D, et al. Efficacy and safety of an intensified schedule of tremelimumab for chemotherapy-resistant malignant mesothelioma: an open-label, single-arm, phase 2 study. *Lancet Respir Med.* 2015;3(4):301-9.
93. Maio M, Scherpereel A, Calabro L, Aerts J, Cedres Perez S, Bearz A, et al. Tremelimumab as second-line or third-line

- treatment in relapsed malignant mesothelioma (DETERMINE): a multicentre, international, randomised, double-blind, placebo-controlled phase 2b trial. *Lancet Oncol.* 2017;18(9):1261–73.
94. Scherpereel A, Mazieres J, Greillier L, Lantuejoul S, Do P, Bylicki O, et al. Nivolumab or nivolumab plus ipilimumab in patients with relapsed malignant pleural mesothelioma (IFCT-1501 MAPS2): a multicentre, open-label, randomised, non-comparative, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2019;20(2):239–53.
95. Calabro L, Morra A, Giannarelli D, Amato G, D'Incecco A, Covre A, et al. Tremelimumab combined with durvalumab in patients with mesothelioma (NIBIT-MESO-1): an open-label, non-randomised, phase 2 study. *Lancet Respir Med.* 2018;6(6):451–60.
96. Disselhorst MJ, Quispel-Janssen J, Lalezari F, Monkhorst K, de Vries JF, van der Noort V, et al. Ipilimumab and nivolumab in the treatment of recurrent malignant pleural mesothelioma (INITIATE): results of a prospective, single-arm, phase 2 trial. *Lancet Respir Med.* 2019;7(3):260–70.
97. Palucka K, Banchereau J. Cancer immunotherapy via dendritic cells. *Nat Rev Cancer.* 2012;12(4):265–77.
98. Cornelissen R, Hegmans JP, Maat AP, Kaijen-Lambers ME, Bezemer K, Hendriks RW, et al. Extended Tumor Control after Dendritic Cell Vaccination with Low-Dose Cyclophosphamide as Adjuvant Treatment in Patients with Malignant Pleural Mesothelioma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2016;193(9):1023–31.
99. Aerts J, de Goeje PL, Cornelissen R, Kaijen-Lambers MEH, Bezemer K, van der Leest CH, et al. Autologous Dendritic Cells Pulsed with Allogeneic Tumor Cell Lysate in Mesothelioma: From Mouse to Human. *Clin Cancer Res.* 2018;24(4):766–76.