

# Az mTOR-hiperaktivitás és a *RICTOR*-amplifikáció jelentősége, és az ezzel összefüggő célzott terápiás lehetőségek rosszindulatú daganatokban

SZALAI FATIME, KRENCZ ILDIKÓ, MOLDVAI DOROTTYA, PETŐVÁRI GÁBOR, DANKÓ TITANILLA, NAGY NOÉMI, PAPP GERGŐ, PÁPAY JUDIT, SEBESTYÉN ANNA, SZTANKOVICS DÁNIEL

Semmelweis Egyetem, Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, Budapest

A publikációval kapcsolatos munkáinkat a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal (TKP2021-EGA-24, NKFI-FK-128404, NKFI-K-142799) és a Kulturális és Innovációs Minisztérium Új Nemzeti Kiválósági Ösztöndíja (ÚNKP-22-4-I-SE-12) támogatta.

## Levelezési cím:

Dr. Sebestyén Anna, Semmelweis Egyetem, Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, 1085 Budapest, Üllői út 26.,  
e-mail: hsebanna@gmail.com, sebestyen.anna@semmelweis.hu

## Közlésre érkezett:

2023. május 23.

## Elfogadva:

2023. szeptember 13.

A jelenlegi daganatellenes terápiák sikertelensége, a gyógyszer-rezisztencia kialakulása számos daganat kezelésében okoz problémákat. Az előbbieket háttérben gyakran állhatnak jelátviteli hálózatok aktivitásváltozásai, köztük az onkogén mutációk következményeként megjelenő PI3K/Akt/mTOR hiperaktivitás. Közleményünkben összefoglaljuk az elmúlt évtizedekben feltárt, a legtöbb daganat esetében mára ismertté vált mTOR (mechanistic target of rapamycin) szabályozási zavarainak daganatbiológiai jelentőségét. Saját kutatási eredményeinkkel összefüggésben bemutatjuk az mTOR-kináz két, felépítésében, szabályozó mechanizmusában és inhibitorérzékenységében is különböző komplexének (mTORC1 és mTORC2) aktivitáskülönbségeit, szerepeit és vizsgálatának lehetőségeit. Kiemeljük a megismert genetikai változások, köztük a *RICTOR*-amplifikáció és az ezzel összefüggő mTORC2-hiperaktivitást célzó terápiák tervezését érintő jelentőségét is. Azon betegek esetében, ahol mTOR-gátló kezelések alkalmazása felmerül, az mTOR-aktivitási profil vizsgálatát javasoljuk, mivel mTORC2-hiperaktivitás esetében a jelenlegi első generációs mTOR-gátlók (rapamicin és analogjai) hatása elmaradhat. Reményt keltő azonban, hogy új gátlószer és kombinációs kezelések fázisvizsgálatai folynak számos előrehaladott stádiumú, molekuláris markerek segítségével szelektálható betegcsoportban. *Magy Onkol* 67:165–180, 2023

**Kulcsszavak:** mTOR, mTORC2, *RICTOR*-amplifikáció, célzott terápia, daganat

*Failures of anti-tumour therapies and drug resistance initiate difficulties in cancer treatments often caused by alterations in signalling network activity, including PI3K/Akt/mTOR hyperactivity due to oncogenic mutations. In this review, we summarise the relevance of mTOR (mechanistic target of rapamycin) dysregulation identified decades ago, which is now known to be characteristic of many tumours. In this context, we present differences in activity, function and testability of mTOR kinase complexes (mTORC1 and mTORC2) differing in structure, regulatory mechanisms and inhibitor sensitivity. We highlight that genetic alterations, including RICTOR amplification and associated mTOR hyperactivity, are relevant in targeted therapy development. It is recommended to investigate mTOR profile activity in patients for whom mTOR inhibitor therapies are considered since the current first-generation mTOR inhibitors (rapamycin and analogues) may be ineffective in case of mTORC2 hyperactivity. Ongoing phase trials of new inhibitors and combination therapies are promising in advanced stage patients selected by molecular markers.*

*Szalai F, Krencz I, Moldvai D, Petővári G, Dankó T, Nagy N, Papp G, Pápay J, Sebestyén A, Sztankovics D. The importance of mTOR hyperactivity and RICTOR amplification, and the associated targeted therapy possibilities in malignant tumours. *Magy Onkol* 67:165–180, 2023*

**Keywords:** mTOR serine-threonine kinases, Rictor protein, gene amplification, molecular targeted therapy, neoplasms

## AZ mTOR-HIPERAKTIVITÁS, A DAGANATSEJTEK GYAKORI JELLEGZETESSÉGE

A mechanistic (korábban mammalian) target of rapamycin (mTOR) a környezetből érkező szignálok integrálásával a sejt aktuális állapotának megfelelően befolyásolja a sejtek, köztük a daganatsejtek növekedését, túlélését biztosító különböző folyamatokat (proliferációt, motilitást, migrációt, anyagcserét, fehérjeszintézist, transzkripciót stb.). A növekedést elősegítő hatásai mellett fontos szerepe, hogy növekedési faktorok, tápanyagok vagy egyéb energiaforrások (például oxigén) hiányában aktivitásának csökkenése gátolja a sejtek növekedését, és beindít túlélést elősegítő, például autofágiás folyamatokat. Az elmúlt évtizedek eredményei bebizonyították, hogy az mTOR-kináznak mint a jelátviteli útvonalak központi csomópontjának fontos szerepe van az anyagcsere szabályozásában, a felépítő és lebontó folyamatok egyensúlyának fenntartásában, beleértve a tumorsejtek túlélését szolgáló metabolikus alkalmazkodást is. Az mTOR hibás működése (túl- vagy alulműködése) szabályozási zavarokhoz, majd betegségek (például anyagcsere-betegségek, neurodegeneratív betegségek, öregedési folyamatok felgyorsulása, kardiovaszkuláris betegségek, daganatok) kialakulásához és progressziójához járulhat hozzá [1, 2].

Az mTOR szerin-treonin proteinkináz két komplexben (mTOR komplex 1 – mTORC1; mTOR komplex 2 – mTORC2) fordul elő a sejtekben, melyek különböző katalitikus alegységből szerveződnek és funkcionálisan is eltérnek egymástól. A komplexek felépítésében részt vesznek azonos és jellegzetesen különböző elemek is (1.a ábra). A két komplex molekulában előforduló azonos alegységek az mTOR-kináz, az mLST8 (mammalian lethal with SEC13 protein 8) és a Dep-*tor* (DEP domain containing mTOR-interacting protein). Az mTORC1 felépítésében részt vesz a PRAS40 (proline-rich Akt substrate of 40 kDa) és a Raptor (regulatory-associated protein of mTOR), utóbbi a komplex vázfehérjéjeként működik. Az mTORC2 felépítésében részt vevő fehérjék az mSin1 (mammalian stress-activated protein kinase-interacting protein 1), a Protor 1/2 (protein observed with Rictor 1 and 2), illetve a Raptor helyett a Rictor (rapamycin-insensitive companion of mTOR) vázfehérje [3].

Az mTORC1 számos felépítő folyamatban játszik szerepet (például fehérje-, lipid- és nukleotidszintézis, riboszómabio-genezis), míg az mTORC2-nek kiemelt szerepe van a sejtek túlélésének, differenciációjának, növekedésének és migrációjának szabályozásában, valamint az aktin citoskeletális rendszer működésének fenntartásában, elsősorban az Akt (Ser473), az SGK1 és a PKC $\alpha$  foszforilációján keresztül [4].

Az mTOR-komplexek számos biológiai folyamatban közreműködnek, így nem meglepő, hogy elsősorban hiperaktivitással járó funkciózavarai a rosszindulatú daganatok kialakulásával és progressziójával is kapcsolatba hozhatók. Daganatokban az mTOR-komplexek hiperaktivitása többféle módon is kialakulhat; például az mTOR-kináz érintő génmutációk, az mTOR-komplexek aktivitását direkt módon szabályozó fehérjék mutációi vagy a jelátviteli hálózatban

bekövetkező más változások (például onkogén vagy tumor-suppresszor génmutációk) következtében.

A szolid daganatok közel 5%-a hordozhat valamilyen mTOR-kináz aktiváló mutációt, melyek például melanómákban, endometriális és emésztőrendszeri daganatokban, illetve vese-, emlő- és tüdődaganatokban gyakrabban is előfordulhatnak (>5%) [5]. Nyilvánosan elérhető adatbázisadatok alapján az mTOR-kináz genetikai változásainak gyakoriságát a különböző malignitásokban a 2. ábra foglalja össze.

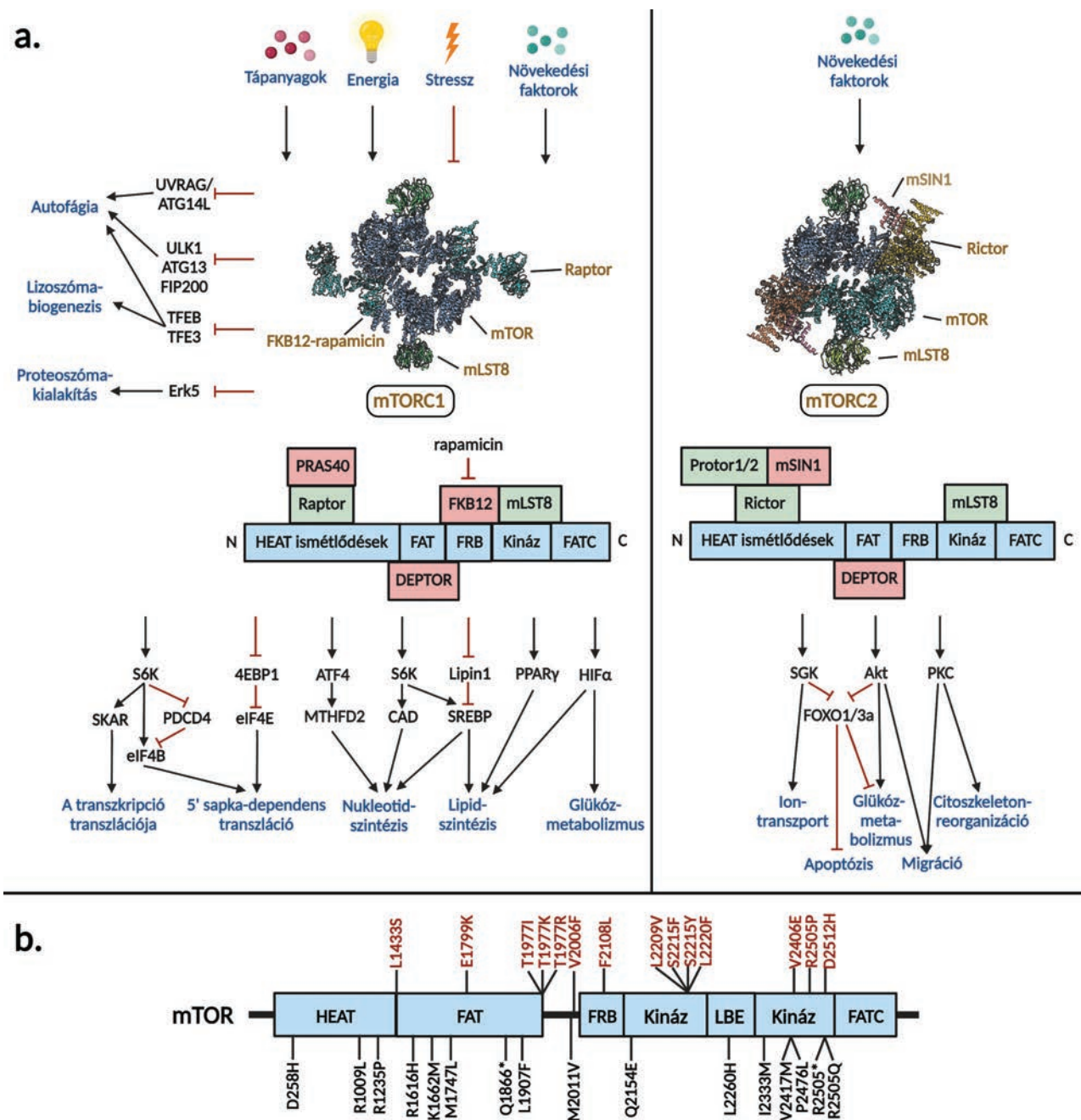
Az mTOR-kináz szomatikus mutációi a kináz hat különböző régióját érintve általában annak enzimaktivitását, onkogén szerepét növelik. A leggyakoribb aktiváló mutációk közé tartozik az E1799K, a T1777R, a V2006F, az S2215Y és az R2505P, melyek aminosavak cseréjéért felelősek (1.b ábra). Az aktiváló mutációk nem befolyásolják az mTOR-komplex összeszerelődését, de csökkenthetik az mTOR-t gátló Dep-*tor* kötődését és ezáltal növelhetik bizonyos célmolekulák (például P70S6K, 4EBP1) foszforilációját és aktivitását is [6, 7]. Vannak olyan mutációk, melyek a komplex struktúráját változtatják meg, így rezisztenciát okoznak az allosztérikus mTOR-gátlókkal (például rapamicin) szemben, mivel megakadályozzák a hatóanyag kötődését. Ilyen aminosavcserét eredményező mutáció például az F2108L, mely az mTOR FKBP-kötő (FRB) doménjében fordul elő, ahol az FKBP12-rapamicin kötőhely is található [8].

Leggyakrabban olyan egyéb mutációk fordulnak elő, amelyek a jelátviteli hálózatban az útvonal hiperaktivitását, illetve negatív szabályozóinak kiesését okozhatják (például *PI3KCA*, *PTEN*, *TSC1/2*, *STK11*, *AKT1*). A *PI3KCA* mutációi emlő- és nőgyógyászati daganatok több mint 20%-ában fordulnak elő, illetve vastagbél-daganatokban is gyakoriak. A *PTEN*-mutációk a központi idegrendszeri és endometriális daganatok 10%-ában, a *TSC1*-mutációk a húgyúti és endometriális daganatok 5-6%-ában, a *TSC2*-mutációk pedig a nőgyógyászati, máj- és tüdődaganatok 4-7%-ában fordulnak elő. Az *STK11*-mutációk a méhnyakrák, vékonybél- és tüdődaganatok 10-15%-ában jelennek meg, míg az *AKT1*-mutáció gyakorisága a legalacsonyabb a jelátvitelt érintő mutációk között (3-5%). Sok esetben az mTOR-hiperaktivitás hátterében a receptor-tirozinkinázok és növekedésfaktor-receptorok mutációi (*EGFR*, *HER2*) állnak [9].

Az mTOR-kináz direkt mutációi és a hozzá kapcsolódó jelátvitelt érintő mutációk mellett az mTOR-komplex egyéb alegységeinek génjeiben is előfordulhatnak mutációk. Ezek közül az egyik leggyakoribb a *RICTOR*-amplifikáció, mely a Rictor fehérje fokozott expressziója mellett az mTORC2 komplex és ezzel összefüggésben például az Akt-kináz célfehérje aktivitását fokozhatja, melynek jelentősége számos daganat esetében ismert (lásd később).

## AZ mTORC1- ÉS AZ mTORC2-AKTIVITÁS KARAKTERIZÁLÁSA IN SITU

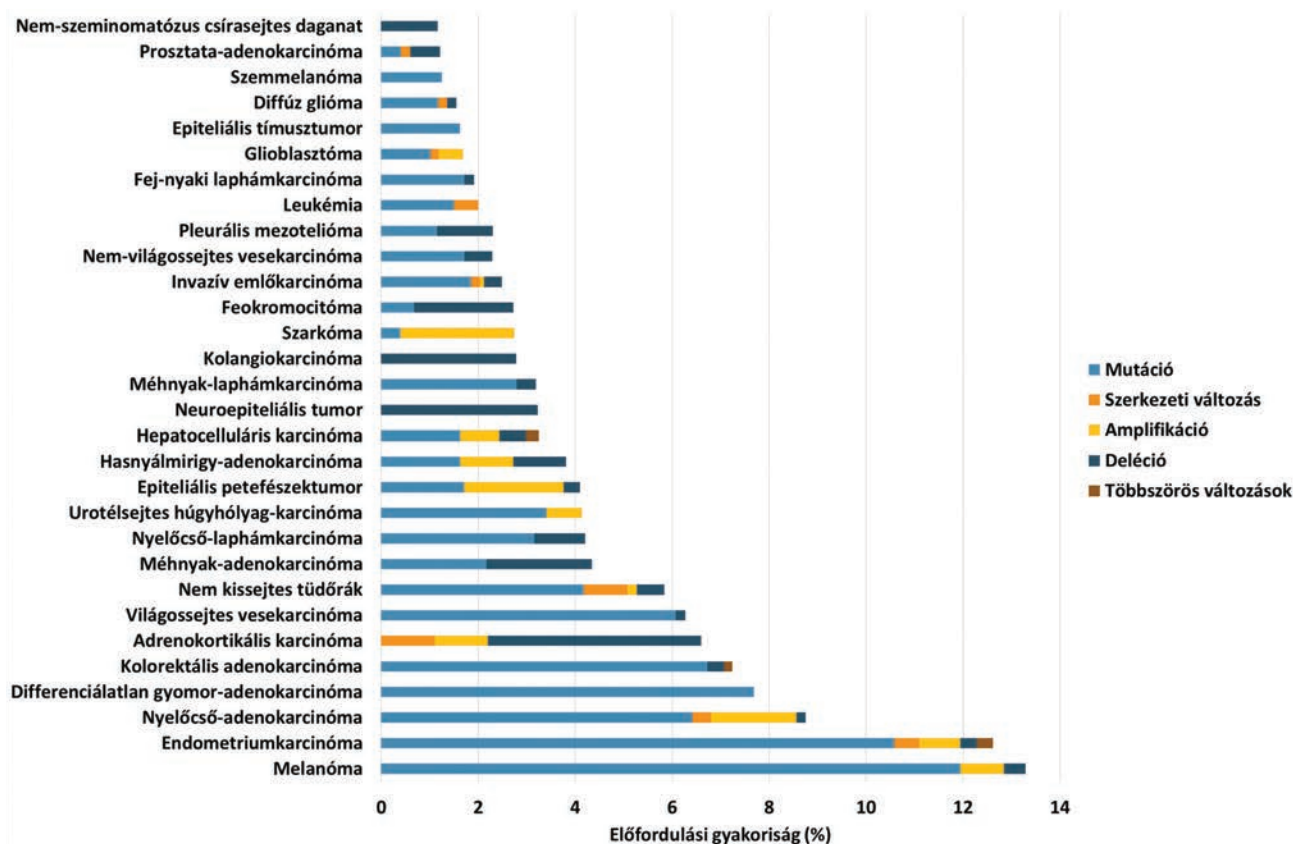
A két komplex felfedezését követően, illetve a rapamicin potenciális terápiás jelentőségének felismerésével az mTOR-aktivitás karakterizálásának igénye is felmerült. Az első generá-



**1. ÁBRA.** Az mTORC1 és mTORC2 komplexek szerkezete, célfehérjéi és szabályozó szerepei, illetve az mTOR-kinázdomén szerkezete és a leggyakoribb mutációk. a) Az mTORC1 és mTORC2 komplexek szerkezeti elemei, effektormechanizmusai és azok funkciói. Az aktiváló (fekete) és gátló (piros) hatásokat is mutatja a sematikus ábra. Feltüntettük az mTOR-komplexelek röntgenkristallográfiás térszerkezetét, illetve adott partnermolekulák kötődésének helyét az mTOR-kinázdoménen. b) Az mTOR-kinázdomén szerkezete és egyes gyakoribb mutációk. Az mTOR-kináz szerkezetének változásáért felelős leggyakoribb mutációkat pirossal színnel jelöltük (HEAT domén: huntingtin, elongation factor 3 [EF3], protein phosphatase 2A [PP2A], TOR1; FAT domén: FRAP, ATM, TRRAP; FRB domén: FKBP12-rapamycin binding; LBE domén: LST8-binding element; FATC domén: C-terminal FAT domain; egyéb magyarázatok a szövegben)

ciós, allosztérikus mTOR-inhibitorok mTORC1-hiperaktivitás esetén hatásosak, míg egyes jól ismert FRB-domént érintő mutációk vagy magas mTORC2-aktivitás mellett hatástala-

nok lehetnek. Az előbbieket felismerését követően megindult az újgenerációs, mTORC1-et és mTORC2-t is gátló kettős, illetve további, például „dual” (az mTOR mellett más jelátviteli



2. ÁBRA. Az *MTOR*-génmutációk, -amplifikációk, -deléciók és egyéb más szerkezeti génhibák gyakorisága humán daganatokban (TCGA PanCancer Atlas Studies adatbázisok adatai alapján)

útvonalat is gátló) inhibitorok fejlesztése is. Célzott terápiák megkezdése előtt érdemes az *mTOR* aktivitását karakterizálni *in situ*, mert a komplexek arányától függően is változhat a gyógyszeres kezelés eredményessége.

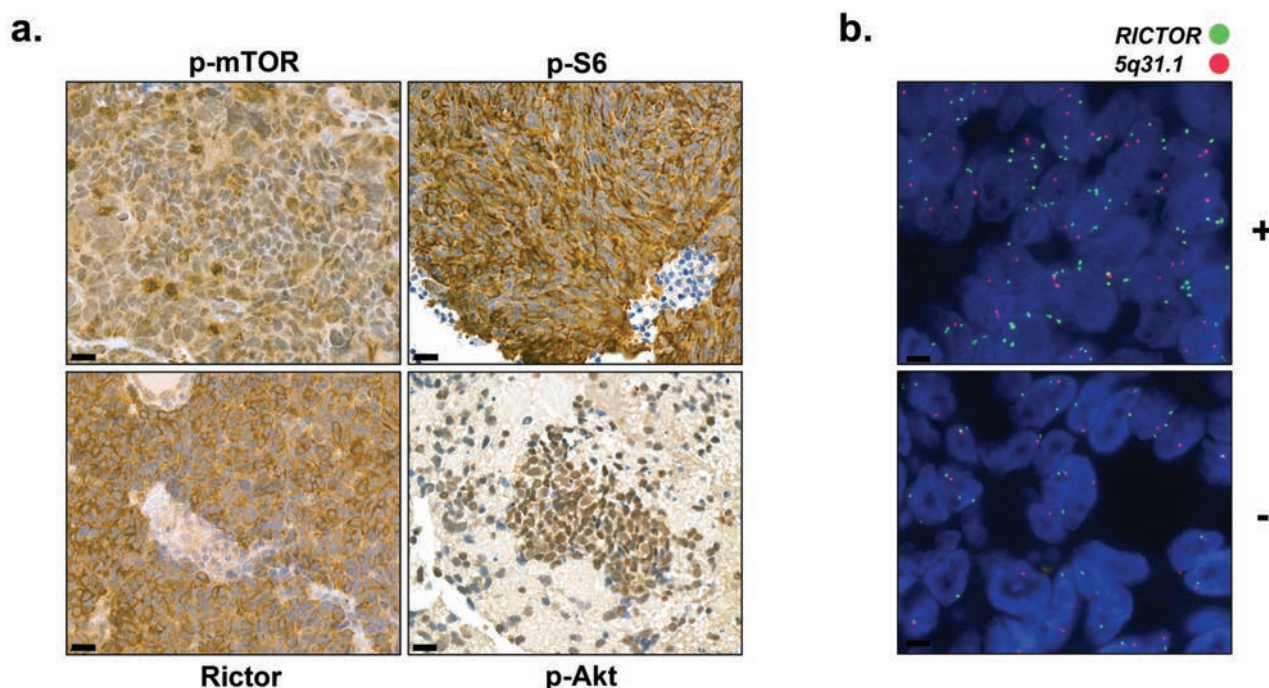
Saját vizsgálatainkban olyan, a tumortípusok széles körében felhasználható markerpaneleket dolgoztunk ki, melyek nemcsak az *mTORC1*, hanem az *mTORC2* komplex aktivitásának kvantitatív és morfológiai vizsgálatához is felhasználhatók a tumorsejtekben vagy -szövetekben. Különböző sejtvonalakon és beteganyagokban az *mTOR*-aktivitás jellemzését az *mTOR*-kináz aktív, foszforilált formájának (*p-mTOR*) és foszforilált célmolekuláinak (például *p-4EBP1*, *p-p70S6K*, *p-S6*) vizsgálatával végezhetjük, immunhisztokémia (IHC)/immuncitokémia és/vagy Western blot/Wes™ Simple segítségével. Az *mTORC2* esetében az egyik célfehérje az Akt-kináz, amelyben a 473. szerin aminosavat csak az aktív *mTORC2* képes foszforilálni. Az *mTORC2* komplex aktivitásának monitorozására ennek a fehérjének a mennyiségi és *in situ* vizsgálata a legmegfelelőbb az eddigi irodalmi adatokat is figyelembe véve. A két *mTOR*-komplex mennyiségi összehasonlítását az *mTORC1* és *mTORC2* specifikus vázfehérjéinek (az *mTORC1* esetén a Raptor, az *mTORC2* esetén pedig a Rictor) arányá-

ból is meghatározhatjuk. Az optimális markerkombináció *in situ* a *p-mTOR*, a Raptor és a Rictor, illetve a célfehérjék közül egy *mTORC1*- (például *p-S6*, *p-70S6K*, *p-4EBP1*) és egy specifikus *mTORC2*-célfehérje (*p-Akt [Ser473]*) együttes, *in situ* vizsgálata (3.a ábra).

### AZ *mTOR*- ÉS AZ *mTORC1*-HIPERAKTIVITÁS ROSSZINDULATÚ DAGANATOKBAN

Az *mTOR*-ral kapcsolatos első klinikai megfigyelésekben egy transzplantált beteg vesedaganatának kezelésekor az immunosuppresszív rapamicin tumorelles hatását igazolták (10). Az *mTOR* felfedezését követően számos daganattípus esetében írták le a tumorsejtek *mTOR*-inhibitorral szembeni érzékenységét és/vagy *mTOR*-hiperaktivitását, az *mTOR*-jelút elemeinek, célfehérjéinek és azok aktív formáinak mennyiségi változásait. Az előbbieket a múlt század végére, illetve a 2000-es évek elejére számos daganat esetében részben jellemezték is (részletes felsorolás a 4. ábrán).

Saját vizsgálatainkban limfómák és leukémiák *mTORC1*-, majd később mindkét komplex aktivitásának vizsgálataival járultunk hozzá a hematológiai malignitások *mTOR*-aktivitásának jellemzéséhez. Ezeket a vizsgálatainkat ösz-

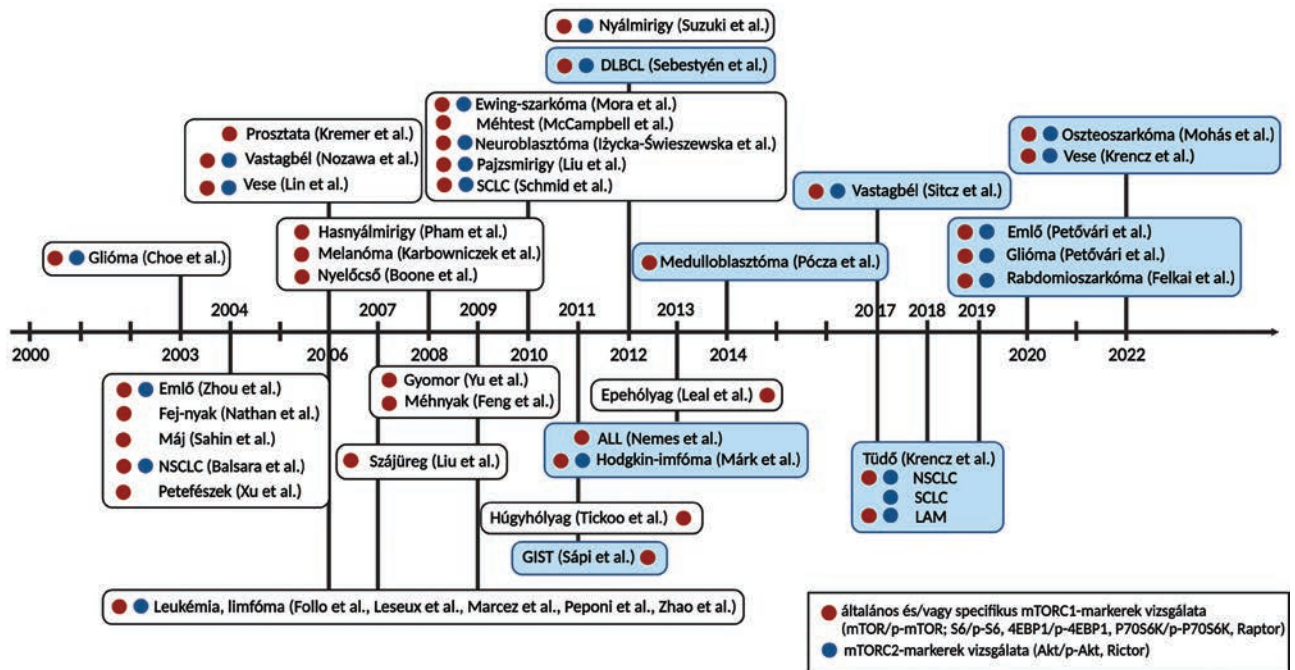


**3. ÁBRA.** Reprezentatív képek az általunk alkalmazott vizsgálati markerpanel immunhisztokémiai és FISH-eredményeiről. a) Az mTORC1- és mTORC2-aktivitás meghatározása immunhisztokémiával. Nagy mennyiségű p-mTOR, p-S6 és Rictor fehérjék *in situ* kimutatása kissejtes tüdődaganatok (SCLC) agyi metasztázisaiban, illetve a p-Akt fehérje kimutatása primer citológiai SCLC-mintából készült sejtblokk paraffinos metszetein. b) A *RICTOR* FISH-vizsgálatának reprezentatív fotói egy *RICTOR*-amplifikált (+) és egy nem amplifikált (-) humán daganatos eseten bemutatva. A *RICTOR*-próba (zöld) mellett kontrollként az 5. kromoszóma hosszú karjára (*5q31.1*) tervezett próbát (narancssárga) használtunk. A marker az IHC esetén 50  $\mu\text{m}$ -t, a FISH esetén 5  $\mu\text{m}$ -t jelöl

szefoglalva elmondható, hogy nemcsak a különböző limfóma-modellsejtvonalak és akut limfoid leukémia sejtek (ALL), hanem a Hodgkin-, a diffúz nagy B-sejtes (DLBCL), az anapláziás nagysejtes, köpenysejtes, a limfoplazmocitózis és a Burkitt-limfómák esetében is tapasztalható magas mTORC1-aktivitás. Az általánosan emelkedett mTOR-aktivitás mellett a legrosszabb túlélési eredményeket a magas mTOR-aktivitás és fokozott Rictor-expresszió esetén tapasztaltuk, ami felhívta a figyelmet a magas mTORC2-aktivitás negatív prognosztikai szerepére a legtöbb vizsgált limfoid malignitásban [11–16].

A limfómák és a leggyakoribb szolid daganatok *in vitro* modelljeiben igazolt mTOR-inhibitor-érzékenységek mellett számos malignus humán szövetben jellemzésre került az mTOR-hiperaktivitás. Emésztőrendszeri daganatokban (vastagbél-daganat, gasztrointesztinális stromális tumor – GIST) elsőként jellemezve az mTOR-komplexek aktivitását, az mTORC1- és mTORC2-vázfehérjék mennyisége alapján három fő csoportba soroltuk a hazai vastagbél-daganatos eseteket (alacsony Rictor- és magas Rictor-expresszió – magas mTORC2-aktivitás; magas Rictor- és alacsony Rictor-expresszió – magas mTORC1-aktivitás; hasonló mértékű Rictor- és Rictor-expresszió – kiegyensúlyozott mTORC1- és

mTORC2-aktivitás). Az eredményeinket összehasonlítottuk a betegek klinikai jellemzőivel és a legjobb kezelési, túlélési eredményeket alacsony mTORC1-aktivitás esetén, míg a legrosszabb túlélési adatokat magas mTOR-aktivitás mellett Rictort is nagy mennyiségben expresszáló eseteknél tapasztaltunk. Eredményeink alapján a Rictor-expresszió az mTOR-aktivitástól függetlenül is összefüggést mutatott a betegség rossz prognózisával [17, 18]. Az elmúlt években a humán emlődaganatokat érintő vizsgálatunkban mTORC1-hiperaktivitást tapasztaltunk az eseteink 50%-ában, ez alátámasztotta a korábban már bevezetett mTOR-gátló terápia alkalmazását. Emellett magas Rictor-expressziót, vagyis az mTORC2 komplex fokozott jelenlétét figyeltük meg az eseteink több mint 40%-ában, mely magyarázhatja a hagyományos rapalóg- (rapamicin és származékai) kezelések eredménytelenségét [19]. A hazai vesedaganatok mTOR-aktivitását is jellemeztük. Összehasonlító vizsgálatunkban a p-mTOR, p-S6 markerek magasabb expresszióját mutattuk ki világossejtes vesekarcinómában, a papilláris vesesejtes karcinómákhoz és a normális tubuláris epiteliális sejtekhez képest. A papilláris vesesejtes karcinómákat viszont magas Rictor-expresszió és potenciális mTORC2-aktivitás jellemezte, ami ebben a daganattípusban is felhívja a figyelmet az



**4. ÁBRA.** Mérőfdökövek a daganatok mTOR-hiperaktivitásának korai jellemzésében. A 2000-es évek elején a leggyakoribb, majd később a ritkább daganattípusok mTOR-aktivitásának első immunhisztokémiai jellemzései, illetve hazai jellemzéseink (a saját munkáink kék háttérrel kiemelve) láthatók az ábrán. Piros és kék körrel jelöltük az általános és/vagy specifikus mTORC1-markereket (mTOR/p-mTOR; S6/p-S6, 4EBP1/p-4EBP1, P70S6K/p-P70S6K, Raptor), valamint a specifikus mTORC2-markereket (Akt/p-Akt, Rictor) kimutató szövettani vizsgálatokat (ALL: akut limfoid leukémia, DLBCL: diffúz nagy B-sejtes limfóma, GIST: gasztrointesztinális stromális tumor, LAM: limfangioleiomiomatózis, NSCLC: nem kissejtes tüdődaganat, SCLC: kissejtes tüdődaganat). Az irodalomjegyzékben nem megadott közlemények: Balsara et al. doi: 10.1093/carcin/bgh226; Boone et al. doi: 10.1136/jcp.2008.055772; Choe et al. Cancer Res 2003; Feng et al. Int J Clin Exp Pathol 2009; Follo et al. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-06-4409; Izycka-Świeszewska et al. Pol J Pathol 2010; Karbowniczek et al. doi: 10.1038/sj.jid.5701074; Kremer et al. doi: 10.1002/pros.20410; Leal et al. doi: 10.5858/arpa.2012-0032-0A; Leseux et al. doi: 10.1182/blood-2006-05-026203; Lin et al. Ann Clin Lab Sci 2006; Liu et al. doi: 10.1002/cbf.1332; Liu et al. Ann Clin Lab Sci 2010; Marzec et al. doi: 10.1182/blood-2007-06-095182; McCampbell et al. doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-09-0199; Mora et al. doi: 10.1002/pbc.23348; Nathan et al. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-03-0483; Nozawa et al. doi: 10.1016/j.canlet.2006.11.008; Peponi et al. doi: 10.2353/ajpath.2006.051078; Pham et al. doi: 10.1186/1471-2407-8-43; Sahin et al. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-04-0941; Schmid et al. doi: 10.1038/sj.bjoc.6605761; Suzuki et al. doi: 10.1007/s00428-012-1282-3; Tickoo et al. doi: 10.1111/j.1464-410X.2010.09517.x; Xu et al. Int J Oncol 2004; Yu et al. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-2138; Zhao et al. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-1543; Zhou et al. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-04-0112

mTORC2-aktivitás szerepére [20]. Az utóbbi években inkább a ritkább szolid daganatok mTOR-aktivitásának jellemzése került az érdeklődés középpontjába; saját vizsgálatainkban például központi idegrendszeri daganatok, gyermekkori rhabdomyosarkómák, oszteosarkómák, medulloblasztómák és fibrosarkómák [21–25]. A korai mTOR-aktivitással kapcsolatos kutatások és saját eredményeink is arra hívják fel a figyelmet, hogy az mTORC2 komplex fokozott aktivitása és molekuláris hátterének feltérképezése további vizsgálatokat igényel.

#### AZ mTORC2 KOMPLEX KARAKTERISZTIKUS VÁZFEHÉRJÉNEK, A RICTOR EXPRESSZIÓJÁNAK FOKOZÓDÁSA ÉS AZ EZZEL ÖSSZEFÜGGŐ mTORC2-HIPERAKTIVITÁS

A Rictor fehérje az mTORC2 komplex jellegzetes aktinkordináló állványfehérjéje, melynek elsődleges funkciója az mTORC2 kialakulásának és szerkezetének biztosítása. Ez

a fehérje az mTORC1 komplexben található Raptort helyettesítve olyan térszerkezetű mTORC2 komplex kialakulását eredményezi, melyben az mTOR-kináz FKBP-*rapamicin*-kötő régiója a molekula belsejébe kerül, így a legjobban ismert és legszélesebb körben elérhető gátlószert, a rapamicin és első generációs származékai (rapalógok) részére elérhetetlen marad [1]. Ennek egyik következménye, hogy az mTORC2 komplex célfehérjéinek aktivitását (például Akt) az előbbi gátlószerek nem befolyásolják. A Rictor fokozott expressziója hátterében általában transzkripciós és translációs változások állnak. Az egyik legismertebb mTOR-kináz-útvoalat érintő onkogén mutáció a *RICTOR* gén amplifikációja. A *RICTOR*-amplifikációról a közelmúltban leírták, hogy kiemelt fontosságú lehet egyes daganatok progressziójában és a metasztázisai kialakulásában bizonyos, az előbbi folyamatokkal összefüggésbe hozható jelátviteli útvonalak szabályozásán keresztül (például Wnt/ $\beta$ -katenin, MAPK/ERK útvonalak) [26].

A RICTOR-amplifikáció eredményeként a Rictor fehérje expressziója fokozódik, és legtöbbször az mTORC2 aktivitásának emelkedése, illetve az mTORC1 és mTORC2 komplexek arányának eltolódása is megfigyelhető. A RICTOR genetikai hibái közül leggyakrabban az amplifikációt figyelték meg, de egyes esetekben más változásokat is leírtak már [27]. Különböző malignitásokban a RICTOR genetikai változásainak gyakoriságát az 5. ábra foglalja össze (nyilvános adatbázisok alapján).

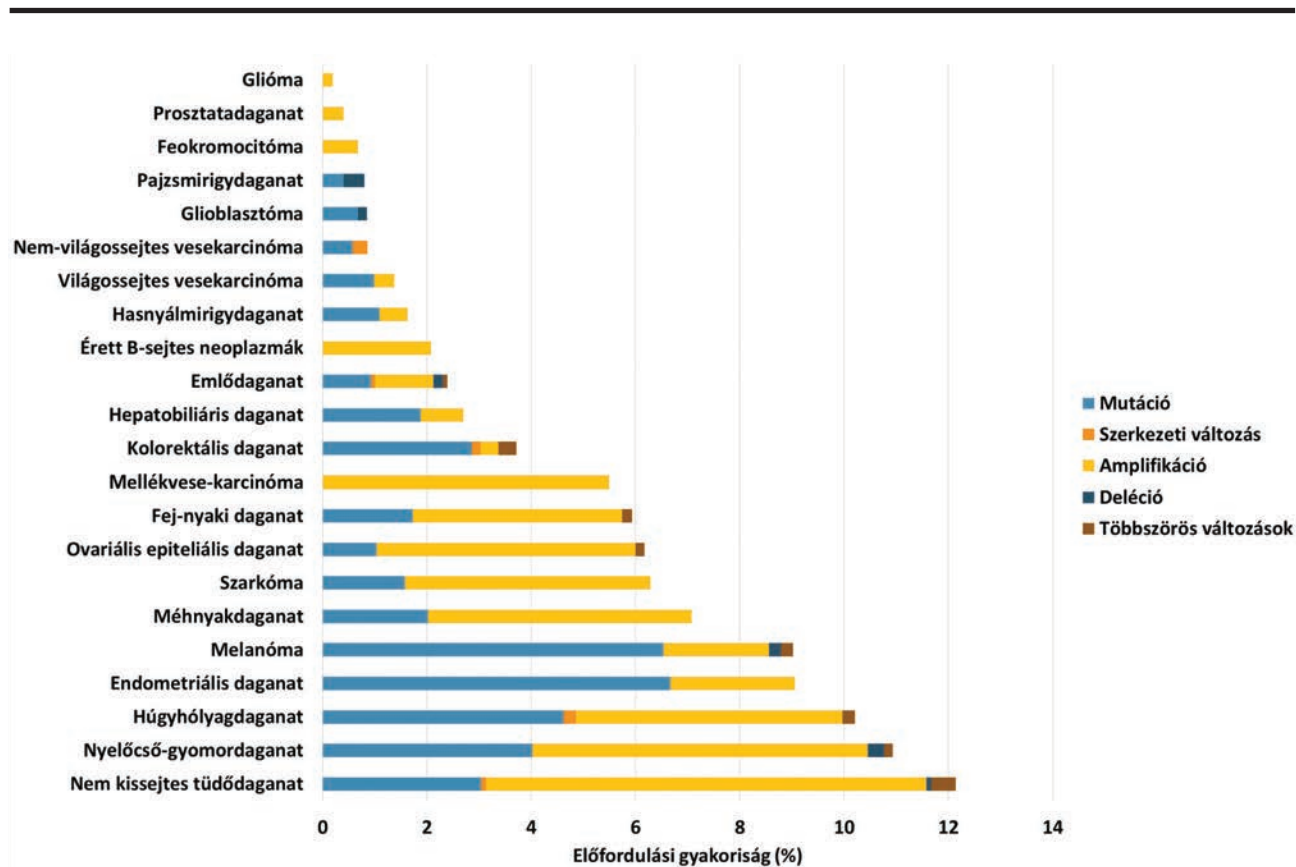
A normális (nem tumoros) sejtekhez képest magasabb Rictor-expressziót írtak le számos daganattípusban, többek között tüdő- [28], nyelőcső- [29], emlő- [30], hasnyálmirigy- [31], májdaganatokban [32] és melanómában [33], melyekben a magas Rictor-expresszió kedvezőtlenebb prognózissal és rövidebb túléléssel társult [27]. A különböző tumortípusokban eddig jellemzett mTORC2-hiperaktivitást és/vagy RICTOR-amplifikációt az 1. táblázat foglalja össze.

**A RICTOR-AMPLIFIKÁCIÓ, A RICTOR-EXPRESSZIÓ ÉS AZ mTORC2-AKTIVITÁS VIZSGÁLATA**

A RICTOR-amplifikáció jelenléte utalhat magas mTORC2-aktivitásra, és ezzel összefüggésben a PI3K/mTOR/Akt ten-

gely hatékony gátlásának prediktív markere lehet. A RICTOR-amplifikáció azonosítására ún. „gold standard” validációs diagnosztikai módszernek a fluoreszcens *in situ* hibridizáció (FISH) módszer tekinthető. Emellett a kópiaszám-változások szekvenálással (például újgenerációs szekvenálás) vagy digitális droplet PCR-rel (ddPCR) is detektálhatók. A Rictor fehérje expressziós szintje immunhisztokémiai vagy immuncitokémiai vizsgálatokkal kimutatható. Az előbbieken említettük, hogy az Akt fehérje egyik szerinjének foszforilációjéért kizárólag az mTORC2 komplex felel, így a p-Akt (Ser473) fehérje mennyiségének növekedése egyértelmű jele, ezért kiváló markere az mTORC2-aktivitás emelkedésének [22, 34, 35]. Fontos kiemelni, hogy a p-Akt (Ser473) expressziójának vizsgálatánál a szöveti minta előkészítése, fixálása különös figyelmet igényel. Ha a vizsgálandó szövetmintát nem fixálják időben, a foszforilált fehérjék kimutathatósága csökkenhet.

Saját vizsgálatunkban a RICTOR-amplifikáció kimutatására a FISH mellett beállítottuk a ddPCR-vizsgálatot is, amely a Rictor, illetve p-Akt (Ser473) expressziójának monitorozása mellett hasznos lehet a RICTOR-amplifikáció előszűrésében. A ddPCR-vizsgálatainkhoz formalinban fixált és paraffinba



5. ÁBRA. A RICTOR-génmutációk, -amplifikációk, -deléciók és egyéb szerkezeti génhibák gyakorisága humán daganatokban (TCGA PanCancer Atlas Studies adatbázisok adatai alapján)

1. TÁBLÁZAT. Rictor-expresszió és/vagy *RICTOR*-amplifikáció előfordulása, prognosztikus és terápiás vonatkozásai a különböző tumortípusokban

Tumortípus	Rictor-expresszióra és/vagy <i>RICTOR</i> -amplifikációra vonatkozó adatok	Prognosztikus és terápiás vonatkozások	Publikációk DOI-száma	
Emésztőrendszeri daganatok	Gyomordaganat	46–78% expresszió (IHC), 38% amplifikáció (FISH)	doi: 10.1093/annonc/mdw669, doi: 10.3389/fonc.2021.641453, doi: 10.1016/j.prp.2019.152734	
	Hepatocelluláris karcinóma, kolangiokarcinóma	40–43% expresszió (IHC)	A fokozott Rictor-expresszió összefügg a terápiarezisztenciával, a rosszabb prognózissal és a rövidebb teljes túléléssel. Az mTOR-inhibitor-kezelések előnyösek lehetnek más kezelőszerek kombinációjával (például EGFR-gátlók, platinaalapú kemoterápia)	doi: 10.1007/s10620-014-3417-7, doi: 10.1053/j.gastro.2008.08.008, doi: 10.1016/j.prp.2019.152734, doi: 10.1016/j.prp.2019.152734
	Kolorektális daganat	58% expresszió (IHC)		doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-4058, doi: 10.4149/neo_2020_190705N597, doi: 10.1007/s12253-018-0434-4, doi: 10.1136/jclinpath-2016-203913, doi: 10.3892/ol.2017.6936, doi: 10.1016/j.prp.2019.152734
	Nyelőcső-laphámrák	70% expresszió (IHC)		doi: 10.1007/s12032-017-0894-5
Emlődaganatok	HER2+ emlődaganat, luminális A/B emlődaganat, tripla-negatív emlődaganat	37–50% expresszió (IHC)	A fokozott mTORC2-aktivitás emelkedett metasztáziskészséggel és rosszabb prognózissal asszociált	doi: 10.3390/cancers12092492, doi: 10.1186/s13058-017-0868-8, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-15-3393, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-17-2388
	Metasztatikus emlődaganat (nyirokcsomó)	–		doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-0207
Fej-nyaki daganatok	–	70% expresszió (IHC)	–	doi: 10.1016/j.oraloncology.2016.12.012, doi: 10.1002/1878-0261.12558, doi: 10.21873/anticancer.12393
	HPV-vel összefüggő szájüregi laphámrák	–	A fokozott Rictor-expresszió a rosszabb prognózissal asszociált	doi: 10.1186/s12885-021-07794-9
Hasnyálmirigy-daganatok	–	–	A fokozott mTORC2-aktivitás korrelál a rosszabb prognózissal, az mTORC2 potenciális terápiás célpont lehet	doi: 10.18632/oncotarget.15524, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-16-0810
Központi idegrendszeri daganatok	Glióma, glioblasztóma	–	Az mTORC2 potenciális terápiás célpont lehet	doi: 10.3390/cancers12040787, doi: 10.1369/0022155416675850, doi: 10.1186/s12935-018-0710-0, doi: 10.1016/j.celrep.2018.06.050
Nőgyógyászati daganatok	Endometriumdaganat	44% expresszió (IHC)	A fokozott Rictor-expresszió korrelál a betegség stádiumával, a metasztázis-képződéssel és a rosszabb prognózissal	Wen SY et al. Int J Clin Exp Pathol (2014)
Szarkómák	–	28% expresszió (IHC), 20% expresszió (Western blot)	A magas mTORC2-aktivitás kedvezőtlen prognózissal asszociált	doi: 10.1038/modpathol.2011.163, doi: 10.1016/j.prp.2019.152734
	Rabdomiosarkóma	82% expresszió (IHC)		doi: 10.3390/cancers12071947
	Mixofibrosarkóma	–		doi: 10.1158/2159-8290.Cd-15-1481
	Oszteosarkóma	25% expresszió (IHC)		doi: 10.3389/pore.2022.1610231



**1. TÁBLÁZAT.** Rictor-expresszió és/vagy RICTOR-amplifikáció előfordulása, prognosztikus és terápiás vonatkozásai a különböző tumortípusokban (folytatás)

	Tumortípus	Rictor-expresszióra és/vagy RICTOR-amplifikációra vonatkozó adatok	Prognosztikus és terápiás vonatkozások	Publikációk DOI-száma
Tüdődaganatok	Adenokarcinóma	37% expresszió (IHC)	-	doi: 10.1016/j.humpath.2016.12.012, doi: 10.1016/j.prp.2019.152734
	Kissejtes tüdőkarzinóma	14% expresszió (IHC), 6–15% amplifikáció (szekvenálás)	-	doi: 10.1136/jclinpath-2014-202447, doi: 10.1097/JTO.0000000000000250, doi: 10.18632/oncotarget.13362, doi: 10.1016/j.humpath.2019.08.018
	Limfangioleiomiomatózis	55% expresszió (IHC)	-	doi: 10.1016/j.humpath.2018.05.018
	Metasztatikus tüdődaganat	66% expresszió (IHC)	-	doi: 10.1016/j.humpath.2016.12.012
Urogenitális daganatok	Húgyhólyagdaganat	-	A fokozott mTORC2-aktivitás hatással lehet a húgyhólyagdaganat-sejtek inváziós képességére	doi: 10.1016/j.ajpath.2021.08.002
Vese-daganatok	-	47% expresszió (IHC)	A rapalógokkal szembeni rezisztencia és a fokozott mTORC2-aktivitás összefügg	doi: 10.1111/jcmm.12471, doi: 10.1016/j.prp.2019.152734
Egyéb daganatok	Feokromocitóma	80% expresszió (IHC)	-	doi: 10.1007/s13277-015-3187-7
	Limfóma és leukémia (diffúz nagy B-sejtes limfóma, akut mieloid leukémia, akut limfoid leukémia, krónikus limfocitás leukémia, krónikus mieloid leukémia)	43–63% expresszió (IHC)	A magas mTORC2-aktivitás rosszabb prognózissal asszociált, az mTORC2 gátlása eredményes lehet	doi: 10.1038/modpathol.2012.141, doi: 10.1182/blood-2006-06-030833, doi: 10.3324/haematol.2009.010272, doi: 10.3390/cells8020190, doi: 10.1002/jic.28206
	Melanóma	-	A májmetasztázis jelenléte korrelál a fokozott RICTOR-expresszióval, az mTORC2 gátlása csökkentheti a metasztázisképzést	doi: 10.1016/j.neo.2018.10.001., doi: 10.3390/biomedicines9101498

ágyazott (FFPE) tumormintákból izolált DNS-t használunk. A PCR-reakcióhoz RICTOR FAM-próbát és AP3B1 HEX-próbát (Bio-Rad Laboratories, Inc.) alkalmazunk, a cseppeket a Bio-Rad Automated Droplet Generator segítségével hozzuk létre, és a PCR-reakciót a Bio-Rad C1000 Touch Thermal Cyclerrel végezzük el. Ezután a cseppeket a Bio-Rad QX200 Droplet Reader készülékkel olvassuk le és a QuantaSoft szoftver (1.7-es verzió) segítségével elemezzük. A 2-nél nagyobb RICTOR/AP3B1 arányú eseteket RICTOR-amplifikáltak tekintjük. A FISH-t 4 µm vastagságú FFPE metszeteken végezzük. A hibridizációhoz a ZytoLight SPEC RICTOR/5q31.1 Dual Color Probe-ot (ZytoVision GmbH) használjuk. A reprezentatív területeket az adott tumor három különböző területén 30-30 sejtmag megszámlálásával értékeljük ki. Meghatározzuk a sejtmagonkénti jelek átlagát és a RICTOR/5q31.1 arányt. A mintákat kettő feletti RICTOR/5q31.1 arány és négy feletti RICTOR-kópiaszám esetén pozitívnak, hat feletti RICTOR-kópiaszám esetén pedig a RICTOR/5q31.1 aránytól függetlenül

pozitívnak tekintettük. Amennyiben a RICTOR/5q31.1 arány nem érte el a kettőt, de RICTOR-kópiaszám négy és hat között volt, a mintákat bizonytalan kategóriába soroltuk (3.b ábra).

### TÜDŐDAGANATOK mTOR-AKTIVITÁSÁNAK ÉS RICTOR-AMPLIFIKÁCIÓJÁNAK VIZSGÁLATA

A PI3K/Akt/mTOR jelátviteli útvonal szabályozási zavarai fontos szerepet játszanak a tüdődaganatok többségének kialakulásában és progressziójában (36). Az mTOR-aktivitást a jól ismert mTOR-jelút aktivitásának zavarain (lásd korábban) túl az mTOR-jelpályával kapcsolódó egyéb jelátviteli útvonalak hibái is befolyásolhatják. Ezekkel összefüggésben az mTOR- és más kinázok kombinált gátlása további terápiás lehetőséget nyújthat a tüdődaganatok kezelésében (28).

Nem kissejtes tüdődaganatok (NSCLC) között az adenokarcinómák 90%-a, a laphámrákok 40%-a és a nagysejtes karcinómák 60%-a jellemezhető a PI3K/Akt/mTOR jelátvitel fokozott aktivitásával (37). Az mTORC1 effektorainak (például

**2. TÁBLÁZAT.** A PI3K/Akt/mTOR gátlók csoportosítása, legmagasabb klinikai fázisa, státusza és alkalmazása különböző tumortípusokban a GlobalData adatbázis alapján

Célpont	Gyógyszernév	Tumortípus	Legmagasabb klinikai vizsgálati fázis és azonosító	Státusz
<b>PI3K-inhibitorok</b>				
Nem alegység-specifikus PI3K-inhibitor	AZD8186	szolid tumor	fázis II – NCT04001569	aktív
	buparliszib (NVP-BKM120)	fej-nyaki daganat	fázis III – NCT04338399	aktív
	kopanoliszib	limfóma	–	forgalmazva
	duveliszib	limfóma, leukémia	–	forgalmazva
	MEN1611 (CH5132799)	kolorektális daganat	fázis II – NCT04495621	aktív
	tenaliszib (RP6530)	emlődaganat	fázis II – NCT05021900	aktív
	TQB-3525	limfóma, leukémia, endometriumdaganat, petefészek-daganat, emlődaganat	fázis II – NCT04615468, NCT04610970, NCT04398953, NCT04324879, NCT04836663, NCT04808570, NCT04355520	aktív
PI3Ka-inhibitor	alpeliszib	emlődaganat	–	forgalmazva
	CYH-33 (HHCYH-33)	szolid tumor	fázis I – NCT04586335, NCT04856371	aktív
	inavaliszib (GDC-0077)	emlődaganat	fázis III – NCT04191499	aktív
	szerebeliszib (INK-1117)	szolid tumor	fázis II – NCT04073680	aktív
	taszeliszib	szolid tumor, limfóma, mielóma	fázis II – NCT02465060	aktív
PI3KB-inhibitor	GSK2636771	limfóma, mielóma, szolid tumor	fázis II – NCT02465060	aktív
PI3Ky-inhibitor	eganeliszib (IPI-549)	emlő-, vesedaganat	fázis II – NCT03961698	aktív
PI3Kδ-inhibitor	amdizaliszib (HMPL-689)	limfóma	fázis II – NCT04849351	aktív
	idelaliszib	limfóma, leukémia	–	forgalmazva
	IOA-244	limfóma, melanóma, szolid tumor	fázis I – NCT04328844	aktív
	linperliszib (YY-20394)	limfóma	fázis II – NCT04500561, NCT04705090, NCT04370405, NCT04379167, NCT04948788	aktív
	parszkliszib (INCB50465)	mielofibrózis, limfóma	fázis III – NCT04551066, NCT04551053, NCT04796922, NCT04849715	aktív
	SHC014748 (SH-748)	limfóma	fázis II – NCT04470141, NCT04431089	aktív
	umbraliszib	limfóma	–	forgalmazva
	zandeliszib (PWT-143)	limfóma	fázis III – NCT04745832	aktív
Különféle célpontok	piktiliszib (GDC-0941), pilaraliszib, ZSTK-474, szonoliszib, SAR260301, szeletaliszib (UCB-5857), AMG319 (ACP-319), nemiraliszib (GSK2269557), dezapeliszib (NCB-040093), AZD-8835, daktoliszib, apitoliszib, SF1126, bimiraliszib (PQR309), voxtaliszib stb.			inaktív/felfüggesztett
<b>mTOR-inhibitorok</b>				
Allosztérikus mTOR-inhibitor	everolimusz	emlő-, vesedaganat, központi idegrendszeri daganat, endokrin tumor	–	forgalmazva
	szirolimusz	limfangioleiomiomatózis	–	forgalmazva
	temszirolimusz	vesedaganat	–	forgalmazva

**2. TÁBLÁZAT.** A PI3K/Akt/mTOR gátlók csoportosítása, legmagasabb klinikai fázisa, státusza és alkalmazása különböző tumortípusokban a GlobalData adatbázis alapján (folytatás)

Célpont	Gyógyszernév	Tumortípus	Legmagasabb klinikai vizsgálati fázis és azonosító	Státusz
mTOR-kináz-inhibitor (mTORC1/C2 kettős inhibitor)	CC-115	központi idegrendszeri daganat	fázis II – NCT0297778	aktív
	onataszertib (ATG-008)	szolid tumor	fázis II – NCT04518137, NCT03591965, NCT04998760, NCT04337463	aktív
	szapaniszertib (MLN0128)	szolid tumor, limfóma, mielóma	fázis II – NCT02465060	aktív
	visztuszertib	tüdődaganat	fázis II – NCT02664935, NCT03334617	aktív
Különféle célpontok	daktoliszib, apitoliszib, SF1126, bimiraliszib (PQR309), voxnaliszib, ridaforolimusz (deforolimusz, MK-8669), AZD8055			inaktív/felfüggesztett
<b>Akt-inhibitorok</b>				
Pan-Akt	afureszertib	petefészek-daganat, prosztata-daganat	fázis II – NCT04060394, NCT04374630	aktív
	kapivaszertib	prosztatadaganat, emlődaganat	fázis III – NCT03997123, NCT04493853, NCT04862663, NCT04305496	aktív
	ipataszertib	prosztatadaganat, emlődaganat	fázis III – NCT04650581, NCT04177108, NCT04060862, NCT03337724, NCT03072238	aktív
	MK-2206	tüdődaganat, timóma, emlődaganat	fázis II – NCT01042379, NCT01306045	aktív
	TAS-117	szolid tumor	fázis II – NCT04770246	aktív
	triciribin (PTX-200)	leukémia	fázis II – NCT02930109	aktív
	uproszertib	mielóma, szolid tumor	fázis II – NCT01989598, NCT01902173	aktív
Különféle célpontok	COTI-2, perifoszin, LY-2503029			inaktív/felfüggesztett
<b>Több célpontot támadó inhibitorok</b>				
PI3K, mTOR „dual” inhibitor	gedatoliszib	emlődaganat	fázis II – NCT03698383, NCT03911973	aktív
	paxaliszib	központi idegrendszeri daganat	fázis III – NCT03970447	aktív
	szamotoliszib	szolid tumor, limfóma	fázis II – NCT03213678, NCT03155620	aktív

p-4EBP1, p-S6) fokozott expresszióját adenokarcinómákban és laphámrákokban is megfigyelték. Ezekben a vizsgálatokban a daganatok invazivitása, metasztázisképzése, valamint kedvezőtlenebb prognózisa összefügg a fokozott mTOR-aktivációval [38]. A *PIK3CA* aktiváló mutációját az NSCLC-k 4-7%-ában, amplifikációját a laphámrák 33%-ában és az adenokarcinómák 1%-ában mutatták ki. A *RICTOR*-amplifikációt az NSCLC-k 10%-ában írták már le, illetve ezeken túl az mTOR-jelátvitel negatív szabályozójaként működő *PTEN* és *STK11* tumorszuppresszor gének mutációit is megfigyelték laphámrákokban és adenokarcinómákban [39, 40].

Saját vizsgálatunkban közel 70-70 primer tüdő-adenokarcinómában és agyi áttéteikben vizsgáltuk a p-mTOR,

a p-S6 és a Rictor fehérjék *in situ* expresszióját. Fokozott p-mTOR-, p-S6- és Rictor-fehérjeexpressziót figyeltünk meg a primer adenokarcinómák 33, 34%-ában és 37%-ában, illetve az agyi áttétek 79, 70%-ában és 66%-ában. Összehasonlítva primer daganatokkal, az esetek többségében mindegyik marker intenzívebb pozitivitást mutatott az agyi metasztázisokban. Magas p-mTOR-értékekhez néhány esetben alacsony p-S6-expresszió és magas Rictor-expresszió társult, ami a primer tüdő-adenokarcinómák 16%-át, míg az agyi metasztázisok 51%-át jellemezte. További összefüggéseket találtunk a primer adenokarcinómák magasabb stádiuma és Rictor-expressziója, illetve a szoliter agyi áttétek esetében a magas Rictor- és alacsonyabb p-S6-expresszió között.

**3. TÁBLÁZAT.** Folyamatban lévő, mTOR-gátlókkal kombinált terápiák és legmagasabb klinikai vizsgálati fázisuk különböző tumortípusokban a GlobalData adatbázis alapján

Tumortípus	Kezelés	Legmagasabb klinikai vizsgálati fázis és azonosító
<b>Agy, központi idegrendszer</b>		
Forgalmazva: asztrocitóma (everolimusz)		
	temszirolimusz + perifoszín	fázis I – NCT02238496
	temszirolimusz + vorinosztát	fázis I – NCT02420613
	nab-rapamicin + temozolomid + irinotekán	fázis I – NCT02975882
	temszirolimusz + daszatinib + ciklofoszfamid	fázis I – NCT02389309
	nab-rapamicin + standard terápia	fázis II – NCT03463265
	szirolimusz + celecoxib + etopozid + ciklofoszfamid	fázis II – NCT02574728
	everolimusz + trametinib	fázis I – NCT04485559
<b>Emlő</b>		
Forgalmazva: metasztatikus, hormonreceptor+/HER2– emlődaganat (everolimusz)		
Luminális A (hormonreceptor+/HER2–)	AZD2014/everolimusz + fulvesztrant	fázis II – NCT02216786
	everolimusz + paklitaxel	fázis II – NCT04355858
HER2+ (hormonreceptor–/HER2+)	rapamicin + inetetamab + kemoterápia	fázis III – NCT04736589
Tripla-negatív	AZD2014 + AZD6244 (MEKI)	Fázis I/II – NCT02583542
	everolimusz + bevacicumab + doxorubicin	fázis II – NCT02456857
Egyéb	temszirolimusz + AZD6244	fázis I – NCT00600496
<b>Fej-nyak</b>		
	gedatoliszib + palbociklib	fázis I – NCT03065062
<b>Hasnyálmirigy</b>		
	gedatoliszib + palbociklib	fázis I – NCT03065062
<b>Kolorektális</b>		
	nab-rapamicin + FOLFOX6 + bevacicumab	fázis I/II – NCT03439462
	temszirolimusz + AZD6244	fázis I – NCT00600496
<b>Leukémia</b>		
	decitabin + rapamicin	fázis I/II – NCT02109744
	rapamicin + azacitidin	fázis II – NCT01869114
	rapamicin + takrolimusz + melfalán + klofarabin	fázis II – NCT01885689
<b>Limfóma</b>		
Forgalmazva: köpenysejtes limfóma (temszirolimusz)		
Hodgkin-limfóma	everolimusz + itacitinib	fázis I/II – NCT03697408
<b>Melanóma</b>		
	temszirolimusz + AZD6244	fázis I – NCT00600496
<b>Neuroendokrin</b>		
Forgalmazva: tüdőből, hasnyálmirigyből vagy belekből kiinduló neuroendokrin tumorok (everolimusz)		
	everolimusz + lenvatinib	fázis II – NCT03950609
	everolimusz + bevacicumab + oktreatid-acetát	fázis II – NCT01229943
<b>Szarkóma</b>		
	nab-rapamicin + pazopanib-hidroklorid	fázis I/II – NCT03660930
	temszirolimusz + kemoterápia	fázis III – NCT02567435
	everolimusz + ribociklib	fázis II – NCT03114527
	everolimusz + temszirolimusz + kemoterápia	fázis I – NCT04199026

**3. TÁBLÁZAT.** Folyamatban lévő, mTOR-gátlókkal kombinált terápiák és legmagasabb klinikai vizsgálati fázisuk különböző tumortípusokban a GlobalData adatbázis alapján (folytatás)

Tumortípus	Kezelés	Legmagasabb klinikai vizsgálati fázis és azonosító
<b>Tüdő</b>		
Forgalmazva: sporadikus limfangioleiomiomatózis (rapamicin)		
NSCLC	gedatoliszib + palbociklib	fázis I – NCT03065062
	rapamicin + epakadosztát	fázis I – NCT03217669
	AZD2014 + AZD6244 (MEKI)	fázis I/II – NCT02583542
	szirolimusz + durvalumab	fázis I – NCT04348292
NSCLC+SCLC	rapamicin + auranofin	fázis I/II – NCT01737502
	temszirolimusz + AZD6244	fázis I – NCT00600496
<b>Urogenitális</b>		
	temszirolimusz + paklitaxel + karboplatin	fázis II – NCT00977574
	AZD2014 + anasztrozol	fázis I/II – NCT02730923
	rapamicin + auranofin	fázis II – NCT03456700
	everolimusz + levonorgesztrel	fázis II – NCT02397083
	everolimusz + letrozol + ribociklib	fázis II – NCT03008408
	ATG008/ATG010	fázis II – NCT04998760
<b>Vese</b>		
Forgalmazva: metasztatikus vesedaganat (everolimusz, temszirolimusz)		
	emszirolimusz + szunitinib	fázis II – NCT01517243
	temszirolimusz + AZD6244	fázis I – NCT00600496
	everolimusz + DFF332 (HIF2αI)	fázis I – NCT04895748
	everolimusz + lenvatinib	fázis I – NCT03324373
	everolimusz + lenvatinib	fázis II – NCT05012371
<b>Egyéb</b>		
<b>Előrehaladott daganatok</b>	rapamicin/everolimusz/temszirolimusz + vorinosztát	fázis I – NCT01087554
	temszirolimusz + bevacizumab + karboplatin/szorafenib/paklitaxel	fázis I – NCT01187199
	everolimusz + vandetanib	fázis I – NCT01582191
	rapamicin/everolimusz + cemiplimab + prednizon	fázis I – NCT04339062
	everolimusz + ceritinib	fázis I – NCT02321501
<b>Hepatoblasztóma</b>	temszirolimusz + kemoterápia	fázis III – NCT00980460
<b>Hepatozelluláris karcinóma</b>	everolimusz + trametinib + lenvatinib	fázis II – NCT04803318
<b>Neuroblasztóma</b>	temszirolimusz + temozolomid + irinotekán	fázis II – NCT01767194
<b>Neurofibromatózis</b>	rapamicin + szelumetinib (MEKI)	fázis II – NCT03433183
	rapamicin + PLX3397 (MTKI)	fázis I/II – NCT02584647
<b>Szolid tumorok</b>	temszirolimusz + ixabepilon	Fázis I – NCT01375829
	nab-rapamicin + temozolomid + irinotekán	fázis I – NCT02975882
	temszirolimusz + daszatinib + ciklofoszfamid	fázis I – NCT02389309
	gedatoliszib + palbociklib	fázis I – NCT03065062
	temszirolimusz + valproát + ciklofoszfamid + bevazimab	fázis I – NCT02446431
	everolimusz + trametinib + lenvatinib	fázis II – NCT04803318
	rapamicin + epakadosztát	fázis I – NCT03217669
	szirolimusz + celecoxib + etopozid + ciklofoszfamid	fázis II – NCT02574728
<b>Vaszkuláris tumor</b>	rapamicin + prednizon	fázis II – NCT03188068

15 esetben ugyanazon beteg primertumor- és agyi áttéti mintárait összehasonlítva az áttétekben az mTORC1-aktivitás fokozódását tapasztaltuk; az esetek 60%-ában a p-mTOR és a p-S6, míg 40%-ában a Rictor expressziója fokozódott az agyi áttétekben. Ezek az adatok felhívják a figyelmet az mTORC2-aktivitás jelenlétére és prognosztikus szerepére ebben a tumortípusban is [41].

A neuroendokrin eredetű tüdődaganatok közül leggyakrabban a kissejtes tüdődaganatok (SCLC) fordulnak elő, az összes tüdődaganat 15-20%-át teszik ki [42]. A *TP53* és *RB1* gének mutációin, illetve az *MYC*-amplifikáción túl a PI3K/Akt/mTOR jelút tagjait (például *PIK3CA*, *PTEN*, *AKT2*, *AKT3*, *MTOR*, *RICTOR*) érintő genetikai változások is gyakoriak SCLC-kben. Az előbbiekből közül a *RICTOR*-amplifikáció a leggyakrabban előforduló célozható genetikai eltérés SCLC-kben (6–14%) [43]. Az mTOR-jelút aktivációját SCLC-kben már igazolták a p-mTOR és p-S6 fehérjék immunhisztokémiai vizsgálatával [44], ezzel szemben az mTORC2 aktivitásáról, hátteréről és jelentőségéről kevesebb adat érhető el.

A *RICTOR*-amplifikációs vizsgálatokat elsőként a Mayo Klinikával együttműködve kezdtük meg, ennek keretében 92 SCLC-s beteg 100 mintájának elemzését végeztük el. A *RICTOR*-amplifikáció jelenlétét FISH segítségével igazoltuk. Az esetek 15%-ában állapítottunk meg *RICTOR*-amplifikációt, további eseteink 3%-a bizonytalan és 82%-a negatív volt. Ugyanezekben a mintákban immunhisztokémiával jellemeztük a Rictor és a p-Akt mennyiségét. Az esetek 14%-a magas, 23%-a közepes, 25%-a alacsony Rictor-expressziót mutatott, 38%-a pedig negatívnak bizonyult. A p-Akt-expresszió az esetek 16%-ában magas, 26%-ában közepes, 35%-ában alacsony volt, míg a vizsgált minták 23%-ában nem tudtuk kimutatni a fehérje jelenlétét. Statisztikai elemzéseink alapján a Rictor-immunhisztokémia szenzitivitása 93%, specificitása 73%; a p-Akt-immunhisztokémia szenzitivitása 80%, specificitása 65% volt a *RICTOR*-FISH-eredményekkel összehasonlítva. A *RICTOR*-amplifikáció megléte vagy hiánya a betegek teljes túlélési adataival nem mutatott összefüggést. A Rictor és a p-Akt fehérjék magasabb *in situ* expressziója viszont szignifikánsan rövidebb teljes túléléssel társult [35].

A ritka tüdődaganatok egyik formája, a limfangioleiomiomatózis (LAM) kialakulásában a *TSC1/2* gének funkcióvesztő mutációjának van szerepe, amely a LAM-sejtek proliferációját, növekedését és invázióját révén a tüdőszövet károsodását eredményezi [45, 46]. Az mTORC1-aktivitás terápiás jelentőségét és az mTOR-jelút downstream markereinek (p-p70S6K, p-S6, p-4EBP1) expresszióját immunhisztokémiai vizsgálatokkal már igazolták [47, 48].

A Mayo Klinika segítségével 11 LAM-esetet sikerült bevonni vizsgálatunkba, ezek közül 91%-ban magas p-S6-fehérjeexpressziót tapasztaltunk, ami igazolta az mTORC1 fokozott aktivitását, és alátámasztja az mTOR-inhibitor-kezelések alkalmazását. Ezzel párhuzamosan az esetek több mint felében (55%) a p-S6 mellett magas Rictor-expressziót is kimutattunk. Ez a megfigyelés ebben a kórképben is

felhívja a figyelmet az mTORC2 komplex potenciális aktivitásának szerepére, mely adott esetekben magyarázhatja az mTORC1-gátlók hatástalanságát. Munkánk az első humán LAM-mintákon végzett, mTORC1- és mTORC2-aktivitást is vizsgáló tanulmány, melyben a korábról már ismert mTORC1-hiperaktivitás mellett igazoltuk az mTORC2 fokozott mennyiségét és aktivitásának emelkedését is. A továbbiakban az mTORC2-hiperaktivitás igazolása esetén javasolni lehetne más mTORC1- és mTORC2-gátlót, vagy „dual” mTOR-inhibitorok alkalmazását ezen ritka daganat progressziójának lassítására [49].

Vizsgálataink alátámasztják az mTOR-aktivitás jellemzésének jelentőségét a daganatok széles körében, ennek alapján a megfelelő mTOR-gátló alkalmazásának klinikai igénye is felmerülhet. Ezekben az esetekben minimum 3-4 *in situ* szöveti marker immunhisztokémiai vizsgálatát javasoljuk (például p-mTOR, p-S6, Rictor és p-Akt [Ser473]). Ezek segítségével a tumorszövetekben jól feltérképezhetővé válik az mTORC1- és mTORC2-aktivitás aránya. Fontos megjegyezni, hogy magas Rictor- és p-Akt (Ser473) expresszió esetében az első generációs mTORC1-gátlók hatékonysága kétséges lehet, mivel bizonyos mTORC1-gátlók alkalmazását a magas mTORC2-aktivitású tumorsejtek túlélhetik [50].

#### CÉLZOTT TERÁPIÁS LEHETŐSÉGEK mTOR-HIPERAKTIVITÁS ÉS/VAGY RICTOR-AMPLIFIKÁCIÓ JELENLÉTEBEN

Az elmúlt évtizedekben számos, a PI3K/Akt/mTOR jelátvitelt gátló kezelőszert hatékonyságát vizsgálták. Annak ellenére, hogy a jelút inhibitoraival számos klinikai vizsgálat folyik, a terápiás válaszok sokszor elmaradnak a várttól, kevés új hatóanyag bevezetésére kerül sor a különböző daganatok kezelésében. Ennek egyik lehetséges oka a nem megfelelő betegszelekció, és ezzel összefüggésben a megbízható prediktív markerek hiánya. Az mTOR-gátlókkal szembeni érzékenységet előjelezhetik egyes genetikai eltérések (például *PIK3CA* mutáció/amplifikáció, a *PTEN* funkcióvesztő mutációja, *AKT*-mutáció, *RICTOR*-amplifikáció), illetve a jelátviteli útvonal elemeinek, azok aktív formáinak (például p-S6, p-Akt) túlexpressziója. Ezek olyan, szöveti szinten is jól vizsgálható markerek, amelyek jelenlétét vagy hiányát érdemes értékelni célzott terápiák tervezésekor, adott gátlószerek alkalmazása előtt [51, 52].

A legismertebb mTOR-gátlót, a rapamicint – amely egyben az mTOR-kináz névadó gátlószere is – eredetileg mikrobiális eredetű antibiotikumként izolálták, majd 1975-ben vezették be immunszuppresszív hatóanyagként [53]. A rapamicin specifikus célfehérjéje, az mTOR-kináz felfedezését követően az allosztérikus mTOR-gátlókat, a rapamicint és származékait (everolimusz, szirolimusz, temszirolimusz stb.) több daganattípus esetében (például emlő-, vese-, endokrin és központi idegrendszeret érintő daganatok) eltérő eredményekkel kezdték alkalmazni. A rapalógok az FKBP12 fehérjén keresztül az mTOR-kináz FRB-doménjéhez kötődve gátolják az mTORC1 aktivitását. A két komplex szerkezeti különbségei miatt (lásd

korábban), az mTORC2 esetében a rapamicin direkt hatása nem jelentkezik [50]; az egyéb mTORC2 komplexet érintő lehetséges rapamicinfüggő hatások pontos feltárása további vizsgálatokat igényel.

A rapalógok mellett a kettős mTORC1- és mTORC2-gátlók (például CC-115, szapaniszertib, visztuszertib), valamint mTOR-kinázt és más jelátviteli kinázt (például PI3K) is gátló inhibitorok (például gedatoliszib, paxaliszib, szamatoliszib) fejlesztése jelenleg is zajlik. Tesztelnek más, specifikus Akt-gátlókat is (például afureszertib, kapivaszertib, ipataszertib, MK-2206, TAS-117, triciribin, uproszertib), amelyek jelenleg fázis II-es és III-as vizsgálatokban vannak. Harmadik generációs mTOR-gátlók (például RapaLink-1) fejlesztése is zajlik különböző előrehaladott daganatok kezelésében (például vese-, emlődaganatok, köpenysejtes, illetve más „high-grade” limfómák) [54]. A jelenleg használt és fejlesztés alatt álló PI3K/Akt/mTOR gátlókat a 2. táblázatban soroltuk fel.

Az mTORC2 komplexre specifikus, hatásos és magas szelektivitású kismolekulák fejlesztése – az mTORC1-aktivitás megőrzése mellett – egyelőre nehézségekbe ütközik. Az mTORC2 specifikus inhibitorai közül csak néhány, elsősorban siRNS technika alapuló gátlószer (például Rictor si-NP, JR-AB2-011) van preklinikai vizsgálatban [55, 56].

A PI3K/Akt/mTOR-jelátvitel túlzott aktivitása és a kedvezőtlen prognózis közötti összefüggés ellenére a monoterápiában alkalmazott mTOR-gátlók hatékonysága a legtöbb célzott terápiás szerhez hasonlóan igen alacsony. Az mTOR-gátlók kombinációja más célzott kezelésekkal vagy hagyományos kemoterápiával/sugárterápiával azonban elősegítheti a különböző szerek érzékenyítését és a kezelésekkal szembeni rezisztenciamechanizmusok felfüggesztését. Az ilyen típusú kombinált kezelések fejlesztése is folyamatosan zajlik a legkülönbözőbb rosszindulatú daganatokban [3. táblázat] [57]. Ezeknek az mTOR-inhibitor kombinációs kezeléseknél azonban gátat szabhatnak a kialakuló és gyakran felerősödő egyéni mellékhatások is, amelyek csillapítása az onkológusok részéről igen körültekintő kezelést igényel [58].

### A JÖVŐBEN VÁRHATÓ ALKALMAZÁSOK, ÚJDONSÁGOK

A személyre szabott terápiák fejlődése, valamint a rosszindulatú daganatokra vonatkozó molekuláris genetikai adatok növekvő hozzáférhetősége – beleértve a különböző daganatokban előforduló fokozott mTORC1- és mTORC2-aktivitással és RICTOR-amplifikációval kapcsolatos eredményeinket – rávilágít a validált célpontok jelentőségére a gyakori és ritka malignitásokban egyaránt. A célzott terápiák hatékonysága az esetek többségében nem hozza a várt eredményeket, sokszor a nem megfelelő betegszelekció miatt. Egy biomarker-vezérelt „esernyős” (umbrella study) vizsgálat a RICTOR-amplifikáció jelenléte alapján választotta

ki betegeit, ígéretes stratégiát mutatva a személyre szabott terápiák alkalmazásában, hiszen a vizsgálatba beválogatott betegek így a legnagyobb valószínűséggel reagálhatnak a célzott kezelésekre. Ebben a vizsgálatban a bevont négy, vizstuszertibbel (kettős mTORC1- és mTORC2-gátló) kezelt SCLC-s beteg közül kettő túlélése közel egy évvel hosszabodott meg [59].

Munkánkban olyan molekuláris vizsgálati markerpanelt dolgoztunk ki, amelynek segítségével az mTOR-aktivitás szöveti jellegzetességei meghatározhatók biopsziás mintákban, beteganyagokban és sejtvonalakban. Remélhetőleg eredményeink és más molekuláris vizsgálati eredmények segítik és optimalizálják a jövőbeni terápiás döntéshozatalt.

Az mTOR-hiperaktivitás jól célozható genetikai eltérés lehet a különböző tumortípusok esetében. Saját vizsgálatunkban számos esetben elsők között publikálhattuk nemcsak a két komplex aktivitásáról, hanem az mTORC2 hiperaktivitásának jellemzéséről és annak prognosztikai összefüggéseiről szóló eredményeinket. A jövőben további vizsgálatokat tervezünk az mTOR-hiperaktivitás és RICTOR-amplifikáció jelentőségével kapcsolatban több rosszindulatú daganatban. Az újgenerációs szekvenálás elterjedése a rutin diagnosztikában az onkogén és tumorszuppresszor gének változásainak pontosabb térképezését segíti elő. A molekuláris patológiai eredmények, a molekuláris genetikai adatok széles körben elérhetővé válnak, ami az mTOR-aktivitást érintő mutációk felismerését segítheti. Ezeknek köszönhetően felfigyelhetünk az egyes mutációk jelentőségére a ritkább tumortípusokban is.

Összefoglalva, a PI3K/Akt/mTOR jelút számos, már harmadik generációs inhibitora áll fejlesztés alatt, és ezek közül több klinikai vizsgálati fázisban van. Napjainkig a kutatásokra fordított óriási erőfeszítésekhez és rengeteg pénzt felemésztő fejlesztésekhez képest kevés gátlószer elfogadására került sor különböző daganatok terápiájában. Annak érdekében, hogy ezt a számot növelni tudjuk és egyre több mTOR-gátló vagy más célzott gátlószer klinikai translációja bekövetkezessen a személyre szabott kezeléseknél, elengedhetetlen, hogy prediktív markereket azonosítsunk, amelyek segíthetik a terápiás döntéshozatalt. A biomarker-vezérelt betegszelekción túl fontos a minél hatékonyabb és emellett jó biztonságossági profillal rendelkező szerek fejlesztése, továbbá racionális, az életminőséget is javító gyógyszer-kombinációk alkalmazása, amelyek eredményesek lehetnek a primer vagy szerzett rezisztencia leküzdésében.

Az összefoglaló közlemény ábrái (1., 4. ábra) szerkesztése a Bio-Render (<https://biorender.com>) internetes képszerkesztő programmal történt, a Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet előfizetésén keresztül.

## IRODALOM

1. Saxton RA, Sabatini DM. mTOR signaling in growth, metabolism, and disease. *Cell* 168:960–976, 2017
2. Wullschlegel S, Loewith R, Hall MN. TOR signaling in growth and metabolism. *Cell* 124:471–484, 2006
3. Liu GY, Sabatini DM. mTOR at the nexus of nutrition, growth, ageing and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol* 4:183–203, 2003
4. Fu W, Hall MN. Regulation of mTORC2 signaling. *Genes [Basel]* 11:1045, 2020
5. Sebestyén A, Dankó T, Sztankovics D, et al. The role of metabolic ecosystem in cancer progression – metabolic plasticity and mTOR hyperactivity in tumor tissues. *Cancer Metastasis Rev* 40:989–1033, 2021
6. Yamaguchi H, Kawazu M, Yasuda T, et al. Transforming somatic mutations of mammalian target of rapamycin kinase in human cancer. *Cancer Sci* 106:1687–1692, 2015
7. Grabiner BC, Nardi V, Birsoy K, et al. A diverse array of cancer-associated mTOR mutations are hyperactivating and can predict rapamycin sensitivity. *Cancer Discov* 4:554–563, 2014
8. Wagle N, Grabiner BC, Van Allen EM, et al. Response and acquired resistance to everolimus in anaplastic thyroid cancer. *N Engl J Med* 371:1426–1433, 2014
9. Menon S, Manning BD. Common corruption of the mTOR signaling network in human tumors. *Oncogene* 27(Suppl 2):S43–51, 2008
10. Eng CP, Sehgal SN, Vézina C. Activity of rapamycin (AY-22,989) against transplanted tumors. *J Antibiot* 37:1231–1237, 1984
11. Egervári G, Márk Á, Hajdu M, et al. Mitotic lymphoma cells are characterized by high expression of phosphorylated ribosomal S6 protein. *Histochem Cell Biol* 135:409–417, 2011
12. Sebestyén A, Sticz TB, Márk Á, et al. Activity and complexes of mTOR in diffuse large B-cell lymphomas—a tissue microarray study. *Mod Pathol* 25:1623–1628, 2012
13. Márk Á, Hajdu M, Váradi Z, et al. Characteristic mTOR activity in Hodgkin-lymphomas offers a potential therapeutic target in high risk disease – a combined tissue microarray, in vitro and in vivo study. *BMC Cancer* 13:250, 2013
14. Nemes K, Sebestyén A, Márk Á, et al. Mammalian target of rapamycin (mTOR) activity dependent phospho-protein expression in childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL). *PLoS One* 8:e59335, 2013
15. Rajnai H, Heyning FH, Koens L, et al. The density of CD8+ T-cell infiltration and expression of BCL2 predicts outcome of primary diffuse large B-cell lymphoma of bone. *Virchows Arch* 464:229–239, 2014
16. Marosvári D, Nagy N, Kriston C, et al. Discrepancy between low levels of mTOR activity and high levels of P-S6 in primary central nervous system lymphoma may be explained by PAS domain-containing serine/threonine-protein kinase-mediated phosphorylation. *J Neuropathol Exp Neurol* 77:268–273, 2018
17. Sticz T, Molnár A, Márk Á, et al. mTOR activity and its prognostic significance in human colorectal carcinoma depending on C1 and C2 complex-related protein expression. *J Clin Pathol* 70:410–416, 2017
18. Sági Z, Füle T, Hajdu M, et al. The activated targets of mTOR signaling pathway are characteristic for PDGFRA mutant and wild-type rather than KIT mutant GISTs. *Diagn Mol Pathol* 20:22–33, 2011
19. Petővári G, Dankó T, Tókes AM, et al. In situ metabolic characterisation of breast cancer and its potential impact on therapy. *Cancers [Basel]* 12:2492, 2020
20. Krencz I, Vettényi E, Dankó T, et al. Metabolic adaptation as potential target in papillary renal cell carcinomas based on their in situ metabolic characteristics. *Int J Mol Sci* 23:10587, 2022
21. Petővári G, Dankó T, Krencz I, et al. Inhibition of metabolic shift can decrease therapy resistance in human high-grade glioma cells. *Pathol Oncol Res* 26:23–33, 2020
22. Felkai L, Krencz I, Kiss DJ, et al. Characterization of mTOR activity and metabolic profile in pediatric rhabdomyosarcoma. *Cancers [Basel]* 12:1947, 2020
23. Mohás A, Krencz I, Váradi Z, et al. In situ analysis of mTORC1/C2 and metabolism-related proteins in pediatric osteosarcoma. *Pathol Oncol Res* 28:1610231, 2022
24. Pócza T, Sebestyén A, Turányi E, et al. mTOR pathway as a potential target in a subset of human medulloblastoma. *Pathol Oncol Res* 20:893–900, 2014
25. Hujber Z, Petővári G, Szoboszlai N, et al. Rapamycin (mTORC1 inhibitor) reduces the production of lactate and 2-hydroxyglutarate oncometabolites in IDH1 mutant fibrosarcoma cells. *J Exp Clin Cancer Res* 36:74, 2017
26. Shaw RJ, Cantley LC. Ras, PI(3)K and mTOR signalling controls tumour cell growth. *Nature* 441:424–430, 2006
27. Gkoutakos A, Pilotto S, Mafficini A, et al. Unmasking the impact of Rictor in cancer: novel insights of mTORC2 complex. *Carcinogenesis* 39:971–980, 2018
28. Krencz I, Sebestyén A, Khor A. mTOR in lung neoplasms. *Pathol Oncol Res* 26:35–48, 2020
29. Jiang WJ, Feng RX, Liu JT, et al. RICTOR expression in esophageal squamous cell carcinoma and its clinical significance. *Med Oncol* 34:32, 2017
30. Wazir U, Newbold RF, Jiang WG, et al. Prognostic and therapeutic implications of mTORC1 and Rictor expression in human breast cancer. *Oncol Rep* 29:1969–1974, 2013
31. Driscoll DR, Karim SA, Sano M, et al. mTORC2 signaling drives the development and progression of pancreatic cancer. *Cancer Res* 76:6911–6923, 2016
32. Joechle K, Guenzel J, Hellerbrand C, et al. Role of mammalian target of rapamycin complex 2 in primary and secondary liver cancer. *World J Gastrointest Oncol* 13:1632–1647, 2021
33. Jebali A, Battistella M, Lebbé C, et al. RICTOR affects melanoma tumorigenesis and its resistance to targeted therapy. *Biomedicines* 9:1498, 2021
34. Bang H, Ahn S, Kim EJ, et al. Correlation between RICTOR overexpression and amplification in advanced solid tumors. *Pathol Res Pract* 216:152734, 2020
35. Krencz I, Sebestyén A, Pápay J, et al. Correlation between immunohistochemistry and RICTOR fluorescence in situ hybridization amplification in small cell lung carcinoma. *Hum Pathol* 93:74–80, 2019
36. Tian T, Li X, Zhang J. mTOR signaling in cancer and mTOR inhibitors in solid tumor targeting therapy. *Int J Mol Sci* 20:755, 2019
37. Dobashi Y, Watanabe Y, Miwa C, et al. Mammalian target of rapamycin: a central node of complex signaling cascades. *Int J Clin Exp Pathol* 4:476–495, 2011
38. Chen B, Tan Z, Gao J, et al. Hyperphosphorylation of ribosomal protein S6 predicts unfavorable clinical survival in non-small cell lung cancer. *J Exp Clin Cancer Res* 34:126, 2015
39. Ekman S, Wynes MW, Hirsch FR. The mTOR pathway in lung cancer and implications for therapy and biomarker analysis. *J Thorac Oncol* 7:947–953, 2012
40. Spoerke JM, O'Brien C, Huw L, et al. Phosphoinositide 3-kinase (PI3K) pathway alterations are associated with histologic subtypes and are predictive of sensitivity to PI3K inhibitors in lung cancer preclinical models. *Clin Cancer Res* 18:6771–6783, 2012
41. Krencz I, Sebestyén A, Fábíán K, et al. Expression of mTORC1/2-related proteins in primary and brain metastatic lung adenocarcinoma. *Hum Pathol* 62:66–73, 2017
42. Hendifar AE, Marchevsky AM, Tuli R. Neuroendocrine tumors of the lung: current challenges and advances in the diagnosis and management of well-differentiated disease. *J Thorac Oncol* 12:425–436, 2017
43. Krencz I, Sztankovics D, Dankó T, et al. Progression and metastasis of small cell lung carcinoma: the role of the PI3K/Akt/mTOR pathway and metabolic alterations. *Cancer Metastasis Rev* 40:1141–1157, 2021
44. Schmid K, Bago-Horvath Z, Berger W, et al. Dual inhibition of EGFR and mTOR pathways in small cell lung cancer. *Br J Cancer* 103:622–628, 2010
45. Glasgow CG, Steagall WK, Taveira-Dasilva A, et al. Lymphangioliomyomatosis (LAM): molecular insights lead to targeted therapies. *Respir Med* 104:S45–S58, 2010
46. Henske EP, McCormack FX. Lymphangioliomyomatosis – a wolf in sheep's clothing. *J Clin Invest* 122:3807–3816, 2012
47. Adachi K, Miki Y, Saito R, et al. Intracrine steroid production and mammalian target of rapamycin pathways in pulmonary lymphangioliomyomatosis. *Hum Pathol* 46:1685–1693, 2015
48. Hayashi T, Kumasaka T, Mitani K, et al. Bronchial involvement in advanced stage lymphangioliomyomatosis: histopathologic and molecular analyses. *Hum Pathol* 50:34–42, 2016
49. Krencz I, Sebestyén A, Pápay J, et al. In situ analysis of mTORC1/2 and cellular metabolism-related proteins in human lymphangioliomyomatosis. *Hum Pathol* 79:199–207, 2018
50. Sarbassov DD, Guertin DA, Ali SM, et al. Phosphorylation and regulation of Akt/PKB by the rictor-mTOR complex. *Science* 307:1098–1101, 2005
51. Janku F, Yap TA, Meric-Bernstam F. Targeting the PI3K pathway in cancer: are we making headway? *Nat Rev Clin Oncol* 15:273–291, 2018
52. Owonikoko TK, Khuri FR. Targeting the PI3K/AKT/mTOR pathway: biomarkers of success and tribulation. *Am Soc Clin Oncol Educ Book* 2013
53. Sehgal SN, Baker H, Vézina C. Rapamycin (AY-22,989), a new antifungal antibiotic. II. Fermentation, isolation and characterization. *J Antibiot* 28:727–732, 1975
54. Mao B, Zhang Q, Ma L, et al. Overview of research into mTOR inhibitors. *Molecules* 27:5295, 2022
55. Werfel TA, Wang S, Jackson MA, et al. Selective mTORC2 inhibitor therapeutically blocks breast cancer cell growth and survival. *Cancer Res* 78:1845–1858, 2018
56. Benavides-Serrato A, Lee J, Holmes B, et al. Specific blockade of Rictor-mTOR association inhibits mTORC2 activity and is cytotoxic in glioblastoma. *PLoS One* 12:e0176599, 2017
57. Conciatori F, Ciuffreda L, Bazzichetto C, et al. mTOR cross-talk in cancer and potential for combination therapy. *Cancers [Basel]* 10:23, 2018
58. Ali ES, Mitra K, Akter S, et al. Recent advances and limitations of mTOR inhibitors in the treatment of cancer. *Cancer Cell Int* 22:284, 2022
59. Park S, Shim J, Mortimer PGS, et al. Biomarker-driven phase 2 umbrella trial study for patients with recurrent small cell lung cancer failing platinum-based chemotherapy. *Cancer* 126:4002–4012, 2020