

# IL COINVOLGIMENTO DEL MAMMALIAN TARGET OF RAPAMYCIN (mTOR) NELL' INFIAMMAZIONE CUTANEA

A. Balato, R. Di Caprio, S. Lembo, M. Mattii, M. Megna, M. Schiattarella, N. Balato, F. Ayala, G. Monfrecola

Dermatologia, Dipartimento di medicina clinica e chirurgia, Università di Napoli Federico II.

mTOR è una serina/reonina chinasi che regola numerose funzioni cellulari attraverso due distinti complessi molecolari mTOR complex (mTORC) 1 e 2. mTORC-1, rapamicina-sensibile, promuove la crescita cellulare e la sintesi proteica mentre mTORC-2, non rapamicina sensibile, regola la struttura citoscheletrica e la polarità cellulare. Inoltre entrambi i complessi mediano anche le risposte cellulari allo stress. E' noto che alterazioni del pathway di mTOR sono presenti tanto in diverse tipologie di neoplasie (carcinomi renali, tumori neuroendocrini, ecc.) quanto in malattie infiammatorie ed autoimmunitarie (artrite reumatoide, malattie infiammatorie croniche intestinali, lupus eritematoso).

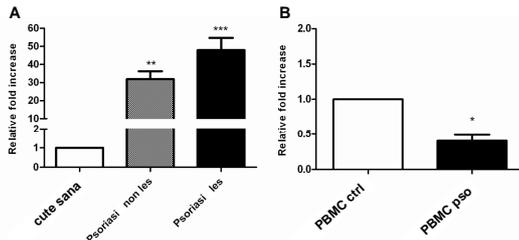
## SCOPO DEL LAVORO: VALUTARE L'EVENTUALE COINVOLGIMENTO DI mTOR NELL'INFIAMMAZIONE CUTANEA

**In vivo** l'espressione genica di mTOR è stata analizzata mediante qRT-PCR in cute lesionale e non lesionale (#15) ed in cellule mononucleate periferiche (PBMC) (#5) di pazienti con psoriasi rispetto a controlli sani. La presenza di mTOR è stata evidenziata anche attraverso immunistochimica in 5 biopsie di lesioni psoriasiche.

L'espressione genica di mTOR è stata valutata anche in cute lesionale di 5 pazienti psoriasici prima e dopo 16 settimane di terapia con un anti-TNF- $\alpha$  (adalimumab).

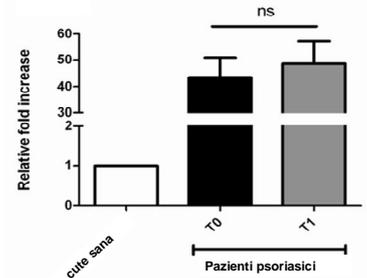
Altre condizioni infiammatorie come la dermatite allergica da contatto (DAC) (#5), la dermatite atopica (DA) (#5) e un'eruzione acneiforme durante terapia biologica con anti-EGFR (#3), sono state valutate. Inoltre, con l'intento di evidenziare il pathway di mTOR nell'ambito della cascata infiammatoria, alcuni dei suoi regolatori (TSC1 e 2) ed effettori (4EBP1, S6K1) sono stati analizzati. **In vitro** attraverso esperimenti con linee cellulari (HaCaT e cheratinociti) ed **ex vivo** attraverso espianti cutanei (organ culture [OCs]), i livelli di espressione genica di mTOR sono stati misurati in un ambiente simil psoriasico, ovvero dopo stimolazione con TNF- $\alpha$ , IL-17A o loro combinazione.

### mTOR

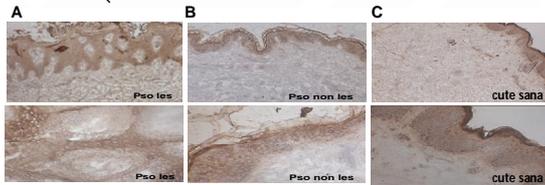


**qRT-PCR:** mTOR è aumentato nella cute lesionale e non lesionale di pazienti affetti da psoriasi rispetto alla cute sana (A) e diminuito nei PBMC estratti da sangue periferico degli stessi pazienti confrontati con donatori sani (B).

### mTOR



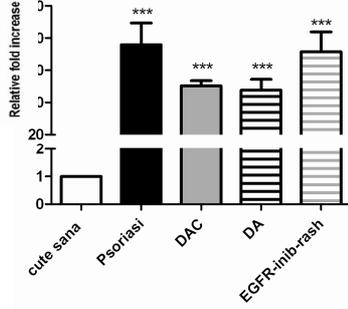
L'espressione genica di mTOR non risulta significativamente influenzata da 16 settimane (T0-T1) di trattamento con adalimumab.



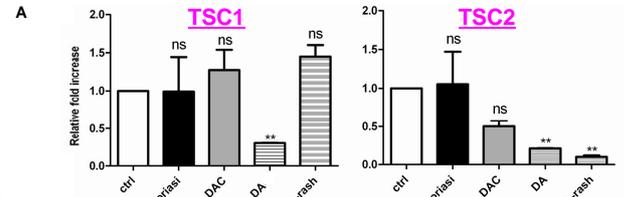
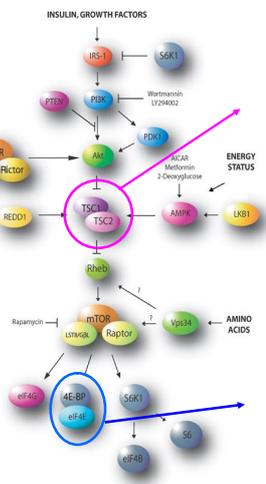
**Immunistochimica:** mTOR è fortemente espresso in tutti gli strati epidermici della cute lesionale (A) e non lesionale (B) di pazienti psoriasici e solo debolmente espresso nell'epidermide dei controlli (C).

I dati sono stati normalizzati con il gene housekeeping 18S ed espressi come media  $\pm$  DS; \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ . Immunistochimica: ingrandimenti 6X e 25X.

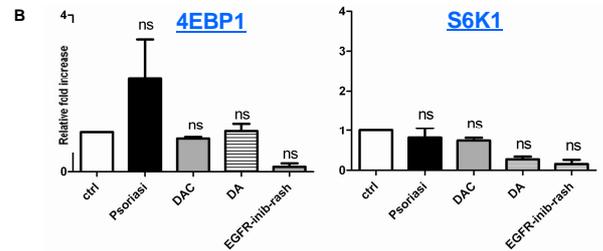
### mTOR



Oltre che nella cute psoriasica, mTOR è incrementato nella DAC e nella DA. Significativi incrementi si riscontrano anche in pazienti con rash eritemato-papuloso da inibitore del recettore del fattore di crescita epiteliale (EGFR-inib-rash), usato nel cancro del colon.

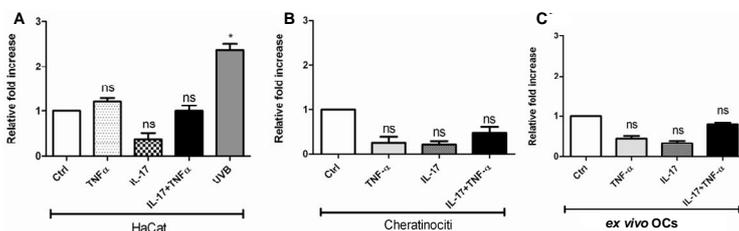


**TSC1 e TSC2** sono significativamente ridotti nella DA e nell'EGFR-inib-rash, mentre risultano stabili nelle altre patologie (A). Anche **4EBP1** e **S6K1**, non sono significativamente aumentati nelle dermatosi analizzate (B).



I dati sono stati normalizzati con il gene housekeeping 18S ed espressi come media  $\pm$  DS \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ .

### mTOR



I livelli di espressione di mTOR in cellule HaCaT (A), cheratinociti primari (B), e OCs (C) stimolati con TNF- $\alpha$  (20 ng/ml), IL-17A (10 ng/ml) o TNF- $\alpha$  + IL-17A per 24h, non risultano incrementati. Le cellule HaCaT sono state anche irradiate con UVB 100 mJ/cm<sup>2</sup> (A): incremento di mTOR.

I dati sono stati normalizzati con il gene housekeeping 18S ed espressi come media  $\pm$  DS \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ , \*\*\* $p < 0.001$ .

**mTOR risulta aumentato nelle patologie infiammatorie cutanee esaminate; i suoi regolatori negativi (TSC1 e 2) sembrano variare solo nella DA e nella EGFR-inib-rash; i suoi principali effettori (4EBP1 e S6K1) non aumentano nelle condizioni esaminate. mTOR potrebbe quindi essere funzionalmente attivo attraverso meccanismi molecolari ancora sconosciuti. I risultati in vivo ed in vitro hanno dimostrato la mancanza di una relazione significativa fra mTOR, TNF- $\alpha$  ed IL-17A, supportando l'ipotesi di vie di attivazione di mTOR alternative, non direttamente dipendenti dal pathway Th1-Th17, nelle malattie infiammatorie cutanee.**