

# MESOTELIOMA PLEURICO MALIGNO

## ED

### INFIAMMAZIONE

#### INTRODUZIONE

I tumori sono caratterizzati da una serie di **anomalie genetiche** dotate di un **potenziale proliferativo** che porta alla **trasformazione cellulare**.

Tuttavia, si ritiene che anche il microambiente che circonda il tumore (**tumor micro-environment-TME**) possa avere un ruolo importante nel destino delle cellule tumorali, agendo sulla progressione o sulla regressione cellulare.

Le correlazioni esistenti tra **cancro ed infiammazione** sono state documentate fin dal 1863, quando Virchow notò che il tessuto tumorale è spesso circondato da cellule infiammatorie che vengono riscontrate nell'analisi dei campioni biotici<sup>i</sup>.

In modelli murini immunodeficienti è stato dimostrato che l'infiammazione può precedere lo sviluppo di **mesotelioma maligno**<sup>ii</sup>. Inoltre, studi epidemiologici hanno rivelato che l'infiammazione cronica causata da agenti chimici o fisici e le reazioni infiammatorie ed autoimmuni di origine incerta predispongono ad alcune tipologie tumorali<sup>iii iv</sup>.

Evidenze crescenti dimostrano che la connessione “infiammazione-cancro” non è solamente ristretta ai processi iniziali di sviluppo tumorale; infatti, tutte le tipologie di cancro sembrerebbero avere una **componente infiammatoria attiva nel loro microambiente**. Queste osservazioni sperimentali e cliniche portano ad una maggiore conferma che l'infiammazione correlata al cancro possa essere una delle caratteristiche principali tipiche della neoplasia stessa<sup>v</sup>.

#### INFIAMMAZIONE

Uno dei principali fattori caratterizzanti il microambiente tumorale è lo stato di **infiammazione cronica persistente**<sup>vi</sup>.

L'infiammazione correlata al tumore è innescata principalmente dalle cellule dell'immunità innata (soprattutto **macrofagi**) abbondantemente presenti nel microambiente tumorale, ma viene

mantenuta anche dalle cellule stromali, come i fibroblasti, le cellule dei vasi o quelle tumorali stesse<sup>vii</sup>.

### Due vie patogenetiche correlano cancro es infiammazione.

La via intrinseca è guidata da alterazioni genetiche che causano neoplasia. Ad esempio queste modificazioni geniche possono portare all'attivazione di vari tipi di oncogeni, alla mutazione, al riarrangiamento, o all'amplificazione cromosomica, oppure possono inattivare geni oncosoppressori, che attivano un programma infiammatorio all'interno della cellula neoplastica.

Invece, la via estrinseca è mediata da cellule infiammatorie dell'immunità innata; si tratta principalmente di macrofagi.

Questi due percorsi infiammatori si aggiungono all'attivazione di fattori di trascrizione, come il NF- $\kappa$ B, di trasduttori di segnale, di attivatori della trascrizione 3 (STAT3) e del fattore 1 ipossia-inducibile (HIF1).

Negli ultimi dieci anni, i meccanismi attraverso i quali l'infiammazione cronica sostiene la progressione del tumore sono stati maggiormente approfonditi. Diversi **mediatori infiammatori** solubili, sia prodotti da macrofagi sia dalle cellule tumorali, agiscono come fattori di crescita, che stimolano direttamente la proliferazione delle cellule tumorali ed aumentano la loro resistenza a stimoli apoptotici. Questi includono, per esempio, le citochine infiammatorie primarie IL-1 e TNF che attivano NF- $\kappa$ B, il regolatore chiave della risposta infiammatoria.

Nelle cellule tumorali, **NF- $\kappa$ B** attiva l'espressione di geni antiapoptotici (ad esempio c-IAP, BCL2, c-FLIP) e di geni che regolano la proliferazione cellulare (per esempio cicline, c-Myc).

Nei macrofagi, NF- $\kappa$ B attiva diversi geni che codificano per citochine (Eglic-1, TNF, IL-6), chemochine (es CCL2, CCL5, CXCL8) ed enzimi reattivi (per esempio COX-2), che stimolano ulteriormente la risposta infiammatoria, amplificando il reclutamento di nuove cellule e infiammatorie in sede tumorale.

La citochina **IL-6** attiva il fattore di trascrizione STAT3, un altro regolatore importante di infiammazione e di promozione dei tumori. Nelle cellule tumorali STAT3 stimola la sopravvivenza e la proliferazione cellulare, mentre nei macrofagi la sua attivazione persistente conduce alla soppressione immunitaria.

D'altra parte poco è noto riguardo i meccanismi che portano all'iniziazione tumorale nel contesto dell'infiammazione cronica. Ci sono prove che i mediatori infiammatori quali **citochine**, **specie reattive dell'ossigeno** (ROS) e **specie reattive del nitrogeno** (RNS) inducano alterazioni epigenetiche in cellule precancerose, provochino il silenziamento di geni oncosoppressori e l'inibizione dei meccanismi di riparazione del DNA<sup>viii</sup>. Alcune citochine infiammatorie ed altri mediatori aumentano la sopravvivenza delle cellule tumorali, la motilità e l'invasività e favoriscono inoltre la capacità angiogenetica, che è fondamentale per consentire l'arrivo di ossigeno, nutrienti e

fattori di crescita a livello delle cellule tumorali<sup>ix x</sup>.

In questo modo, l'infiammazione cronica favorisce l'accumulo di **mutazioni del DNA** ed incrementa il potenziale proliferativo delle cellule. Si ritiene che questo processo di cancerogenesi indotta dall'infiammazione possa richiedere diversi anni, come conseguenza di un mancato equilibrio tra mutazioni casuali continue e riparazione del DNA, morte cellulare e proliferazione cellulare, riconoscimento o fuga dal controllo del sistema immunitario.

Mentre negli ultimi 15 anni vi è stato un incredibile progresso nella comprensione dei meccanismi attraverso i quali l'infiammazione legata al cancro avrebbe un impatto negativo sulla progressione dei tumori, poco è a tutt'oggi noto circa gli **effetti di infiammazione cronica sulla cancerogenesi**. Si ritiene che l'esposizione a lungo termine dei mediatori infiammatori (citochine, reattive dell'ossigeno e specie di azoto) provochi danni genotossici al DNA, mettendo sotto pressione continua il sistema di riparazione del DNA. Le cellule in cui la risposta di riparazione del DNA è inibita o funziona meno sono ad alto rischio di instabilità genomica e sono più predisposte alla trasformazione maligna. I meccanismi alla base di questi processi sono, al momento, poco conosciuti.

## **MACROFAGI ASSOCIATI AL TUMORE**

I **macrofagi associati al tumore** (TAM) sono cellule dell'immunità innata abbondantemente presenti nei siti tumorali. Si tratta di iniziatori chiave dell'infiammazione persistente presenti nel microambiente tumorale (TME), in quanto sono i principali produttori di mediatori reattivi che perpetuano e amplificano la cascata infiammatoria<sup>xi xii</sup>.

Una caratteristica tipica dei macrofagi è la loro **plasticità funzionale**. L'acquisizione delle loro diverse funzioni è proprio dettata da specifici stimoli locali che attivano programmi funzionali distinti: in realtà sono sia in grado di combattere l'insorgenza e la progressione tumorale, sia di portare all'iniziazione tumorale<sup>xiii</sup>.

I macrofagi possono essere classificati, anche se in modo semplicistico, in **M1** o macrofagi classici, che hanno il fenotipo soppressore del tumore e sono in grado di produrre una grande quantità di citochine infiammatorie ed **M2** o macrofagi alternativi, che hanno fenotipo immuno-soppressivo e regolano l'attività trofica dei tessuti e l'angiogenesi<sup>xiv xv xvi</sup>.

I macrofagi svolgono molte funzioni per promuovere la **progressione del tumore**: producono fattori di crescita e di sopravvivenza per le cellule tumorali e la vascolarizzazione (neoangiogenesi), contribuiscono alla degradazione della matrice extracellulare ed al rimodellamento, facilitano l'invasione delle cellule tumorali e le metastasi, producono mediatori immunitari che sopprimono

l'immunità anti-tumorale<sup>xvii xviii</sup>.

Di conseguenza, la quantità di TAM nella maggior parte dei tumori solidi ed ematologici è stata associata ad una **prognosi infausta ed alla resistenza alle terapie**<sup>xix</sup>.

I TAM hanno una limitata azione citotossica contro le cellule neoplastiche e secondo alcuni studi sembra che siano appunto in grado di favorire la proliferazione tumorale, la degradazione della matrice extracellulare e la capacità di sfuggire al controllo del sistema immunitario<sup>xx xxi xxii xxiii xxiv</sup>.

Inoltre, la presenza dei TAM nel tessuto tumorale è associata con la **rapidità di progressione**<sup>xxv xxvi</sup>.

I macrofagi costituiscono, dunque, una sorgente di mediatori infiammatori a livello del sito tumorale. Questo avviene anche per il MPM, sebbene sia stato riportato in letteratura che anche le cellule mesoteliali della pleura siano in grado di **produrre mediatori reattivi** in risposta alle fibre di asbesto.

Sulla base di attività funzionali e dei profili di espressione genica alcuni ricercatori hanno dimostrato che i TAM sono i macrofagi M2 polarizzati<sup>xxvii</sup>. Inoltre, sono stati caratterizzati TAM in diversi modelli tumorali di topo e sono state definite le vie infiammatorie maggiormente coinvolte nell'attività pro-tumorale<sup>xxviii xxix</sup>.

Negli ultimi anni c'è stata una forte enfasi nell'individuazione dei macrofagi a livello del sito tumorale per **scopi terapeutici**. Inoltre, è stato dimostrato che l'inibizione di queste cellule in contesti sperimentali limiterebbe la crescita del tumore e la diffusione metastatica<sup>xxx</sup>. L'inibizione del reclutamento di monociti nei siti tumorali, in combinazione con la chemioterapia, sembrerebbe incrementare in modo significativo l'efficacia del trattamento terapeutico in topi affetti da tumore. Probabilmente questo è dovuto al fatto che la presenza di TAM e cellule mieloidi è fortemente implicata anche nel fallimento delle terapie anti-tumorali<sup>xxxi xxxii xxxiii</sup>. Recenti studi clinici stanno inoltre fornendo risultati interessanti, utilizzando degli inibitori che limitino l'azione delle chemochine<sup>xxxiv</sup>.

## MESOTELIOMA PLEURICO

Il mesotelioma pleurico è una condizione patologica caratterizzata da un'inflammatione cronica persistente. È un tumore molto aggressivo causato dalla **trasformazione neoplastica delle cellule mesoteliali** che rivestono le cavità sierose del corpo e gli organi interni; nel 80% dei casi è di origine pleurica ed è definito come mesotelioma pleurico maligno (MPM)<sup>xxxv</sup>. MPM viene solitamente individuato in **stadio avanzato**, poichè non esistono dei marcatori che consentano una diagnosi precoce<sup>xxxvi</sup>. Il mesotelioma maligno è quasi insensibile alla chemioterapia attuale ed ha una sopravvivenza globale ancora molto limitata.

Si tratta di una malattia altamente maligna associata ad una esposizione di lunga durata ad **amianto o altre fibre particolate**<sup>xxxvii</sup>. Infatti, la sua incidenza è fortemente associata all'esposizione alle fibre di asbesto aerodisperse<sup>xxxviii</sup>. Dopo l'introduzione di amianto nei polmoni, i macrofagi sono reclutati localmente ed attivati nel tentativo di eliminare le fibre, ma non sono in grado di attuare questa "pulizia", a causa della natura non degradabile dell'amianto. Questa mancata degradazione delle fibre di amianto da parte dei macrofagi porta ad uno stato di **infiammazione cronica** e ad una risposta fibrogenica da parte dei fibroblasti, che a lungo termine facilita trasformazione delle cellule pleuriche sane in tumoral<sup>xxxix xl xli xlii</sup>.

Le fibre inalate non sono dunque degradabili e causano uno stato di infiammazione locale persistente. A causa della natura volatile delle fibre di particolato, non solo le persone che lavorano direttamente con l'amianto, ma può essere colpita l'intera popolazione che abita in aree in cui l'asbesto era presente. Pertanto, è possibile affermare che il mesotelioma maligno è un tumore sicuramente correlato con l'infiammazione cronica<sup>xliii</sup>.

Le **anomalie genetiche legate al MPM** sono stati ampiamente studiate. Infatti, è stata trovata una vasta gamma di mutazioni genetiche tra cui per esempio BAP1, CDKN2A, Ras, Wnt, p16, TP53, SMACB1, NF2, PIK3CA<sup>xliv xlv xlvi</sup>.

Questo ampio spettro di mutazioni genetiche indica che la proliferazione anomala delle cellule neoplastiche non è causata dall'attività oncogenica di uno o di alcuni oncogeni, come avviene in molti tumori (ad es KRAS e cancro al pancreas o al polmone, BRCA1 e il cancro al seno)<sup>xlvi xlviii</sup>. In questo caso, si tratta piuttosto del risultato di un danno casuale al DNA, dovuto ad una condizione a monte (ad esempio infiammazione di lunga durata), a riprova che l'infiammazione è una delle cause principali di carcinogenesi<sup>xlix l</sup>.

E' noto che alcuni polimorfismi di geni correlati all'infiammazione, predispongono alla malattia. Ad esempio, SNPs in recettori Toll-like sono stati correlati ad infezioni e malattie infiammatorie croniche<sup>li</sup>. Per esempio SNPs del gene NLRP3 sembrerebbero correlati alla suscettibilità al virus HIV, alla malattia di Crohn, all'artrite reumatoide e al diabete<sup>lii liii liv</sup>. Girardelli e coll. hanno dimostrato che nei pazienti affetti MPM gli SNPs nel gene NLRP1 sono più frequenti<sup>lv</sup>.

Diversi studi hanno riportato l'espressione di **mediatori infiammatori** nel MPM<sup>lvi lvii lviii</sup>. Hegmans JP e coll. ha dimostrato che l'infiltrato cellulare infiammatorio di MPM è ricco di macrofagi, suggerendo un ruolo fondamentale di queste cellule nella biologia del mesotelioma<sup>lix</sup>.

E' noto che le fibre di amianto portano al substrato infiammatorio<sup>lx lxi</sup>. Il richiamo dei macrofagi è indotto anche dagli adipociti coinvolti nell'infiammazione causata dalla presenza di amianto. Infatti alcuni ricercatori hanno dimostrato che gli adipociti esposti alle fibre di amianto sono in grado di produrre citochine infiammatorie (IL6 e CCL2), che a loro volta richiamano e reclutano macrofagi nel microambiente infiammatorio.

Tuttavia a tutt'oggi non è ancora disponibile una caratterizzazione completa delle vie infiammatorie coinvolte nel MPM.

## **CONCLUSIONI**

L'**infiammazione** è presente nel **microambiente che circonda il tessuto tumorale** e, probabilmente, non è semplicemente una caratteristica cellulare circostante alla neoplasia, ma risulta piuttosto una componente attiva ed implicata nella carcinogenesi.

Diversi studi si propongono di studiare i meccanismi che portano alla trasformazione neoplastica di varie neoplasie e, tra queste, del **mesotelioma**, concentrandosi sulla risposta infiammatoria.

I ricercatori attualmente si propongono di capire quali siano le vie infiammatorie sono più coinvolte nell'insorgenza e nella progressione del mesotelioma e se esistano specifiche caratteristiche in grado di spiegare perché gli individui selezionati sviluppano la malattia.

Sarebbe fondamentale identificare i **soggetti ad alto rischio** di sviluppare il mesotelioma ed incrementare le conoscenze sull'infiammazione cronica e la sua **capacità di predisporre alla carcinogenesi**.

Queste ricerche potrebbero portare alla scoperta di **nuovi target** molecolari utili per la terapia o per la medicina di prevenzione<sup>lxii</sup>.

- 
- i Balkwill F, Mantovani A, Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet*. 2001; 357(9255):539-545.
- ii Hillegass JM, Shukla A, Lathrop SA, et al; Inflammation precedes the development to human malignant mesotheliomas in a SCID mouse xenograft model. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2010; 1203(1):7-14
- iii Coussens M, Werb Z, Inflammation and cancer, *Nature*. 2002; 420(6917):860-867
- iv Sethi G, Shanmugam MK, Ramachandran L, Kumar AP, Tergaonkar V. Multifaceted link between cancer and inflammation. *Biosci Rep*. 2012;32(1):1-15
- v Colotta F, Allavena P, Sica A, Garlanda C, Mantovani A. Cancer-related inflammation, the seventh hallmark of cancer: links to genetic instability. *Carcinogenesis*. 2009;30(7):1073-1081
- vi Hanahan, D.; Weinberg, R.A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011, 144, 646-674.
- vii Belgiovine, C.; Chiodi, I.; Mondello, C. Relocalization of cell adhesion molecules during neoplastic transformation of human fibroblasts. *Int J Oncol* 2011, 39, 1199-1204.
- viii Grivennikov, S.I.; Karin, M. Inflammation and oncogenesis: a vicious connection. *Curr Opin Genet Dev* 2010, 20, 65-71.
- ix DeNardo, D.G.; Johansson, M.; Coussens, L.M. Immune cells as mediators of solid tumor metastasis. *Cancer Metastasis Rev* 2008, 27, 11-18.
- x Zumsteg, A.; Christofori, G. Corrupt policemen: inflammatory cells promote tumor angiogenesis. *Curr Opin Oncol* 2009, 21, 60-70.
- xi Solinas, G.; Schiarea, S.; Liguori, M.; Fabbri, M.; Pesce, S.; Zammataro, L.; Pasqualini, F.; Nebuloni, M.; Chiabrando, C.; Mantovani, A.; Allavena, P. Tumor-conditioned macrophages secrete migration-stimulating factor: a new marker for M2-polarization, influencing tumor cell motility. *J Immunol* 2010, 185, 642-652.
- xii Liguori, M.; Solinas, G.; Germano, G.; Mantovani, A.; Allavena, P. Tumor-associated macrophages as incessant builders and destroyers of the cancer stroma. *Cancers (Basel)* 2011, 3, 3740-3761.
- xiii Solinas, G.; Germano, G.; Mantovani, A.; Allavena, P. Tumor-associated macrophages (TAM) as major players of the cancer-related inflammation. *J Leukoc Biol* 2009, 86, 1065-1073.
- xiv Martinez, F.O.; Helming, L.; Gordon, S. Alternative activation of macrophages: an immunologic functional perspective. *Annu Rev Immunol* 2009, 27, 451-483.
- xv Martinez, F.O.; Sica, A.; Mantovani, A.; Locati, M. Macrophage activation and polarization. *Front Biosci* 2008, 13, 453-461.
- xvi Ferrara, N. Role of myeloid cells in vascular endothelial growth factor-independent tumor

---

angiogenesis. *Curr Opin Hematol* 2010, 17, 219-224.

<sup>xvii</sup> Allavena, P.; Mantovani, A. Immunology in the clinic review series; focus on cancer: tumour-associated macrophages: undisputed stars of the inflammatory tumour microenvironment. *Clin Exp Immunol* 2012, 167, 195-205.

<sup>xviii</sup> Castelli, C.; Rivoltini, L.; Rodolfo, M.; Tazzari, M.; Belgiovine, C.; Allavena, P. Modulation of the myeloid compartment of the immune system by angiogenic-and kinase inhibitor-targeted anti-cancer therapies. *Cancer Immunol Immunother* 2015, 64, 83-89.

<sup>xix</sup> Pollard, J.W. Tumour-educated macrophages promote tumour progression and metastasis. *Nat Rev Cancer* 2004, 4, 71-78.

<sup>xx</sup> Condeelis, J.; Pollard, J.W. Macrophages: obligate partners for tumor cell migration, invasion, and metastasis. *Cell* 2006, 124, 263-266.

<sup>xxi</sup> Bingle, L.; Brown, N.J.; Lewis, C.E. The role of tumour-associated macrophages in tumour progression: implications for new anticancer therapies. *J Pathol* 2002, 196, 254-265.

<sup>xxii</sup> Allavena, P.; Mantovani, A. Immunology in the clinic review series; focus on cancer: tumour-associated macrophages: undisputed stars of the inflammatory tumour microenvironment. *Clin Exp Immunol* 2012, 167, 195-205.

<sup>xxiii</sup> Joyce, J.A.; Pollard, J.W. Microenvironmental regulation of metastasis. *Nat Rev Cancer* 2009, 9, 239-252.

<sup>xxiv</sup> Mantovani, A.; Allavena, P. The interaction of anticancer therapies with tumor associated macrophages. *J Exp Med* 2015, 212, 435-445.

<sup>xxv</sup> Bingle, L.; Brown, N.J.; Lewis, C.E. The role of tumour-associated macrophages in tumour progression: implications for new anticancer therapies. *J Pathol* 2002, 196, 254-265.

<sup>xxvi</sup> Allavena, P.; Mantovani, A. Immunology in the clinic review series; focus on cancer: tumour-associated macrophages: undisputed stars of the inflammatory tumour microenvironment. *Clin Exp Immunol* 2012, 167, 195-205.

<sup>xxvii</sup> Mantovani, A.; Sozzani, S.; Locati, M.; Allavena, P.; Sica, A. Macrophage polarization: tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes. *Trends Immunol* 2002, 23, 549-555.

<sup>xxviii</sup> Germano, G.; Frapolli, R.; Belgiovine, C.; Anselmo, A.; Pesce, S.; Liguori, M.; Erba, E.; Uboldi, S.; Zucchetti, M.; Pasqualini, F.; Nebuloni, M.; van Rooijen, N.; Mortarini, R.; Beltrame, L.; Marchini, S.; Fuso Nerini, I.; Sanfilippo, R.; Casali, P.G.; Pilotti, S.; Galmarini, C.M.; Anichini, A.; Mantovani, A.; D'Incalci, M.; Allavena, P. Role of macrophage targeting in the antitumor activity of trabectedin. *Cancer Cell* 2013, 23, 249-262.

<sup>xxix</sup> Germano, G.; Frapolli, R.; Simone, M.; Tavecchio, M.; Erba, E.; Pesce, S.; Pasqualini, F.;

---

Grosso, F.; Sanfilippo, R.; Casali, P.G.; Gronchi, A.; Viridis, E.; Tarantino, E.; Pilotti, S.; Greco, A.; Nebuloni, M.; Galmarini, C.M.; Tercero, J.C.; Mantovani, A.; D'Incalci, M.; Allavena, P. Antitumor and anti-inflammatory effects of trabectedin on human myxoid liposarcoma cells. *Cancer Res* 2010, 70, 2235-2244.

<sup>xxx</sup> Qian, B.Z.; Pollard, J.W. Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis. *Cell* 2010, 141, 39-51.

<sup>xxx</sup><sub>i</sub> Welford, A.F.; Biziato, D.; Coffelt, S.B.; Nucera, S.; Fisher, M.; Pucci, F.; Di Serio, C.; Naldini, L.; De Palma, M.; Tozer, G.M.; Lewis, C.E. TIE2-expressing macrophages limit the therapeutic efficacy of the vascular-disrupting agent combretastatin A4 phosphate in mice. *J Clin Invest* 2011, 121, 1969-1973.

<sup>xxx</sup><sub>ii</sub> DeNardo, D.G.; Brennan, D.J.; Rexhepaj, E.; Ruffell, B.; Shiao, S.L.; Madden, S.F.; Gallagher, W.M.; Wadhvani, N.; Keil, S.D.; Junaid, S.A.; Rugo, H.S.; Hwang, E.S.; Jirstrom, K.; West, B.L.; Coussens, L.M. Leukocyte complexity predicts breast cancer survival and functionally regulates response to chemotherapy. *Cancer Discov* 2011, 1, 54-67.

<sup>xxx</sup><sub>iii</sub> Sluijter, M.; van der Sluis, T.C.; van der Velden, P.A.; Versluis, M.; West, B.L.; van der Burg, S.H.; van Hall, T. Inhibition of CSF-1R supports T-cell mediated melanoma therapy. *PLoS One* 2014, 9, e104230.

<sup>xxx</sup><sub>iv</sub> Zhu, Y.; Knolhoff, B.L.; Meyer, M.A.; Nywening, T.M.; West, B.L.; Luo, J.; Wang-Gillam, A.; Goedegebuure, S.P.; Linehan, D.C.; DeNardo, D.G. CSF1/CSF1R blockade reprograms tumor-infiltrating macrophages and improves response to T-cell checkpoint immunotherapy in pancreatic cancer models. *Cancer Res* 2014, 74, 5057-5069.

<sup>xxx</sup><sub>v</sub> Robinson, B.W.; Lake, R.A. Advances in malignant mesothelioma. *N Engl J Med* 2005, 353, 1591-1603.

<sup>xxx</sup><sub>vi</sub> Sekido, Y. Molecular pathogenesis of malignant mesothelioma. *Carcinogenesis* 2013, 34, 1413-1419.

<sup>xxx</sup><sub>vii</sub> Below, J.E.; Cox, N.J.; Fukagawa, N.K.; Hirvonen, A.; Testa, J.R. Factors that impact susceptibility to fiber-induced health effects. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev* 2011, 14, 246-266.

<sup>xxx</sup><sub>viii</sub> Liu, G.; Cheresch, P.; Kamp, D.W. Molecular basis of asbestos-induced lung disease. *Annu Rev Pathol* 2013, 8, 161-187.

<sup>xxx</sup><sub>ix</sub> Liu, G.; Cheresch, P.; Kamp, D.W. Molecular basis of asbestos-induced lung disease. *Annu Rev Pathol* 2013, 8, 161-187.

<sup>xi</sup> Mossman, B.T.; Churg, A. Mechanisms in the pathogenesis of asbestosis and silicosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998, 157, 1666-1680.

- 
- <sup>xli</sup> Mossman, B.T.; Lippmann, M.; Hesterberg, T.W.; Kelsey, K.T.; Barchowsky, A.; Bonner, J.C. Pulmonary endpoints (lung carcinomas and asbestosis) following inhalation exposure to asbestos. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev* 2011, 14, 76-12.
- <sup>xlii</sup> Bograd, A.J.; Suzuki, K.; Vertes, E.; Colovos, C.; Morales, E.A.; Sadelain, M.; Adusumilli, P.S. Immune responses and immunotherapeutic interventions in malignant pleural mesothelioma. *Cancer Immunol Immunother* 2011, 60, 1509-1527.
- <sup>xliii</sup> Davis, M.R.; Manning, L.S.; Whitaker, D.; Garlepp, M.J.; Robinson, B.W. Establishment of a murine model of malignant mesothelioma. *Int J Cancer* 1992, 52, 881886.
- <sup>xliv</sup> Guo, G.; Chmielecki, J.; Goparaju, C.; Heguy, A.; Dolgalev, I.; Carbone, M.; Seepo, S.; Meyerson, M.; Pass, H.I. Whole-exome sequencing reveals frequent genetic alterations in BAP1, NF2, CDKN2A, and CUL1 in malignant pleural mesothelioma. *Cancer Res* 2015, 75, 264-269.
- <sup>xlv</sup> de Assis, L.V.; Locatelli, J.; Isoldi, M.C. The role of key genes and pathways involved in the tumorigenesis of Malignant Mesothelioma. *Biochim Biophys Acta* 2014, 1845, 232-247.
- <sup>xlvi</sup> Belgiovine, C.; Frapolli, R.; Bonezzi, K.; Chiodi, I.; Favero, F.; Mello-Grand, M.; Dei Tos, A.P.; Giulotto, E.; Tarabozzi, G.; D'Incalci, M.; Mondello, C. Reduced expression of the ROCK inhibitor Rnd3 is associated with increased invasiveness and metastatic potential in mesenchymal tumor cells. *PLoS One* 2010, 5, e14154.
- <sup>xlvii</sup> Testa, J.R.; Cheung, M.; Pei, J.; Below, J.E.; Tan, Y.; Sementino, E.; Cox, N.J.; Dogan, A.U.; Pass, H.I.; Trusa, S.; Hesdorffer, M.; Nasu, M.; Powers, A.; Rivera, Z.; Comertpay, S.; Tanji, M.; Gaudino, G.; Yang, H.; Carbone, M. Germline BAP1 mutations predispose to malignant mesothelioma. *Nat Genet* 2011, 43, 1022-1025.
- <sup>xlviii</sup> de Bakker, P.I.; Yelensky, R.; Pe'er, I.; Gabriel, S.B.; Daly, M.J.; Altshuler, D. Efficiency and power in genetic association studies. *Nat Genet* 2005, 37, 1217-1223.
- <sup>xlix</sup> Matullo, G.; Guarrera, S.; Betti, M.; Fiorito, G.; Ferrante, D.; Voglino, F.; Cadby, G.; Di Gaetano, C.; Rosa, F.; Russo, A.; Hirvonen, A.; Casalone, E.; Tunesi, S.; Padoan, M.; Giordano, M.; Aspesi, A.; Casadio, C.; Ardisson, F.; Ruffini, E.; Betta, P.G.; Libener, R.; Guaschino, R.; Piccolini, E.; Neri, M.; Musk, A.W.; de Klerk, N.H.; Hui, J.; Beilby, J.; James, A.L.; Creaney, J.; Robinson, B.W.; Mukherjee, S.; Palmer, L.J.; Mirabelli, D.; Ugolini, D.; Bonassi, S.; Magnani, C.; Dianzani, I. Genetic variants associated with increased risk of malignant pleural mesothelioma: a genome-wide association study. *PLoS One* 2013.
- <sup>1</sup> Melaiu, O.; Melissari, E.; Mutti, L.; Bracci, E.; De Santi, C.; Iofrida, C.; Di Russo, M.; Cristaudo, A.; Bonotti, A.; Cipollini, M.; Garritano, S.I.; Foddìs, R.; Lucchi, M.; Pellegrini, S.; Gemignani, F.; Landi, S. Expression status of candidate genes in mesothelioma tissues and cell lines. *Mutat Res* 2015, 771, 6-12.

- 
- li Noreen, M.; Arshad, M. Association of TLR1, TLR2, TLR4, TLR6, and TIRAP polymorphisms with disease susceptibility. *Immunol Res* 2015.
- lii Pontillo, A.; Brandao, L.; Guimaraes, R.; Segat, L.; Araujo, J.; Crovella, S. Two SNPs in NLRP3 gene are involved in the predisposition to type-1 diabetes and celiac disease in a pediatric population from northeast Brazil. *Autoimmunity* 2010, 43, 583-589.
- liii Pontillo, A.; Brandao, L.A.; Guimaraes, R.L.; Segat, L.; Athanasakis, E.; Crovella, S. A 3'UTR SNP in NLRP3 gene is associated with susceptibility to HIV-1 infection. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2010, 54, 236-240.
- liv Girardelli, M.; Maestri, I.; Rinaldi, R.R.; Tognon, M.; Boldorini, R.; Bovenzi, M.; Crovella, S.; Comar, M. NLRP1 polymorphisms in patients with asbestos-associated mesothelioma. *Infect Agent Cancer* 2012, 7, 25.
- lv Girardelli, M.; Maestri, I.; Rinaldi, R.R.; Tognon, M.; Boldorini, R.; Bovenzi, M.; Crovella, S.; Comar, M. NLRP1 polymorphisms in patients with asbestos-associated mesothelioma. *Infect Agent Cancer* 2012, 7, 25.
- lvi Thompson, J.K.; Westbom, C.M.; MacPherson, M.B.; Mossman, B.T.; Heintz, N.H.; Spiess, P.; Shukla, A. Asbestos modulates thioredoxin-thioredoxin interacting protein interaction to regulate inflammasome activation. *Part Fibre Toxicol* 2014, 11, 24.
- lvii Izzi, V.; Masuelli, L.; Tresoldi, I.; Foti, C.; Modesti, A.; Bei, R. Immunity and malignant mesothelioma: from mesothelial cell damage to tumor development and immune response-based therapies. *Cancer Lett* 2012, 322, 18-34.
- lviii Hegmans, J.P.; Hemmes, A.; Hammad, H.; Boon, L.; Hoogsteden, H.C.; Lambrecht, B.N. Mesothelioma environment comprises cytokines and T-regulatory cells that suppress immune responses. *Eur Respir J* 2006, 27, 1086-1095.
- lix Hegmans, J.P.; Hemmes, A.; Hammad, H.; Boon, L.; Hoogsteden, H.C.; Lambrecht, B.N. Mesothelioma environment comprises cytokines and T-regulatory cells that suppress immune responses. *Eur Respir J* 2006, 27, 1086-1095.
- lx Chow, M.T.; Tschopp, J.; Moller, A.; Smyth, M.J. NLRP3 promotes inflammation induced skin cancer but is dispensable for asbestos-induced mesothelioma. *Immunol Cell Biol* 2012, 90, 983-986.
- lxi Pavan, C.; Rabolli, V.; Tomatis, M.; Fubini, B.; Lison, D. Why does the hemolytic activity of silica predict its pro-inflammatory activity? *Part Fibre Toxicol* 2014, 11, 76.
- lxii D'Incalci, M.; Badri, N.; Galmarini, C.M.; Allavena, P. Trabectedin, a drug acting on both cancer cells and the tumour microenvironment. *Br J Cancer* 2014, 111, 646-650.