

# The regulation of protein synthesis by mTOR signaling : a potential target for cancer treatment?

## Citation for published version (APA):

Wepler, S. A. (2009). *The regulation of protein synthesis by mTOR signaling : a potential target for cancer treatment?*. Datawyse / Universitaire Pers Maastricht.

## Document status and date:

Published: 01/01/2009

## Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

## Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

## General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

[www.umlib.nl/taverne-license](http://www.umlib.nl/taverne-license)

## Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

[repository@maastrichtuniversity.nl](mailto:repository@maastrichtuniversity.nl)

providing details and we will investigate your claim.

## SUMMARY

The mTOR kinase, as a central integration point for sensors of growth factors, nutrients and energy sources, plays a key role in tumor biology. In the cell, mTOR is a part of two different multi-protein complexes, mTORC1 and mTORC2. The main function of mTORC1 is to regulate the production of new proteins within the cell. In this dissertation I have investigated several key aspects of mTOR signaling in cancer with a focus on its role in the tumor microenvironment.

During the process of tumor development, the normally tight regulation of mTOR and protein synthesis is often lost, leading to increased proliferation and survival, and alteration of the microenvironment (this thesis). This is illustrated in chapter 4 where we show that EGFRvIII, a constitutively active kinase receptor that signals through the PI3K/Akt/mTOR pathway, stimulates tumor growth and promotes survival after irradiation or under low-oxygen conditions (hypoxia). Hypoxia is a common feature of solid tumors and an important determinant of poor treatment outcome, thus strategies that can reduce or eliminate hypoxic tumor cells are highly desirable (reviewed in chapter 2). The ability of cells to repress mTOR activity and protein synthesis is an important part of the cellular response to hypoxia. In chapter 3 we show that hypoxia inhibits protein synthesis in two separate phases by using two distinct mechanisms, one of which requires 4E-BP1, an mTOR substrate.

The ability of 4E-BP1 to inhibit protein synthesis is determined by its level of phosphorylation. This prompted us to conduct an indepth study of 4E-BP1 regulation in chapter 6. We provide evidence to suggest that in addition to mTORC1, there is a PI3K/Akt-dependent but mTORC1-independent signal to 4E-BP1 that must be blocked in order to effectively inhibit protein synthesis via this mechanism. Thus, targeting protein synthesis in cancer might be improved by strategies that block 4E-BP1 more effectively.

Due to the attractiveness of mTOR as a therapeutic target in cancer, a number of mTOR inhibitors are currently being tested, many of which are analogs based upon the structure of the original mTOR inhibitor, rapamycin. Previous studies have shown that rapamycin can inhibit tumor regrowth when used in combination with radiation. However, in chapter 5, we saw no additional effect of rapamycin to limit local tumor control by radiation, although we did observe heterogeneity in the response of individual tumors that may have been influenced by increased areas of hypoxia and intravascular thrombosis after rapamycin treatment.

Our knowledge of the mTOR signaling pathway continues to evolve as we learn more about the intricacies of its regulatory proteins and feedback pathways. Human genetics can be a valuable tool in helping us to dissect the interactions between signaling proteins within a pathway. In chapter 8, we describe a patient with Birt-Hogg-Dubé syndrome (a familial cancer disease) in which the mutant folliculin protein is suspected to promote tumor formation by upregulation of mTOR activity through an unknown mechanism. We show that tumors associated with this syndrome do not express common markers of increased mTORC1 activity, but rather that activation of mTORC2 may be more relevant to this disease.

In conclusion, mTOR and protein synthesis are attractive targets for cancer therapy. However, the future success of these strategies will depend upon both basic and translational research to understand how best to inhibit these processes for maximum gain of anti-tumor effect without undesirable activation of feedback loops or normal tissue side-effects.

## SAMENVATTING

mTOR fungeert als centraal integratiepunt voor sensoren van groeifactoren, voedingsstoffen en energiebronnen. Op die manier heeft mTOR een erg belangrijke rol in tumorbiologie. In de cel kan mTOR deel uitmaken van twee verschillende multi-eiwit complexen, mTORC1 en mTORC2. De hoofdfunctie van mTORC1 is het reguleren van de productie van nieuwe eiwitten binnen de cel. In dit proefschrift heb ik een aantal sleutelaspecten van mTOR-signalering in kanker onderzocht. De focus lag daarbij op de rol die mTOR speelt in de tumor micro-omgeving.

Gedurende het ontwikkelingsproces van een tumor gaat de strikte regulering van mTOR en eiwitsynthese vaak verloren. Dit leidt tot toegenomen proliferatie en overleving van tumorcellen, en tot een verandering van de tumor micro-omgeving (dit proefschrift). Dit wordt beschreven in hoofdstuk 4 waar we laten zien dat EGFRvIII, een constitutief geactiveerde kinase receptor die signaleert via de PI3K/Akt/mTOR-route, tumorgroei stimuleert. Expressie van EGFRvIII verbetert ook het overleven van tumoren na bestraling of bij blootstelling aan verlaagde zuurstofconcentraties (hypoxie). Hypoxie komt veelvuldig voor in vaste tumoren en is een belangrijke determinerende factor voor een slechte behandelingsuitkomst. Het is dan ook zeer wenselijk dat strategieën ontwikkeld worden die het aantal hypoxische cellen in tumoren kunnen verminderen of elimineren (zoals beschreven in hoofdstuk 2). Het vermogen van cellen om mTOR-activiteit en eiwitsynthese te onderdrukken vormt een belangrijk onderdeel van de cellulaire respons tegenover hypoxie. In hoofdstuk 3 tonen we aan dat hypoxie de eiwitsynthese remt in twee verschillende fases, door gebruik te maken van twee verschillende mechanismen. Eén van deze mechanismen vereist het mTOR-substraat 4E-BP1.

De mogelijkheid van 4E-BP1 om eiwitsynthese te remmen hangt af van de mate waarin het is gefosforyleerd. Dit zette ons aan om de regulatie van 4E-BP1 in detail te onderzoeken (hoofdstuk 6). Onze data suggereren dat naast het mTORC1 signaal wellicht een PI3K/Akt-afhankelijk maar mTORC1-onafhankelijk signaal naar 4E-BP1 gaat, dat geblokkeerd moet worden om via dit mechanisme de eiwitsynthese te kunnen remmen. Zodoende zou het aangrijpen op de eiwitsynthese bij kanker mogelijk verbeterd kunnen worden met behulp van strategieën die 4E-BP1 effectiever blokkeren.

Omwille van het feit dat mTOR aantrekkelijk is als een therapeutisch doelwit bij kanker, worden momenteel een aantal mTOR-inhibitoren getest. Vele van deze remmers zijn analogen die gebaseerd zijn op de structuur van de originele mTOR-remmer, rapamycine. Eerdere studies hebben laten zien dat ra-

pamycine, in combinatie met bestraling, de hergroei van tumoren kan remmen. Echter, in hoofdstuk 5 hebben we geen additioneel effect van rapamycine op lokale tumorcontrole door bestraling gevonden. Wat we wel duidelijk observeerden, was een heterogeniteit in respons van individuele tumoren. Dit kan mogelijk verklaard worden door een toename van hypoxie en intravasculaire thrombose na behandeling met rapamycine.

Onze kennis van de mTOR-signaleringsroute blijft zich verder ontwikkelen doordat we steeds meer te weten komen over de gecompliceerdheid van de verschillende mTOR-regulatorische eiwitten en de feedback mechanismen. Humane genetische informatie kan een waardevol instrument zijn om de interacties tussen verschillende signaleringseiwitten binnen een transductieweg in een cel te ontleden. In hoofdstuk 8 beschrijven we een patiënt met het Birt-Hogg-Dubé syndroom (een familiale kankeraandoening) waarbij vermoed wordt dat het gemuteerd folliculin-eiwit tumorvorming promoot door verhoging van de mTOR-activiteit via een nog onbekend mechanisme. Wij tonen aan dat tumoren die met dit syndroom geassocieerd zijn, geen merkers van verhoogde mTORC1-activiteit tot expressie brengen, maar dat eerder activering van mTORC2 relevanter is voor deze ziekte.

Tot besluit kunnen we stellen dat mTOR en eiwitsynthese aantrekkelijke doelen zijn voor kankertherapie. Het toekomstige succes van deze strategieën zal afhankelijk zijn van zowel basaal en translationeel onderzoek, dat ons in staat moet stellen om te begrijpen hoe we deze processen het best inhiberen, zodat we een maximaal anti-tumor effect kunnen verkrijgen zonder ongewenste activering van feedbackmechanismen of neveneffecten op gezond weefsel.