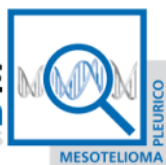

FONDAZIONE
Buzzi Unicem

ONLUS



Revisione Bibliografica Secondo semestre 2013

Gennaio 2013

Elisa Roca (elisaroca@gmail.com)

Mesotelioma Pleurico Maligno: dal bancone del laboratorio al letto del paziente

Introduzione

Il mesotelioma pleurico maligno (MPM) è una neoplasia rara ma con un'incidenza in crescita, caratterizzata da un'alta aggressività che comporta una prognosi spesso infausta. Attualmente non è ancora stata definita con chiarezza la perfetta gestione terapeutica di questa patologia, poiché non esiste ancora un trattamento di efficacia indiscussa. Tuttavia esistono delle linee guida pratiche che sono state proposte da diverse società scientifiche e che vengono applicate nella comune pratica clinica. Queste linee guida hanno enfatizzato la difficoltà diagnostica del MPM ed hanno evidenziato gli scarsi risultati dei trattamenti attuali, sottolineando in questo modo la necessità di terapie innovative e di tecniche di monitoraggio dei pazienti affetti da questa patologia. Sebbene la prognosi del MPM sia spesso infausta e le prospettive risultino pessimistiche, recenti studi riguardanti la patogenesi e la biologia di questa malattia hanno evidenziato delle scoperte interessanti, che incoraggiano a promettenti progressi futuri, significativi per il trattamento di questi pazienti. La ricerca translazionale riguardo a questa patologia sta avanzando molto e diverse vie molecolari oncogeniche correlate alla crescita ed alla progressione del MPM sono state caratterizzate e meglio definite, portando ad interessanti sviluppi farmaceutici. Tuttavia, sono necessari ulteriori studi maggiormente approfonditi, per definire più in dettaglio i processi che vanno dal precoce aumento della proliferazione mesoteliale fino alla progressione in mesotelioma invasivo. Tutte queste informazioni contribuiranno alla definizione di una terapia efficace e sempre più personalizzata per i pazienti affetti da questa neoplasia.

L'obiettivo di questa revisione bibliografica della letteratura scientifica è, dunque, quello di fornire una panoramica riguardante i recenti progressi nella conoscenza della biologia del MPM e le loro potenziali applicazioni diagnostico-terapeutiche.

Verrà preferito un linguaggio poco specifico per rendere questo testo di facile divulgazione ed accessibile ad un pubblico variegato. Pertanto si rimandano gli interessati e gli esperti al capitolo relativo alle referenze, che potrà essere utile per tutti i lettori che vorranno approfondire più in dettaglio gli studi analizzati in questa revisione.

Nuovi approcci terapeutici

Il ruolo della chirurgia e della radioterapia nel trattamento del MPM rimane ancora controverso e ulteriori studi potranno eventualmente apportare delle informazioni maggiori a questo riguardo. La terapia medica, invece, è considerata lo standard terapeutico della comune pratica clinica ed, in particolare, la combinazione chemioterapica a base di composti del platino in associazione con alcuni antimetaboliti (pemetrexed/raltitrexed) è stata considerata la terapia ottimale di prima linea per i pazienti affetti da MPM (1,2). Tuttavia, i risultati ottenuti risultano limitati soprattutto in termini di sopravvivenza.

L'obiettivo principale è quello di incrementare le conoscenze riguardanti la patogenesi del MPM, per definire e migliorare terapie bersaglio e nuovi agenti terapeutici, che sono attualmente in corso di studio. Questa revisione della letteratura scientifica si propone di mostrare i principali approcci terapeutici attualmente analizzati in studi preclinici e clinici.

La crescita epiteliale Factor Receptor

Il recettore del fattore di crescita epiteliale (EGFR) svolge un ruolo nella proliferazione, nella differenziazione, nella migrazione, nell'adesione e nella sopravvivenza cellulare (3) e risulta sovraespresso in più del 50% dei pazienti affetti da MPM (4). L'espressione di questo recettore a livello delle cellule di mesotelioma ha portato all'ipotesi di una terapia bersaglio contro l'EGFR per cercare di inibirlo e di impedire la sua attività incontrollata e spesso deleteria. Per questo motivo, diversi studi hanno valutato l'efficacia di farmaci inibitori dell'EGFR come il gefitinib o l'erlotinib in pazienti che non erano mai stati trattati con chemioterapia. Queste ricerche hanno mostrato che questi farmaci, somministrati in monoterapia e quindi non associati ad alcuna chemioterapia standard, non risultano molto efficaci come prima line di trattamento nel MPM (5, 6, 7). Tuttavia, nonostante vi sia un'importante espressione del recettore dell'EGF nel mesotelioma, la spiegazione per la scarsa efficacia degli inibitori EGFR potrebbe essere legata alla rarità delle mutazioni di questo stesso recettore (8).

Ci sono studi discordi riguardo alla correlazione esistente tra la sovraespressione dell'EGFR nelle cellule mesoteliali e la risposta al trattamento con gli inibitori di questo recettore. Alcuni gruppi di ricerca hanno provato che non esiste alcuna relazione tra la sovraespressione di EGFR e il decorso clinico ("outcome") dei pazienti affetti da MPM (9,10); altri, invece, dimostrano che i pazienti con un'aumentata espressione del recettore possono avere un outcome migliore (11-14). La discrepanza dei risultati conferma la necessità di ulteriori ricerche per definire al meglio questi risultati. In ogni caso, è stato dimostrato che la sovraespressione di EGFR nel MPM è più comune nel sottotipo istologico epiteliale, che è associato ad una miglior sopravvivenza del paziente, ma non è un marcatore prognostico indipendente (13,14).

Recenti risultati hanno segnalato la presenza di un'importante rete di comunicazione tra la via del EGFR e le altre vie di segnalazione cellulare. Ad esempio, alcune proteine come PI3K e AKT che giocano un ruolo nella via di segnalazione dell'EGFR, agiscono anche in altri percorsi di crescita cellulare ed interagiscono con altri fattori come per esempio c-MET e IGF-1 (15,17). E' stata documentata istologicamente la sovraespressione della proteina c-MET nel MPM ed anche in alcuni campioni di pleura normale. Secondo questo razionale, sono stati testati degli inibitori di cMET nelle linee cellulari di mesotelioma; i primi risultati hanno dimostrato un'inibizione dosedipendente della crescita tumorale (18).

Un'inibizione dose-dipendente di questo tipo è stata notata anche in linee cellulari di MPM sottoposte ad inibitori del recettore IGF- (19). Inoltre, è stata dimostrato anche un aumento dell'effetto citotossico del cisplatino se somministrato in associazione con questi inibitori (20). Un'importante comunicazione biologica è presente anche tra EGFR la ciclossigenasi 2 (COX-2) (21). La COX2 risulta sovraespressa in molti tumori solidi e, per questo motivo, viene considerata come un potenziale bersaglio terapeutico (22-24). Nel MPM, la ricerca immunoistochimica di questa proteina ha dimostrato una sua sovraespressione nel 59-100% dei campioni tumorali analizzati (25-27). Inoltre, è stato dimostrato che il trattamento di linee cellulari di mesotelioma con gli inibitori delle COX2 comportano una citotossicità indotta oltre che un potenziamento dell'effetto del pemetrexed (28-29).

K-ras, BRAF e mutazioni PI3KCA

Nella ricerca di bersagli terapeutici, i ricercatori hanno analizzato l'eventuale presenza di mutazioni genetiche correlate con la patogenesi neoplastica. Per questo motivo, è stata ricercata la mutazione dei geni K-ras, BRAF e PI3KA.

Purtroppo, i primi studi effettuati non hanno rivelato la presenza di alterazioni genetiche a carico di

K-ras (30-32) ed hanno quindi ridimensionato le aspettative riguardanti un'eventuale terapia bersaglio nei confronti di questa proteina.

Sono state analizzate anche le mutazioni del gene BRAF e le ricerche effettuate hanno dimostrato che queste alterazioni risultano assenti in diversi tessuti e linee cellulari tumorali (33). Itri autori (34) hanno studiato differenti linee cellulari di MPM per analizzare anche il gene PI3ka, ma non è stata documentata alcuna mutazione.

PTEN

PTEN è una proteina che è stata analizzata nel MPM per valutare una possibile terapia volta all'interazione con questa via patogenetica.

Gli ultimi studi hanno dimostrato che in diversi campioni di mesotelioma esiste una perdita di espressione della proteina e che l'alterazione di questa espressione proteica può essere considerata un valore prognostico negativo. Infatti, i pazienti che avevano una diminuita o assente espressione di PTEN erano caratterizzati da una peggiore prognosi, quelli invece che non avevano questa alterazione genetica avevano una sopravvivenza maggiore (35).

È stato, inoltre, notato che la perdita di espressione di PTEN comporterebbe un conseguente aumento dell'attività AKT, un altro importante fattore legato alla patogenesi del cancro (36, 34). In particolare, la perdita di espressione di PTEN, causando un'attivazione costitutiva di AKT, può indurre resistenza a diversi trattamenti biologici come gli inibitori dell'EGFR o gli anticorpi monoclonali anti-EGFR. Queste alterazioni hanno, dunque, conseguenze anche su altre vie patogenetiche e ciò dimostra la complessità della patogenesi e l'intersecato network che esiste tra questi fattori biologici.

VEGF / VEGF Recettori

Nelle cellule mesoteliali sono stati ricercati anche i recettori di VEGF e studi preclinici hanno dimostrato la loro espressione in pazienti affetti da MPM, sia a livello del tessuto tumorale, sia nel sangue periferico (37).

Il razionale dell'utilizzo di farmaci che inibiscano questa via biologica nasce dal fatto che i livelli di espressione di questi fattori risultano maggiori nei pazienti affetti da MPM, rispetto che in soggetti sani. Inoltre, l'aumento dei livelli di VEGF è risultato correlato con l'aumento della densità microvascolare e sembrerebbe associato ad una prognosi sfavorevole (38) oltre che alla probabilità di progressione di malattia (39-41).

Sono stati testati anticorpi anti-VEGF che risultano attivi nell'inibire questo fattore. Inoltre, vi sono studi che analizzano l'efficacia del trattamento combinato tra inibitori del VEGF e inibitori dell'EGF. Secondo queste ricerche, l'associazione di questi trattamenti comporterebbe una stabilità di malattia nel 50% dei pazienti, una sopravvivenza libera da progressione di 2,2 mese ed una sopravvivenza mediana di 5,8 mesi (42, 43).

Tra i farmaci attualmente in studio vi sono il vatalanib e il cediranib che sono inibitori del recettore di VEGF ed hanno un'attività antitumorale in diversi tumori solidi (44-47).

Semaxanib è un altro inibitore del recettore VEGF-1, ma agisce anche sul recettore PDGF (PDGFR) e su c-kit (48). Un altro farmaco è la talidomide che è stata testata in pazienti affetti da MPM ed ha portato ai seguenti risultati: nessuna risposta parziale o completa, il 27,5% dei pazienti era libero da progressione dopo 6 mesi, e la sopravvivenza globale media 7,6 mesi (49). Nei pazienti con MPM non reseccabile, è stato utilizzato il sorafenib che ha dimostrato un'attività limitata (50). Tuttavia questo farmaco è stato analizzato anche in combinazione con la doxorubicina e gli studi effettuati hanno confermato una buona tolleranza di questa associazione farmacologica, giustificando ulteriori indagini

cliniche (51).

Sunitinib è stato testato nel MPM, in uno studio clinico di fase II, come trattamento di seconda linea di trattamento dopo la chemioterapia con platino e antimetaboliti, apportando i seguenti risultati: risposta parziale nel 12% dei casi; stabilità di malattia nel 65% dei casi; tempo medio alla progressione di 3,5 mesi ed sopravvivenza globale di 7 mesi (Nowak et al., IMIG 2011, unpubl. dati). Diversi studi di fase II sono stati condotti per definire l'efficacia dell'imatinib mesilato nel MPM refrattario alla chemioterapia o in pazienti che non avevano mai ricevuto chemioterapia (52-54). Attualmente sono in corso studi di combinazione farmacologia tra l'imatinib, il cisplatino e il pemetrexed (55). Nuove ricerche stanno verificando l'utilità di questi farmaci che sembrerebbero essere attivi nel MPM grazie alla loro capacità di indurre apoptosi delle cellule tumorali e tramite l'inibizione di diverse vie metaboliche come per esempio quella di AKT/PI3K; inoltre, è stata dimostrata l'efficacia di questi composti in quanto sono in grado di aumentare la sensibilità del tumore alla chemioterapia con gemcitabina o pemetrexed (56).

PDGF / PDGFR

La scoperta di un'alta espressione del recettore del PDGF nelle cellule di mesotelioma ha meglio definito il razionale di un trattamento bersaglio nei confronti di questa molecola (57). L'aumento della secrezione di PDGF sembra correlato ad una condizione di trombocitemia, che a sua volta è considerato un fattore prognostico di eventi avversi e che si verifica in molti pazienti con MPM (58-59). Infatti, elevati livelli di PDGF nel siero di pazienti affetti da MPM sembrano essere un fattore predittore di prognosi infausta. Nelle cellule di MPM è stata dimostrata anche l'espressione di c-kit nel 26% dei casi e questo ha suggerito diversi studi clinici volti a testare l'imatinib in questa patologia (60). L'inibizione di PDGFR tramite la somministrazione di imatinib e paclitaxel ha dimostrato di ridurre la pressione del fluido interstiziale con un'eventuale conseguente miglioramento nella somministrazione di farmaci e l'aumento dell'efficacia in vitro (61). In uno studio di fase I con imatinib in combinazione con gemcitabina è stata documentata la risposta parziale a questo trattamento (62). Negli studi preclinici, dasatinib ha avuto effetti citotossici e portato ad una diminuzione della migrazione e dell'invasione in linee cellulari del mesotelioma (63-64).

PI3K/AKT/mTOR Pathway

La via biologica di PI3K/AKT/mTOR è spesso aberrante nel MPM, e diversi studi in vitro hanno dimostrato che l'inibizione di questo percorso intracellulare può indurre l'apoptosi nelle linee cellulari MPM (36, 65).

Il Sirolimus è un farmaco che è stato approvato come un immunosoppressore e che attualmente viene utilizzato soprattutto nel trapianto di reni e ha un effetto antiproliferativo sul percorso PI3K/AKT/mTOR.

Il temsirolimus, un derivato della rapamicina, è stato valutato in uno studio di fase I, ma non sono state documentate delle risposte interessanti (66). Sono in corso di studio anche delle associazioni di combinazione tra il cisplatino ed il sirolimus, che hanno dimostrato degli effetti antitumorali sinergici nelle linee cellulari di MPM (67).

Mesothelin

La mesotelina è altamente espressa in diversi tipi di cancro, compresi il tumore dell'ovaio, quello pancreatico, alcuni carcinomi squamosi e il sottotipo epitelioide del MPM (68, 69).

L'alta espressione di membrana della mesotelina nel MPM e la sua contemporanea limitata

distribuzione a livello del tessuto normale ha sollevato un interesse per questa proteina, considerandola un potenziale obiettivo antitumorale (70).

Gli studi preliminari non hanno ancora dimostrato grandi risultati (71); tuttavia, si stanno testando diversi agenti farmacologici che presentano un'attività bersaglio nei confronti della mesotelina (72). Sono stati documentati degli effetti sinergici tra la combinazione di questi nuovi agenti con la chemioterapia (73) offrendo dei risultati promettenti.

Ribonucleasi

Le ribonucleasi sono proteine che agiscono a livello del RNA cellulare e la ranpirnasi appartiene a questo gruppo proteico ed è stata testata per la sua possibile capacità di indurre l'apoptosi delle cellule tumorali e di inibire la crescita e a proliferazione cellulare.

Tuttavia, sono stati documentati diversi eventi avversi legati a questo trattamento come per esempio l'insufficienza renale, le reazioni allergiche, l'artralgia e l'edema periferico (73).

Asparagina-Glycine-Arginina-umana

Il TNF ha attività antitumorale nota che viene attuata mediante l'attivazione del apoptosi delle cellule tumorali. Questo potrebbe spingere al trattamento per via sistemica tramite questo farmaco, tuttavia, ci sono studi che dimostrano una tossicità elevata di questo farmaco e, dunque, per non creare effetti collaterali invalidanti dovrebbe essere somministrato ad una dose talmente bassa da risultare poco efficace (75-76).

Alcuni ricercatori hanno analizzato questa molecola ed hanno definito un farmaco composto dal TNF in associazione con un peptide (tumore-homing peptide asparaginaglicina-arginina (NGR)) che è in grado di legarsi selettivamente alle cellule mesoteliali, dimostrando una buona tolleranza del farmaco oltre che alcune promettenti risposte (77).

HDACi

È stato dimostrato che gli inibitori dell'istone deacetilasi (HDACi) alterano la crescita di numerosi tipi di cellule cancerogene. Queste molecole, molte delle quali sono state isolate da sorgenti naturali, hanno mostrato la capacità di inibire la proliferazione, indurre la differenziazione, e causare l'apoptosi delle cellule tumorali.

Dati preliminari su un studio di fase I ha suggerito vorinostat che possano esercitare attività clinicamente significativa in pazienti con mesotelioma (78). Tuttavia, esistono degli studi discordanti con i primi risultati ottenuti che non dimostrano un aumento della sopravvivenza grazie all'utilizzo di questo farmaco (79). Questa terapia è stata studiata anche in associazione con il carboplatino ed il paclitaxel (80) e sono state documentate delle stabilizzazioni di malattia.

Un altro farmaco appartenente a questa categoria è il belinostat che però non ha migliorato molto i risultati ottenuti con altri trattamenti (81). In ogni caso, ci sono studi in vitro che indicano un aumento dell'efficacia di questi inibitori se somministrati in combinazione con altri agenti (82, 83).

CBP501 EIMC-A12

Le cellule subiscono dei processi di controllo continuo per verificare che siano prive di alterazioni e possono progredire nel loro ciclo cellulare e moltiplicarsi oppure se abbiano delle anomalie per cui è necessario che il loro ciclo vitale si arresti e porti all'apoptosi e alla loro distruzione, per evitare danni più estesi. Esistono, dunque, dei veri e propri check-point che le cellule devono superare per ottenere

il “nulla osta” e procedere nel loro ciclo cellulare. Le cellule tumorali hanno la capacità di superare questi controlli, sebbene siano caratterizzate da anomalie cellulari, e riescono dunque a sfuggire alla loro distruzione.

Sono stati quindi definiti dei farmaci che agiscono su questi checkpoint con l’obiettivo di bloccare il ciclo cellulare di cellule tumorali che altrimenti proseguirebbero nella loro proliferazione e moltiplicazione (84). Vi sono anche delle ricerche che hanno documentato delle risposte parziali al trattamento con questi farmaci in combinazione con cisplatino (20), dovuto al potenziamento della chemioterapia indotto da questi farmaci.

Immunoterapia e Terapia Genica

Immunoterapia è un’alternativa terapeutica che ha contribuito a notevoli progressi e che ancora oggi è in corso di studio. Un esempio di questo trattamento è stato la somministrazione sistemica di IL-2, che ha apportato, però, solo un’efficacia limitata, ed alcuni effetti collaterali (85-86). È stata però valutata anche la somministrazione intrapleurica di IL-2, che è stata invece ben tollerata ed ha contribuito a risposte obiettive, sebbene necessiti di ulteriori studi per valutare i benefici aggiuntivi che potrebbe apportare rispetto al trattamento convenzionale (87). Tuttavia, procedono anche gli studi di terapia sistemica con IL-2, oltre che di regolazione artificiale, mediante trasferimento genico dell’IL-2 endogena (88). La rapamicina è un macrolide naturale che è stato approvato come immunosoppressore e che sembrerebbe esercitare degli effetti antiproliferativi mediante l’inibizione di alcune chinasi, come mTOR. Esistono anche dei derivati sintetici della rapamicina definiti ‘rapalogs’, che sono stati sviluppati per migliorare le proprietà farmacologiche di questo macrolide; alcuni esempi sono l’everolimus, il temsirolimus ed il deforolimus.

Il bortezomib è un potente inibitore del proteasoma ed ha mostrato degli interessanti effetti citotossici in vitro e in vivo (89-90). Sulla base di promettenti dati preclinici, alcuni studi con questo farmaco sono attualmente in corso (91).

Esistono anche delle ricerche che valutano la combinazione tra l’interferone e differenti schemi di chemioterapia standard che hanno apportato tassi di risposta al trattamento variabili (92-95).

Sono stati valutati anche degli approcci terapeutici tramite vaccini, con l’obiettivo di stimolare l’attività immunitaria contro le cellule tumorali in pazienti affetti da MPM.

Sicuramente molto interessanti sono anche gli studi che mirano all’attivazione della capacità immunostimolante delle cellule dendritiche ed anche per questi agenti esistono dei risultati sicuramente promettenti. Questi studi hanno portato a dei risultati variabili, ma sicuramente promettenti (97-99).

Terapia intrapleurica

Lo spazio pleurico fornisce un facile accesso per le molecole terapeutiche e sicuramente la somministrazione intrapleurica di farmaci attivi in questa patologia potrebbe essere sicuramente un’ottima prospettiva terapeutica (100).

Diversi studi hanno valutato la somministrazione intracavitaria di chemioterapici anche successivamente a resezione tumorale chirurgica, con l’obiettivo di migliorare il controllo locale della malattia (101-103). Questi risultati hanno comportato una percentuale di recidiva di malattia del 50% dopo trattamento chirurgico associato a somministrazione chemioterapica intrapleurica, ma ulteriori studi sono necessari per confermare questi risultati che probabilmente potrebbero apportare anche migliori risposte.

Esistono anche ricerche che valutano l’istillazione intrapleurica di virus ricombinanti per cercare di rendere le

cellule tumorali sensibili a terapie farmacologiche somministrate successivamente (104- 106).

Sono stati iniettati nella cavità pleurica anche degli agenti che avevano come bersaglio la mesotelina (107-112), con l'obiettivo di indurre una risposta immunitaria che possa essere anche attiva contro le cellule tumorali (113).

Conclusione

È ovvio che una collaborazione continua tra clinici, patologi (114) e ricercatori di base risulta fondamentale per migliorare il trattamento di patologie rare, ma molto aggressive e spesso caratterizzate da una prognosi infausta come il MPM.

Negli ultimi anni sono stati effettuati numerosi studi volti al trattamento mirato nei confronti di molecole e di vie biologiche coinvolte nella patogenesi di questa patologia.

E' sicuramente necessario comprendere meglio i meccanismi alla base dello sviluppo di questa neoplasia per avere una conoscenza adeguata delle vie biomolecolari che hanno un ruolo nella cancerogenesi e per poter in questo modo inibirle con maggiore efficacia. Tutte queste nuove ricerche, comprese quelle attualmente in corso hanno contribuito a nuovi progressi o comunque a scoperte incoraggianti. Tuttavia, ulteriori studi ed analisi più approfondite ed accuratamente condotte e controllate, potranno confermare i risultati fino ad ora raggiunti oltre che apportare nuove informazioni con l'obiettivo di raggiungere una terapia efficace.

Pertanto, come già sottolineato da tutti gli esperti di MPM, è essenziale che tutti i pazienti affetti da MPM possano avere l'opportunità di accedere agli studi clinici in atto, non semplicemente per contribuire alla ricerca traslazionale, ma soprattutto per avere la possibilità di accesso a trattamenti che, sebbene siano in corso di definizione e studio, possono contribuire a linee di trattamento non altrimenti definite (115).

Referenze

- Pinto C, Ardizzoni A, Betta PG, et al: Export opinions of the First Italian Consensus Conference on the Management of Malignant Pleural Mesothelioma. *Am J Clin Oncol* 2011; 34: 99–109.
- Scherpereel A, Astoul P, Baas P, et al: Guidelines of the European Respiratory Society and the European Society of Thoracic Surgeons for the management of malignant pleural mesothelioma. *Eur Respir J* 2010; 35: 479–495.
- Yarden Y: The EGFR family and its ligands in human cancer. Signalling mechanisms and therapeutic opportunities. *Eur J Cancer* 2001; 37(suppl 4):S3–S8.
- Destro A, Ceresoli GL, Falleni M, et al: EGFR overexpression in malignant pleural mesothelioma. An immunohistochemical and molecular study with clinico-pathological correlations. *Lung Cancer* 2006; 51: 207–215.
- Herndon JE, Green MR, Chahinian AP, et al: Factors predictive of survival among 337 patients with mesothelioma treated between 1984 and 1994 by the Cancer and Leukemia Group B. *Chest* 1998; 113: 723–731.
- Govindan R, Kratzke RA, Herndon JE 2nd, et al: Gefitinib in patients with malignant mesothelioma: a phase II study by the Cancer and Leukemia Group B. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 2300–2304.
- Garland LL, Rankin C, Gandara DR, et al: Phase II study of erlotinib in patients with malignant pleural mesothelioma: a Southwest Oncology Group Study. *J Clin Oncol* 2007; 25: 2406–2413.
- Cortese JF, Gowda AL, Wali A, et al: Common EGFR mutations conferring sensitivity to gefitinib in lung adenocarcinoma are not prevalent in human malignant mesothelioma. *Int J Cancer* 2006; 118: 521–522.
- Destro A, Ceresoli GL, Falleni M, et al: EGFR overexpression in malignant pleural mesothelioma. An immunohistochemical and molecular study with clinico-pathological correlations. *Lung Cancer* 2006; 51: 207–215.
- Gaafar R, Bahnassy A, Abdelsalam I, et al: Tissue and serum EGFR as prognostic factors in malignant pleural mesothelioma. *Lung Cancer* 2010; 70: 43–50.
- Okuda K, Sasaki H, Kawano O, et al: Epidermal growth factor receptor gene mutation, amplification and protein expression in malignant pleural mesothelioma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2008; 134: 1105–1111.
- O'Byrne KJ, Edwards JG, Waller DA: Clinico- pathological and biological prognostic factors in pleural malignant mesothelioma. *Lung Cancer* 2004; 45(suppl 1):S45–S48.
- Dazzi H, Hasleton PS, Thatcher N, et al: Malignant pleural mesothelioma and epidermal growth factor receptor (EGF-R). Relationship of EGF-R with histology and survival using fixed paraffin embedded tissue and the F4, monoclonal antibody. *Br J Cancer* 1990; 61: 924–926.
- Edwards JG, Swinson DE, Jones JL, et al: EGFR expression: associations with outcome and clinicopathological variables in malignant pleural mesothelioma. *Lung Cancer* 2006; 54: 399–407.
- Kono SA, Marshall ME, Ware KE, et al: The fibroblast growth factor receptor signalling pathway as a mediator of intrinsic resistance to EGFR-specific tyrosine kinase inhibitors in non-small cell lung cancer. *Drug Resist Updat* 2009; 12: 95–102.
- Eyzaguirre A, Buck E, Iwata K, et al: Mechanisms of resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitors: implications for patient selection and drug combination strategies. *Target Oncol* 2008; 3: 235–243.
- Engelman JA, Janne PA: Mechanisms of acquired resistance to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in nonsmall cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 2895–2899.
- Jagadeeswaran R, Ma PC, Seiwert TY, et al: Functional analysis of c-Met/hepatocyte growth factor pathway in malignant pleural mesothelioma. *Cancer Res* 2006; 66: 352–361.
- Whitson BA, Jacobson BA, Frizelle S, et al: Effects of insulin-like growth factor-1 receptor inhibition in mesothelioma. Thoracic Surgery Directors Association Resident Research Award. *Ann Thorac Surg* 2006; 82: 996–1001.
- Kai K, D'Costa S, Sills RC, et al: Inhibition of the insulin-like growth factor 1 receptor pathway enhances the antitumor effect of cisplatin in human malignant mesothelioma cell lines. *Cancer Lett* 2009; 278: 49–55.
- Dannenber AJ, Lippman SM, Mann JR, et al: Cyclooxygenase-2 and epidermal growth factor receptor: pharmacologic targets for chemoprevention. *J Clin Oncol* 2005; 23: 254–266.
- Hull MA: Cyclooxygenase-2: how good is it as a target for cancer chemoprevention? *Eur J Cancer* 2005; 41: 1854–1863.
- Amir M, Agarwal HK: Role of COX-2 selective inhibitors for prevention and treatment of cancer. *Pharmazie* 2005; 60: 563–570.
- Gasparini G, Longo R, Sarmiento R, Morabito A: Inhibitors of cyclo-oxygenase 2: a new class of anticancer agents? *Lancet Oncol* 2003; 4: 605–615.
- Baldi A, Santini D, Vasaturo F, et al: Prognostic significance of cyclooxygenase-2 (COX-2) and expression of cell cycle inhibitors p21 and p27 in human pleural malignant mesothelioma. *Thorax* 2004; 59: 428–433.
- Edwards JG, Faux SP, Plummer SM, et al: Cyclooxygenase- 2 expression is a novel prognostic factor in malignant mesothelioma. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 1857–1862.
- O'Kane SL, Cawkwell L, Campbell A, Lind MJ: Cyclooxygenase-2 expression predicts survival in malignant pleural mesothelioma. *Eur J Cancer* 2005; 41: 1645–1648.
- Catalano A, Graciotti L, Rinaldi L, et al: Preclinical evaluation of the nonsteroidal antiinflammatory agent celecoxib on malignant mesothelioma chemoprevention. *Int J Cancer* 2004; 109: 322–328.
- O'Kane SL, Eagle GL, Greenman J, et al: COX-2 specific inhibitors enhance the cytotoxic effects of pemetrexed in mesothelioma cell lines. *Lung Cancer* 2010; 67: 160–165.
- Kitamura F, Araki S, Tanigawa T, et al: Assessment of mutations of Ha- and Ki-ras oncogenes and the p53 suppressor gene in seven malignant mesothelioma patients exposed to asbestos-PCR-SSCP and sequencing analyses of paraffin-embedded primary tumors. *Ind Health* 1998; 36: 52–56.
- Kitamura F, Araki S, Suzuki Y, et al: Assessment of the mutations of p53 suppressor gene and Ha- and Ki-ras oncogenes in malignant mesothelioma in relation to asbestos exposure: a study of 12 American patients. *Ind Health* 2002; 40: 175–181.
- Ni Z, Liu Y, Keshava N, et al: Analysis of Kras and p53 mutations in mesotheliomas from humans and rats exposed to asbestos. *Mutat Res* 2000; 468: 87–92.
- Dote H, Tsukuda K, Toyooka S, et al: Mutation analysis of the BRAF codon 599 in malignant pleural mesothelioma by enriched PCR-RFLP. *Oncol Rep* 2004; 11: 361–363.
- Suzuki Y, Murakami H, Kawaguchi K, et al: Activation of the PI3K-AKT pathway in human malignant mesothelioma cells. *Mol Med Rep* 2009; 2: 181–188.
- Opitz I, Soltermann A, Abaecherli M, et al: PTEN expression is a strong predictor of survival in mesothelioma patients. *Eur J Cardiothorac Surg* 2008; 33: 502–506.
- Altomare DA, You H, Xiao GH, et al: Human and mouse mesotheliomas exhibit elevated AKT/PKB activity, which can be targeted pharmacologically to inhibit tumor cell growth. *Oncogene* 2005; 24: 6080–6089.
- Ohta Y, Shridhar V, Bright RK, et al: VEGF and VEGF type C play an important role in angiogenesis and lymphangiogenesis in human malignant mesothelioma tumours. *Br J Cancer* 1999; 81: 54–61.
- Dowell J, Kindler H: Antiangiogenic therapies for mesothelioma. *Hematol Oncol Clin North Am* 2005; 19: 1137–1145.
- Yasumitsu A, Tabata C, Tabata R, et al: Clinical significance of serum vascular endothelial growth factor in malignant pleural mesothelioma. *J Thorac Oncol* 2010; 5: 479–483.
- König JE, Tolnay E, Wiethage T, Müller KM: Co-expression of vascular endothelial growth factor and its receptor flt-1 in malignant pleural mesothelioma. *Respiration*

2000;67:36–40.

41. Klabatsa A, Sheaff MT, Steele JP, et al: Expression and prognostic significance of hypoxia- inducible factor 1alpha (HIF-1 alpha) in malignant pleural mesothelioma (MPM). *Lung Cancer* 2006; 51: 53–59.
42. Jackman DM, Kindler HL, Yeap BY, et al: Erlotinib plus bevacizumab in previously treated patients with malignant pleural mesothelioma. *Cancer* 2008; 113: 808–814.
43. Jahan T, Gu L, Kratzke R, et al: Vatalanib in malignant mesothelioma: a phase II trial by the Cancer and Leukemia Group B (CALGB 30107). *Lung Cancer* 2011, E-pub ahead of print.
44. Mitchell CL, O'Connor JP, Roberts C, et al: A two-part phase II study of cediranib in patients with advanced solid tumours: the effect of food on single-dose pharmacokinetics and an evaluation of safety, efficacy and imaging pharmacodynamics. *Cancer Chemother Pharmacol* 2011; 68: 631–641.
45. Drevs J, Siegert P, Medinger M, et al: Phase I clinical study of AZD2171, an oral vascular endothelial growth factor signaling inhibitor, in patients with advanced solid tumors. *J Clin Oncol* 2007; 25: 3045–3054.
46. Matulonis UA, Berlin S, Ivy P, Tyburski K, et al: Cediranib, an oral inhibitor of vascular endothelial growth factor receptor kinases, is an active drug in recurrent epithelial ovarian, fallopian tube, and peritoneal cancer. *J Clin Oncol* 2009; 27: 5601–5606.
47. Garland L, Chansky K, Wosniak A, et al: Phase II study of cediranib in patients with malignant pleural mesothelioma: SWOG S0509. *J Thorac Oncol* 2011; 6: 1938–1945.
48. Morabito A, De Maio E, Di Maio M, et al: Tyrosine kinase inhibitors of vascular endothelial growth factor receptors in clinical trials: current status and future directions. *Oncologist* 2006; 11: 753–764.
49. Baas P, Boogerd W, Dalesio O, et al: Thalidomide in patients with malignant pleural mesothelioma. *Lung Cancer* 2005; 48: 291– 296.
50. 97 Dubey S, Jänne PA, Krug L, et al: A phase II study of sorafenib in malignant mesothelioma: results of Cancer and Leukemia Group B 30307. *J Thorac Oncol* 2010; 5: 1655–1661.
51. Richly H, Henning BF, Kupsch P, et al: Results of a phase I trial of sorafenib (BAY43- 9006) in combination with doxorubicin in patients with refractory solid tumours. *Ann Oncol* 2006; 17: 866–873.
52. Millward M, Parnis F, Byrne M, et al: Phase II trial of imatinib mesylate in patients with advanced pleural mesothelioma (abstract 912). *Proc Am Soc Clin Oncol* 2003; 22: 912.
53. Villano J, Husain A, Stadler M, Hanson L, Vogelzang N, Kindler H, et al: A phase II trial of imatinib mesylate in patients (pts) with malignant mesothelioma (MM). *J Clin Oncol* 2004; 22: 14.
54. Mathy A, Baas P, Dalesio O, et al: Limited efficacy of imatinib mesylate in malignant mesothelioma: a phase II trial. *Lung Cancer* 2005; 50: 83–86.
55. Bertino P, Porta C, Barbone D, et al: Preliminary data suggestive of a novel translational approach to mesothelioma treatment: imatinib mesylate with gemcitabine or pemetrexed. *Thorax* 2007; 62: 690–695.
56. Porta C, Mutti L, Tassi G: Negative results of an Italian Group for Mesothelioma (G.I.Me.) pilot study of single-agent imatinib mesylate in malignant pleural mesothelioma. *Cancer Chemother Pharmacol* 2007; 59: 149–150.
57. Vogelzang NJ, Porta C, Mutti L: New agents in the management of advanced mesothelioma. *Semin Oncol* 2005; 32: 336–350.
58. Filiberti R, Marroni P, Neri M, et al: Serum PDGF-AB in pleural mesothelioma. *Tumour Biol* 2005; 26: 221–226.
59. Edwards JG, Cox G, Andi A, et al: Angiogenesis is an independent prognostic factor in malignant mesothelioma. *Br J Cancer* 2001; 85: 863–868.
60. Arber DA, Tamayo R, Weiss LM: Paraffin section detection of the c-kit gene product (CD117) in human tissues: value in the diagnosis of mast cell disorders. *Hum Pathol* 1998; 29: 498–504.
61. Pietras K, Rubin K, Sjöblom T, et al: Inhibition of PDGF receptor signaling in tumor stroma enhances antitumor effect of chemotherapy. *Cancer Res* 2002; 62: 5476– 5484.
62. Ali Y, Lin Y, Gharibo MM, et al: Phase I and pharmacokinetic study of imatinib mesylate (Gleevec) and gemcitabine in patients with refractory solid tumors. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 5876–5882.
63. Tsao AS, He D, Saigal B, et al: Inhibition of c-Src expression and activation in malignant pleural mesothelioma tissues leads to apoptosis, cell cycle arrest, and decreased migration and invasion. *Mol Cancer Ther* 2007; 6: 1962–1972.
64. Dudek A, Pang H, Kratzke A: A phase II study of dasatinib (D) in patients (pts) with previously treated malignant mesothelioma. *J Natl Cancer Inst* 2010; 28: 15.
65. Ramos-Nino ME, Testa JR, Altomare DA, et al: Cellular and molecular parameters of mesothelioma. *J Cell Biochem* 2006; 98: 723– 734.
66. Raymond E, Alexandre J, Faivre S, et al: Safety and pharmacokinetics of escalated doses of weekly intravenous infusion of CCI779, a novel mTOR inhibitor, in patients with cancer. *J Clin Oncol* 2004; 22: 2336–2347.
67. Hartman ML, Esposito JM, Yeap BY, et al: Combined treatment with cisplatin and sirolimus to enhance cell death in human mesothelioma. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2010; 139: 1233–1240.
68. Chang K, Pai LH, Pass H, et al: Monoclonal antibody K1 reacts with epithelial mesothelioma but not with lung adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol* 1992; 16: 259–268.
69. Chang K, Pastan I: Molecular cloning of mesothelin, a differentiation antigen present on mesothelium, mesotheliomas, and ovarian cancers. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 136–140.
70. Hassan R, Bera T, Pastan I: Mesothelin: a new target for immunotherapy. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 3937–3942.
71. Hassan R, Schweizer C, Lu KF, et al: Inhibition of mesothelin-CA-125 interaction in patients with mesothelioma by the antimethelin monoclonal antibody MORAb- 009: implications for cancer therapy. *Lung Cancer* 2010; 68: 455–459.
72. Greillier L, Baas P, Welch JJ, et al: Biomarkers for malignant pleural mesothelioma: current status. *Mol Diagn Ther* 2008; 12: 375– 390.
73. Hassan R, Broaddus VC, Wilson S, et al: Anti-mesothelin immunotoxin SS1P in combination with gemcitabine results in increased activity against mesothelin-expressing tumor xenografts. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 7166–7171.
74. Mikulski SM, Costanzi JJ, Vogelzang NJ, et al: Phase II trial of a single weekly intravenous dose of ranpirnase in patients with unresectable malignant mesothelioma. *J Clin Oncol* 2002; 20: 274–281.
75. Mittelman A, Puccio C, Gafney E, et al: A phase I pharmacokinetic study of recombinant human tumor necrosis factor administered by a 5-day continuous infusion. *Invest New Drugs* 1992; 10: 183–190.
76. Lejeune FJ, Lienard D, Matter M, et al: Efficiency of recombinant human TNF in human cancer therapy. *Cancer Immun* 2006; 6: 6.
77. Gregorc V, Zucali PA, Santoro A, et al: Phase II study of asparagine-glycine arginine- human tumor necrosis factor alpha, a selective vascular targeting agent, in previously treated patients with malignant pleural mesothelioma. *J Clin Oncol* 2010; 28: 2604– 2611.
78. Kelly WK, O'Connor OA, Krug LM, et al: Phase I study of an oral histone deacetylase inhibitor, suberoylanilide hydroxamic acid, in patients with advanced cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23: 3923–3931.
79. Paik PK, Krug LM: Histone deacetylase inhibitors in malignant pleural mesothelioma: preclinical rationale and clinical trials. *J Thorac Oncol* 2010; 5: 275–279.
80. Ramalingam SS, Parise RA, Ramanathan RK, et al: Phase I and pharmacokinetic study of vorinostat, a histone deacetylase inhibitor, in combination with carboplatin and paclitaxel for advanced solid malignancies. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 3605– 3610.
81. Ramalingam SS, Belani CP, Ruel C, et al: Phase II study of belinostat (PXD101), a histone deacetylase inhibitor, for second line therapy of advanced malignant pleural

- mesothelioma. *J Thorac Oncol* 2009; 4: 97–101.
82. Marks PA, Richon VM, Miller T, et al: Histone deacetylase inhibitors. *Adv Cancer Res* 2004; 91: 137–168.
 83. Scherpereel A, Berghmans T, Lafitte JJ, et al: Valproate-doxorubicin: promising therapy for progressing mesothelioma. A phase II study. *Eur Respir J* 2011; 37: 129–135.
 84. Shapiro GI, Tibes R, Gordon MS, et al: Phase I studies of CBP501, a G2 checkpoint abrogator, as monotherapy and in combination with cisplatin in patients with advanced solid tumors. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 3431–3442.
 85. Mulatero CW, Penson RT, Papamichael D, et al: A phase II study of combined intravenous and subcutaneous interleukin-2 in malignant pleural mesothelioma. *Lung Cancer* 2001; 31: 67–72.
 86. Nowak AK, Lake RA, Kindler HL, et al: New approaches for mesothelioma: biologics, vaccines, gene therapy, and other novel agents. *Semin Oncol* 2002; 29: 82–96.
 87. Astoul P, Picat-Joossen D, Viallat JR, et al: Intrapleural administration of interleukin-2 for the treatment of patients with malignant pleural mesothelioma: a phase II study. *Cancer* 1998; 83: 2099–2104.
 88. Caminschi I, Venetsanos E, Leong CC, et al: Interleukin-12 induces an effective antitumor response in malignant mesothelioma. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1998; 19: 738–746.
 89. Fennell DA, Chacko A, Mutti L: BCL-2 family regulation by the 20S proteasome inhibitor bortezomib. *Oncogene* 2008; 27: 1189–1197.
 90. Sartore-Bianchi A, Gasparri F, Galvani A, et al: Bortezomib inhibits nuclear factor-kappa B-dependent survival and has potent in vivo activity in mesothelioma. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 5942–5951.
 91. Gordon GJ, Mani M, Maulik G, et al: Preclinical studies of the proteasome inhibitor bortezomib in malignant pleural mesothelioma. *Cancer Chemother Pharmacol* 2008; 61: 549–558.
 92. Trandafir L, Ruffié P, Borel C, et al: Higher doses of alpha-interferon do not increase the activity of the weekly cisplatin-interferon combination in advanced malignant mesothelioma. *Eur J Cancer* 1997; 33: 1900–1902.
 93. Upham JW, Musk AW, van Hazel G, et al: Interferon alpha and doxorubicin in malignant mesothelioma: a phase II study. *Aust NZ J Med* 1993; 23: 683–687.
 94. Parra HS, Tixi L, Latteri F, et al: Combined regimen of cisplatin, doxorubicin, and alpha-2b interferon in the treatment of advanced malignant pleural mesothelioma: a phase II multicenter trial of the Italian Group on Rare Tumors (GITR) and the Italian Lung Cancer Task Force (FONICAP). *Cancer* 2001; 92: 650–656.
 95. Halme M, Knuutila A, Vehmas T, et al: High-dose methotrexate in combination with interferons in the treatment of malignant pleural mesothelioma. *Br J Cancer* 1999; 80: 1781–1785.
 96. Bretti S, Berruti A, Dogliotti L, et al: Combined epirubicin and interleukin-2 regimen in the treatment of malignant mesothelioma: a multicenter phase II study of the Italian Group on Rare Tumors. *Tumori* 1998; 84: 558–561.
 97. Hegmans JP, Hemmes A, Aerts JG, et al: Immunotherapy of murine malignant mesothelioma using tumour lysate-pulsed dendritic cells. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171: 1168–1177.
 98. Hegmans JP, Hemmes A, Hammad H, et al: Mesothelioma environment comprises cytokines and T-regulatory cells that suppress immune responses. *Eur Respir J* 2006; 27: 1086–1095.
 99. Hegmans JP, Veltman JD, Lambers ME, de Vries IJ, Figdor CG, Hendriks RW, Hoogsteden HC, Lambrecht BN, Aerts JG: Consolidative dendritic cell-based immunotherapy elicits cytotoxicity against malignant mesothelioma. *Am J Respir Crit Care Med* 2010; 181: 1383–1390.
 100. Haas AR, Sterman DH: Novel intrapleural therapies for malignant diseases. *Respiration* 2012; 83: 277–292.
 101. Tilleman TR, Richards WG, Zellos L, et al: Extrapleural pneumonectomy followed by intracavitary intraoperative hyperthermic cisplatin with pharmacologic cytoprotection for treatment of malignant pleural mesothelioma: a phase II prospective study. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2009; 138: 405–411.
 102. Sterman DH, Treat J, Litzky LA, et al: Adenovirus-mediated herpes simplex virus thymidine kinase/ganciclovir gene therapy in patients with localized malignancy: results of a phase I clinical trial in malignant mesothelioma. *Hum Gene Ther* 1998; 9: 1083–1092.
 103. Molnar-Kimber KL, Sterman DH, Chang M, et al: Impact of preexisting and induced humoral and cellular immune responses in an adenovirus-based gene therapy phase I clinical trial for localized mesothelioma. *Hum Gene Ther* 1998; 9: 2121–2133.
 104. Sterman DH, Recio A, Vachani A, et al: Long-term follow-up of patients with malignant pleural mesothelioma receiving high-dose adenovirus herpes simplex thymidine kinase/ganciclovir suicide gene therapy. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 7444–7453.
 105. Sterman DH, Recio A, Carroll RG, et al: A phase I clinical trial of single-dose intrapleural IFN-beta gene transfer for malignant pleural mesothelioma and metastatic pleural effusions: high rate of antitumor immune responses. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 4456–4466.
 106. Hassan R, Ho M: Mesothelin targeted cancer immunotherapy. *Eur J Cancer* 2008; 44: 46–53.
 107. Hassan R, Zhang J, Pastan I: Antibody-based treatment for mesothelioma: clinical trials and laboratory studies. *Lung Cancer* 2006; 54: S13.
 108. Hassan R, Bullock S, Premkumar A, et al: Phase I study of SS1P, a recombinant antimesothelin immunotoxin given as a bolus I.V. infusion to patients with mesothelin-expressing mesothelioma, ovarian, and pancreatic cancers. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 5144–5149.
 109. Li Q, Verschraegen CF, Mendoza J, et al: Cytotoxic activity of the recombinant antimesothelin immunotoxin, SS1(dsFv)PE38, towards tumor cell lines established from ascites of patients with peritoneal mesotheliomas. *Anticancer Res* 2004; 24: 1327–1335.
 110. Armstrong DK, Laheru D, Ma WW, et al: A phase I study of MORAb-009, a monoclonal antibody against mesothelin in pancreatic cancer, mesothelioma, and ovarian adenocarcinoma (abstract). *J Clin Oncol* 2007; 25: 615s.
 111. Brockstedt DG, Giedlin MA, Leong ML, et al: Listeria-based cancer vaccines that segregate immunogenicity from toxicity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 13832–13837.
 112. Thomas AM, Santarsiero LM, Lutz ER, et al: Mesothelin-specific CD8(+) T cell responses provide evidence of in vivo crosspriming by antigen-presenting cells in vaccinated pancreatic cancer patients. *J Exp Med* 2004; 200: 297–306.
 113. Hassan R, Ebel W, Routhier EL, et al: Preclinical evaluation of MORAb-009, a chimeric antibody targeting tumor-associated mesothelin. *Cancer Immun* 2007; 7: 20.
 114. Jantz MA, Antony VA: Pathophysiology of the pleura. *Respiration* 2008; 75: 121–133.
 115. Froudarakis ME: Pleural diseases in the molecular era – time for more answers: introduction. *Respiration* 2012; 83: 2–4.