



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE

**DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE**

**Corso di Laurea in Scienze Biologiche**

---

**L'ONCOGENE KRAS E IL MICROAMBIENTE TUMORALE:  
PROSPETTIVE TERAPEUTICHE.  
KRAS ONCOGENE AND TUMOR MICROENVIRONMENT:  
THERAPEUTIC PERSPECTIVES.**

Tesi di Laurea di:

Lorenzo Cornice Durante

Docente Referente  
Chiar.mo Prof.

Assunta Maria Biscotti

**Sessione Autunnale (dicembre 2023)**

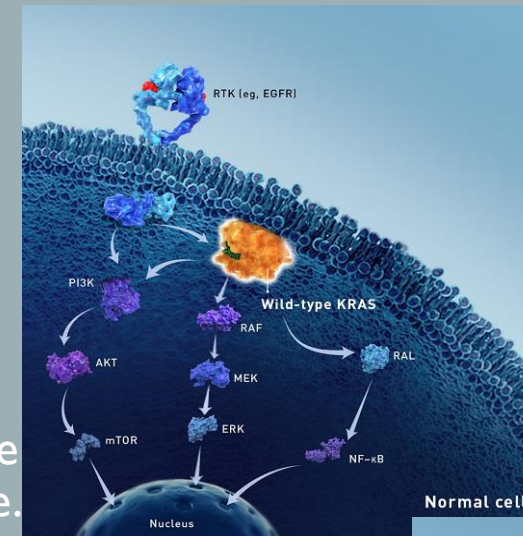
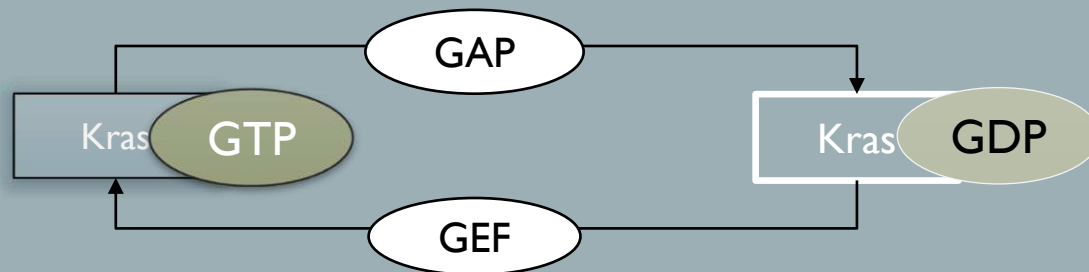
**Anno Accademico 2022/2023**

# L'ONCOGENE KRAS E IL MICROAMBIENTE TUMORALE: PROSPETTIVE TERAPEUTICHE.

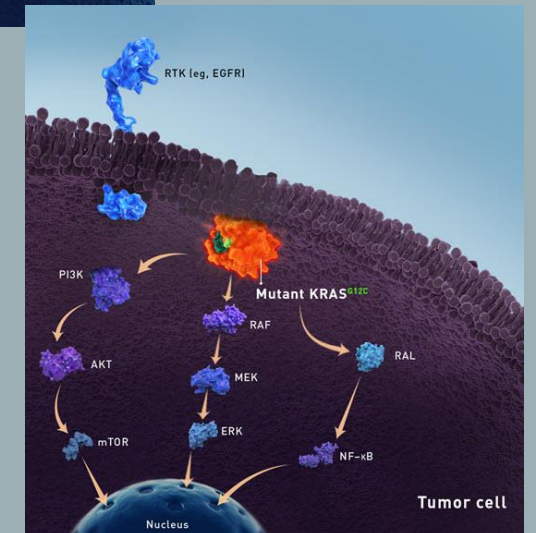
**Proteina KRAS:** «Kirsten rat sarcoma virus», un modulatore di segnali cellulari.

KRAS è codificata da un gene tipicamente presente nei mammiferi e con implicazioni in molti casi di cancro, tra i più noti pancreas, colon e polmoni.

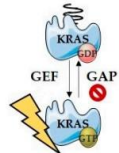
Normalmente, la proteina codificata dal gene omonimo, è fisiologicamente coinvolta in pathway di controllo della crescita e sopravvivenza cellulare. Nella forma attiva la proteina KRAS va a interagire, dopo attivazione da parte di un recettore, con altri modulatori del segnale.



<https://www.amgenoncology.com/targets/kras.html>



### Activating KRAS mutations



KRAS mutations frequency

95%

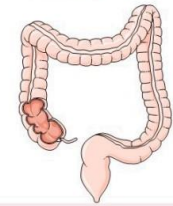
52%

30%

Pancreatic cancer



Colorectal cancer



Lung cancer



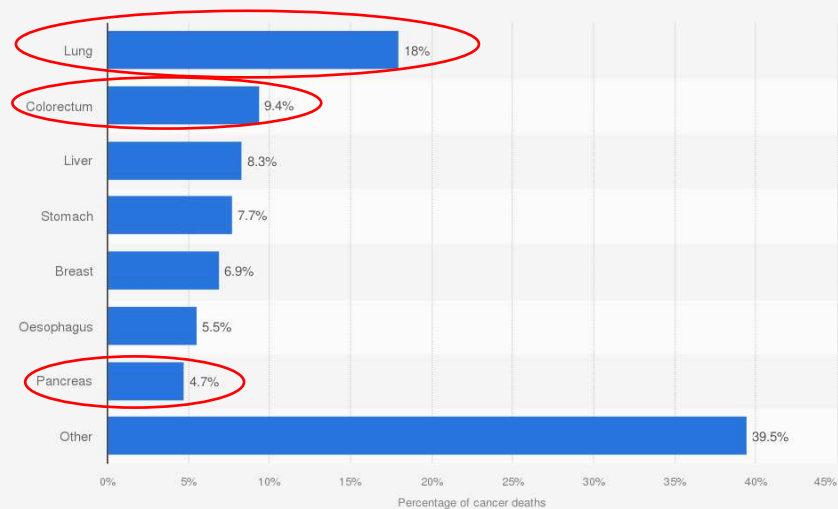
Hotspot KRAS mutations G12D, G12V and G12R

G13D, G12D and G12V

G12C and G12V - Smokers  
G12D - Never-smokers

Kras mutations scheme in pancreatic, colorectal and lung cancer. Pereria F et al. Cells 2022, 11, 398

Percentage of cancer deaths worldwide in 2020, by type of cancer



Sources  
WHO: International Agency for Research on Cancer  
© Statista 2023

Additional Information:  
Worldwide; all ages

<https://www.statista.com/statistics/288796/cancer-mortality-worldwide-by-type-percentage/>

NELLA FORMA MUTATA LE PROTEINE KRAS PERDONO LA SENSIBILITÀ AL MECCANISMO DI INATTIVAZIONE «GAP» MEDIATO, RESTANDO ATTIVE NELLO STATO GTP-ASSOCIATO, DETERMINANDO UNA DEREGOLAZIONE CON ATTIVAZIONE COSTITUTIVA A VALLE DEL PATHWAY. TRA LE CONSEGUENZE:

Metabolismo cellulare alterato

Aumento della proliferazione cellulare

Cambiamenti del TME

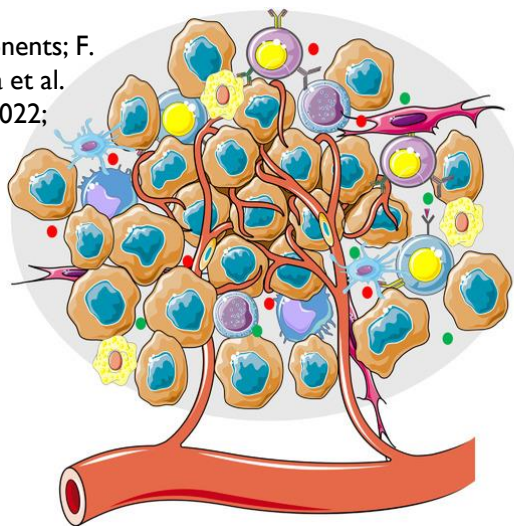
Aumento dell'autofagia cellulare

Soppressione meccanismi di apoptosi

SI VUOLE CONCENTRARE L'ATTENZIONE SULL'AZIONE DI MODULAZIONE CHE L'ONCOGENE KRAS ESERCITA UNA VOLTA MUTATO A LIVELLO GENICO SUL «MICROAMBIENTE TUMORALE» E SULL'AMBIENTE STROMALE CIRCOSTANTE IL TESSUTO METASTATIZZATO COME MECCANISMI CON CUI IL TUMORE STESSO PUÒ AMPLIFICARE LA SUA PROGRESSIONE, AL FINE DI POTER PROMUOVERE L'IDENTIFICAZIONE DI APPROCCI TERAPEUTICI DI MAGGIORE EFFICACIA.

# KRAS SEMBRA MODULARE IL TME IN MODI DIFFERENTI.

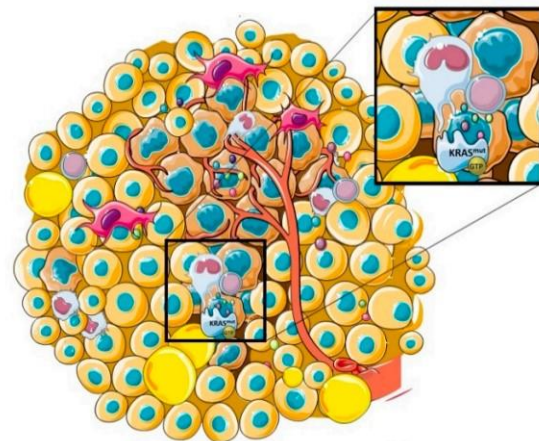
Microtumoral environment and its components; F. Pereira et al. Cells 2022;



- T cells
- B cells
- NKs
- Tumor cells
- TAMs
- DCs
- MDSCs
- ECs
- CAFs
- ECM
- Cytokines Chemokines

- Matrice extracellulare;
- Cellule tumorali e cellule non-tumorali;
- Vasi;
- Cellule specializzate;
- Molecole effettrici;

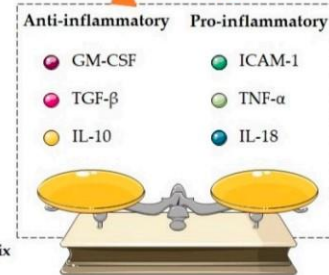
Cosa si intende per microambiente tumorale?



- Cancer Cells
- Normal Cells
- Macrophages
- Lymphocytes
- Extracellular Matrix
- Fibroblasts
- Growth Factors, Cytokines and Chemokines
- Vessels
- Adipocytes

Kras role as a pro/anti-inflammatory modulator for TME; F. Pereira et al; Cells 2022; KRAS mutations

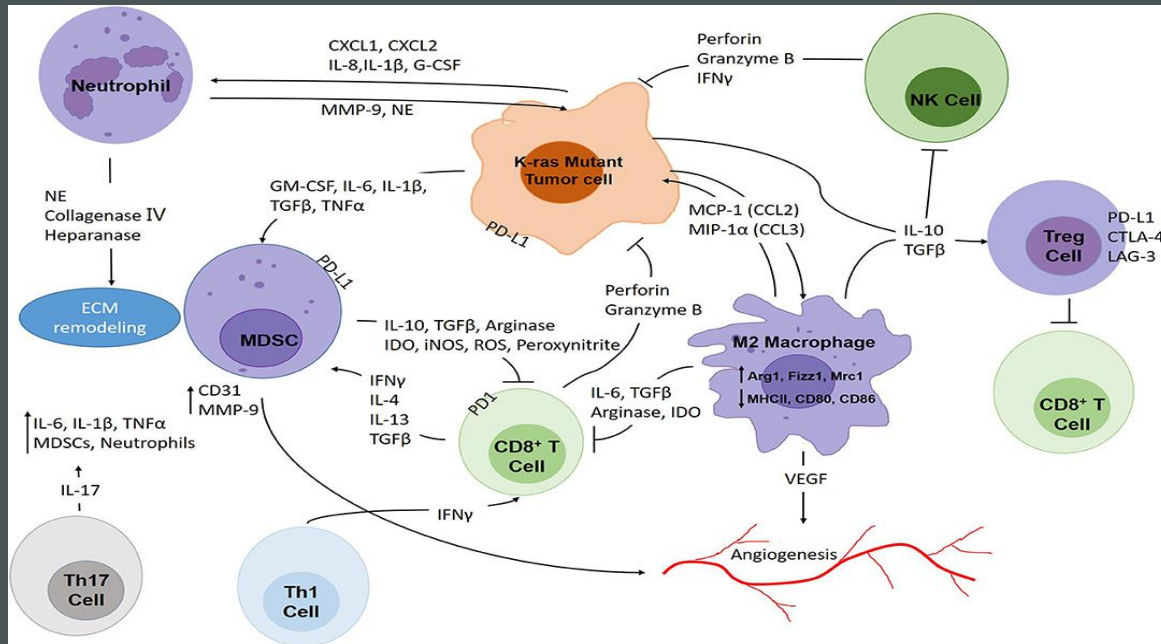
Modulation of inflammation



Queste componenti creano un complesso "centro di smistamento e comunicazione" di segnali che vanno a essere ricevuti e rilasciati da più componenti cellulari, delineando un sistema dinamico e flessibile.

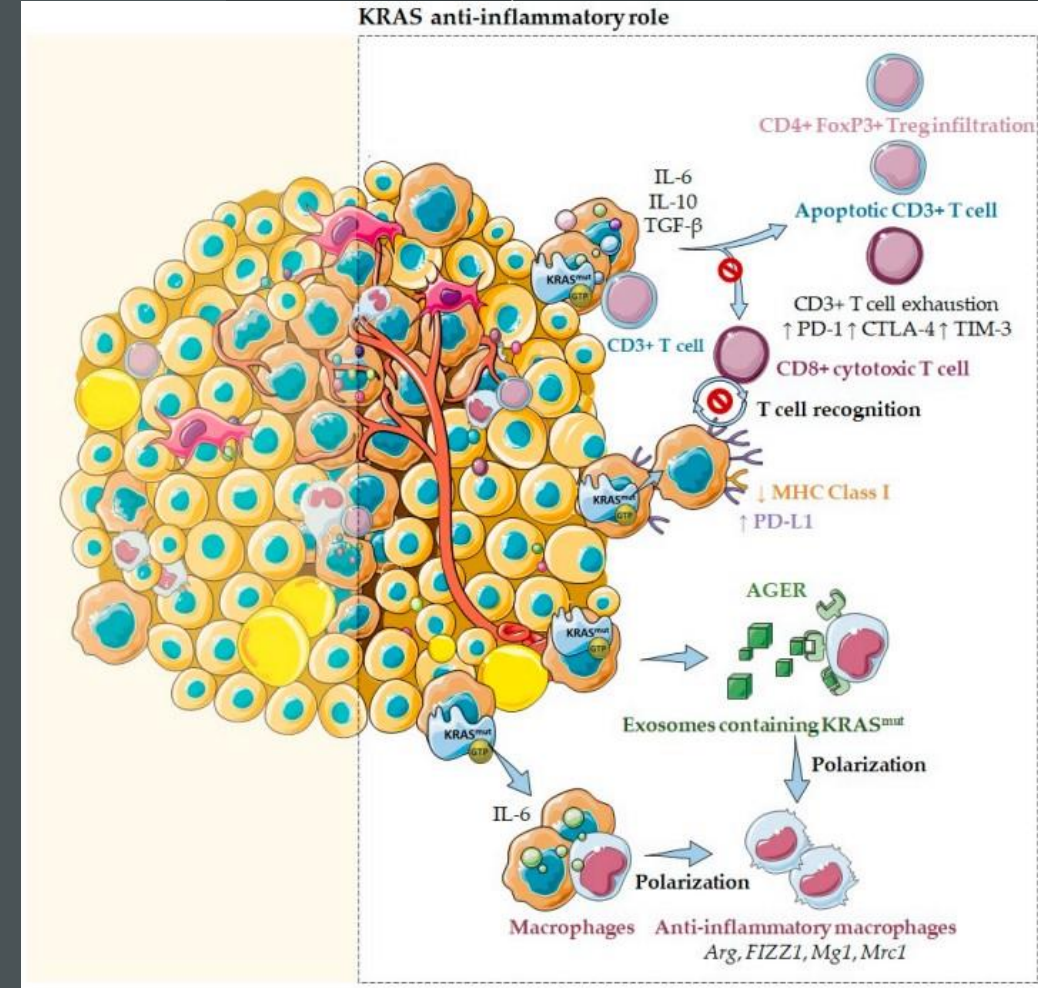
# KRAS COME MODULATORE ANTINFIAMMATORIO

Nel caso di modulazione anti-infiammatoria del gene KRAS mutato, sono note sia per il cancro pancreatico, sia per quello polmonare e al colon, una serie di modificazioni che hanno lo scopo di favorire un microambiente immuno-resistente, tipicamente privo di attività infiammatorie. Un ruolo centrale è ricoperto da mediatori antinfiammatori come IL-10, IL-6 e TGF- $\beta$  insieme ad altre molecole effettrici.



Antinflammatory modulation driven by Kras ; F. Pereira et al, Cells 2022

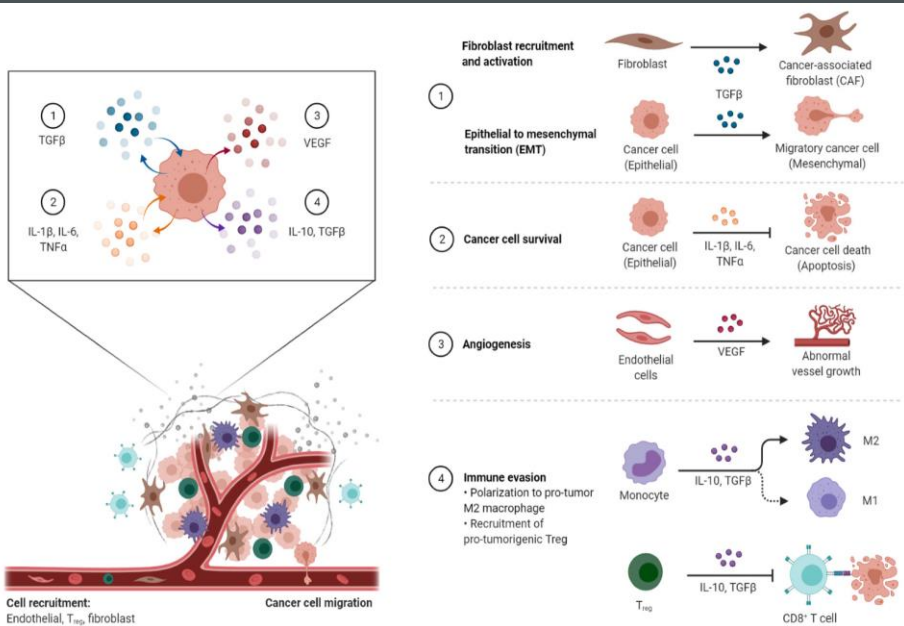
KRAS anti-inflammatory role



Implications of kras in antinflammatory pathways; M J Clowers et al; Front Oncol, 20 February 2020

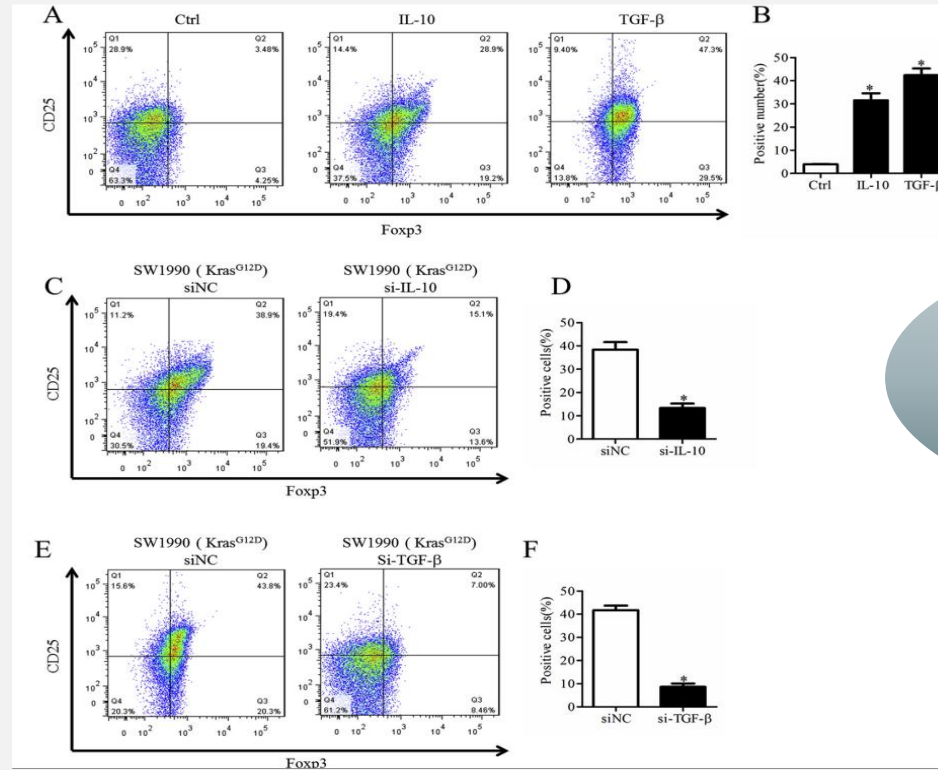
Tra i vari fattori e meccanismi ritrovati nel network di TME particolarmente rilevanti sono:

- Citochine (chemochine);
- Fattori di crescita;
- Ligandi e recettori specifici (es: PD-1 e PD-L1);
- Attività di Linfociti T, Macrofagi (TAM);



A Signaling View into the Inflammatory Tumor Microenvironment; J. F. S. Pereira et al; Immuno; June 2021;

## Differenziamento di cellule T regolatorie; (Tregs)



Esempi di modulazione antinfiammatoria:

## Azione delle citochine TGF-B e IL-10;

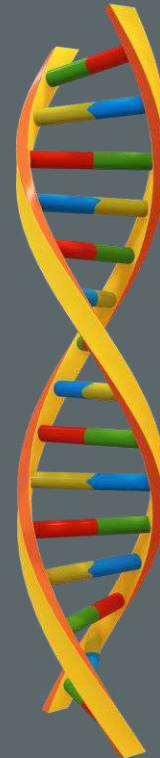
IL-10 and TGF-B studies on G12D; Cheng He; et al.; Cancer Letters 446; 2019

# APPLICAZIONI TERAPEUTICHE: IMMUNOTERAPIA

Modificazioni post traduzionali;

Fattori sintetici di interazione letale;

Inibitori di membrana di KRAS;

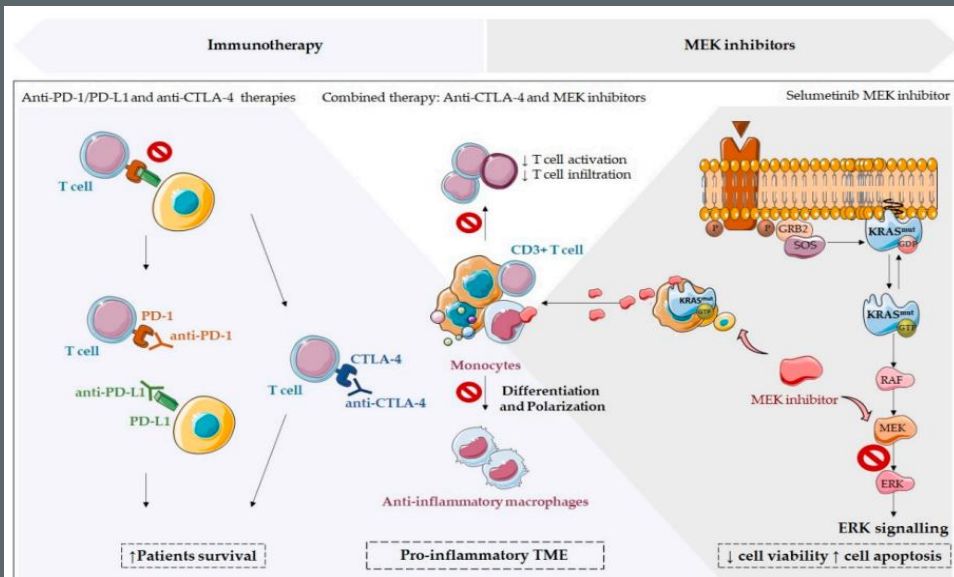


Fattori di blocco a valle, come inibitori di RAF e MEK;

Inibitori di processi metabolici, come autofagia e micropinocitosi cellulare;

Inibitori di fattori di infiammazione, come inibitori di interleuchine;

Immunoterapia;



Una delle ultime armi per fronteggiare il cancro: l'immunoterapia.

- utilizzo di cellule immunitarie self, addestrate per riconoscere il cancro;
- ingegnerizzare linfociti T e produzione di CAR-T;

A magnifying glass is positioned over a bar chart. The chart has four groups of bars labeled Q1, Q2, Q3, and Q4. Each group contains two bars, one blue and one green. The blue bars are consistently taller than the green bars. A black text box with a white border is overlaid on the chart, containing the word 'CONCLUSIONI:' in white capital letters. The background is a light blue gradient.

## CONCLUSIONI:

Le mutazioni del proto-oncogene KRAS oggi coinvolgono una grossa percentuale di tutte le tipologie di tumori, ma soprattutto un rilevante numero di tumori associati a colon, pancreas e polmoni. In tutti questi casi, rilevante è la capacità da parte del prodotto della mutazione di contribuire a modulare lo stato infiammatorio, influenzando la risposta immunitaria, sia pro-, che antinfiammatoria; chiaramente avendo quindi ripercussioni anche sull'efficacia dei trattamenti attuali per curare tali patologie. Qui si è voluto fare il punto della situazione riguardo gli studi inerenti la comprensione del ruolo di kras nel contesto del TME, al fine di promuovere la messa a punto e identificazione di possibili approcci terapeutici di successo.



- KRAS as a Modulator of the Inflammatory Tumor Microenvironment: Therapeutic Implications. F. Pereira et al, 2022, cells; (images and information)
- Metabolism in tumor microenvironment: Implications for cancer immunotherapy. R. Shi et al; RAS signaling pathways, mutations and their role in colorectal cancer. K. Zenonos et al;
- Understanding the Complexity of the Tumor Microenvironment in K-ras Mutant Lung Cancer: Finding an Alternative Path to Prevention and Treatment; M J Clowers et al; Front. Oncol., 22 January 2020
- KrasG12D mutation contributes to regulatory T cell conversion through activation of the MEK/ERK pathway in pancreatic cancer; Cheng He et al; Cancer Letters 446; 2019
- A Signaling View into the Inflammatory Tumor Microenvironment; J. F. S. Pereira et al; Immuno; June 2021;

<https://www.amgenoncology.com/targets/kras.html>

<https://www.statista.com/statistics/288796/cancer-mortality-worldwide-by-type-percentage/>

<https://www.osservatorioterapieavanzate.it/terapie-avanzate/immunoterapia>

## BIBLIOGRAFIA:

## RIASSUNTO:

- Mutazioni del proto-oncogene *kras* e del suo prodotto proteico sono oggi considerate responsabili in molti casi dell'insorgenza di cancro a pancreas, colon e polmoni, rimarcando la sua influenza sull'intero panorama dei tumori. Tra le mutazioni più note G12D, G12V, G12R per pancreas, G13D, G12D, G12V per il colon, G12C, G12V e G12D per cancro ai polmoni. Studi e ricerche sono state condotte al fine di comprendere meglio la relazione tra le mutazioni del gene *kras* e il microambiente che si viene a sviluppare nei territori dell'organo interessato dal tumore. In particolare, dati attuali suggeriscono che importanti sono tutte le cellule interessate dalla mutazione tumorale e le cellule limitrofe che risentono di quella che è una comunicazione intercellulare basata su mediatori e molecole effettrici come citochine, fattori di trascrizione, ma anche chinasi intracellulari. Queste, attivate da specifiche interazioni ligando-recettore, influenzano la regolazione dell'espressione genica, considerata alla base di fenomeni di proliferazione, differenziamento e progressione tumorale, contribuendo a delineare un «microambiente tumorale» che caratterizza questi tumori. Oggetto di studio è soprattutto la capacità di modulazione del tumore considerata sia pro-infiammatoria che antinfiammatoria. Si sottolinea che frequente è la tendenza all'azione antinfiammatoria con ricadute importanti a livello del sistema immunitario, a causa della produzione di effettori e attivazione di meccanismi di silenziamento di linfociti, macrofagi infiammatori, e altre componenti con cui il tumore promuove la sua crescita. La comprensione di come questi meccanismi favoriscano l'instaurarsi di un microambiente a modulazione antinfiammatoria è di fondamentale importanza per consentire la messa a punto di terapie efficienti per curare queste patologie. Un approccio rivoluzionario sembra essere quello legato alla immunoterapia e all'uso di terapie combinate, basate sull'addestramento di cellule immunitarie al riconoscimento del tumore, affinché linfociti e anticorpi possano agire eliminando cellule mutate. Tuttavia, non sempre, e specialmente non per tutti i casi di cancro a questi organi, tali approcci terapeutici sembrano fornire risultati soddisfacenti, per questo è necessaria una migliore comprensione di come avvengano questi eventi di intercomunicazione.