

Rapporti ISTISAN 16/17

Il Reparto è anche coinvolto in attività mirate a migliorare le condizioni di benessere psicofisico in animali da esperimento (roditori, primati, pesci) e in specie d'affezione e da reddito. Viene, inoltre, svolta attività di formulazione di pareri formali e informali a livello intramurale, ministeriale, nazionale, sovranazionale (WHO, OECD, ecc.), anche in relazione al benessere degli animali impiegati nella sperimentazione e in attività potenzialmente terapeutiche o ludico/ricreative.

Svolge attività di formazione nel settore della fisiopatologia del comportamento, delle neuroscienze comportamentali e nella comunicazione diretta agli operatori sanitari in ambito di bioetica e rapporto medico-paziente, promozione della salute mentale e delle *life skills*, contenzione psichiatrica, cure palliative pediatriche e Interventi Assistiti con gli Animali (IAA).

#### *Attività di ricerca*

- Studio delle conseguenze di lungo termine dell'esposizione a stress fisico (per esempio obesità) o psicofisico, durante le prime fasi dello sviluppo dell'organismo sull'invecchiamento cerebrale e sullo sviluppo di malattie psichiatriche, neuro-degenerative e metaboliche in modelli animali e coorti cliniche. Individuazione di indici neurobiologici (NGF, BDNF) e fattori epigenetici predittivi di vulnerabilità alla psicopatologia.
- Effetti di esposizione ad ambienti estremi (es. confinamento e isolamento socio-sensoriale protratto; regioni polari e ambiente spaziale) sul sistema nervoso e sul comportamento.
- Interazioni tra funzionalità cerebrale, storia individuale e stile di vita quali determinanti della vulnerabilità per patologie psichiatriche, metaboliche e/o della progressione tumorale, in modelli animali e in campioni da coorti cliniche.
- Studio di fattori di rischio o di protezione in età adolescenziale per comportamenti impulsivi, gioco d'azzardo patologico, e vulnerabilità all'offerta di sostanze d'abuso.
- Valutazione del ruolo di fattori ambientali avversi quali contaminanti, farmaci, diete e stati infettivi/infiammatori in gravidanza, e dell'interazione tra di essi e con geni candidati mediante utilizzo di modelli ittologici e murini anche transgenici.
- Studio dei fattori genetici/epigenetici alla base di sindromi del neurosviluppo incluse ADHD, Tourette, disturbo della condotta, sindrome di Rett e sindromi dello spettro autistico e schizofrenia: modellizzazione dei sintomi e sviluppo di terapie.
- Studi multicentrici per l'applicazione della riabilitazione equestre nella schizofrenia in fase di esordio e nelle sindromi dello spettro autistico.
- Studio di fattori alla base del benessere animale. Analisi dei fattori culturali che influenzano l'utilizzo degli animali in diversi Paesi europei per una maggiore armonizzazione della ricerca sulla salute in Europa.

#### *Attività istituzionale e di controllo*

- Espressione di pareri in merito alle richieste di autorizzazione in deroga, secondo il DL.vo 11/1992. Valutazione tecnico-scientifica finalizzata al rilascio dell'autorizzazione alla sperimentazione animale di proposte di progetti di ricerca, ai sensi dell'art. 31, comma 4 del DL.vo 26/2014 per conto del Ministero della Salute.
- Espressione di pareri in risposta a interrogazioni parlamentari.
- Sviluppo di Linee guida per la diffusione di informazioni sui corretti stili di vita, la contenzione psichiatrica, le cure palliative pediatriche e sugli IAA.
- Progettazione, sviluppo e aggiornamento del sito istituzionale NeCo (<http://www.iss.it/neco/>), dedicato alla divulgazione tramite l'utilizzo di strumenti informatici-multimediali delle attività scientifiche, istituzionali e formative.

#### *Formazione*

- Organizzazione di corsi specificamente indirizzati alla formazione degli operatori dell'SSN in linea con le priorità del Piano Sanitario Nazionale, anche in relazione a una

*Rapporti ISTISAN 16/17*

corretta modalità di trasmissione delle informazioni medico-paziente e promozione della salute attraverso l'implementazione delle *Life Skills*.

- Attività di formazione a livello universitario, anche in collaborazione con scuole di dottorato nazionali e internazionali, inclusi stage di ricerca di studenti Erasmus presso il Reparto.
- Collaborazioni attive con scuole del territorio nazionale finalizzate alla diffusione della cultura scientifica e all'indirizzo professionale.
- Formazione degli operatori dell'SSN impegnati nelle cure palliative in hospice, in ospedale e a domicilio

*Convenzioni*

- IZS delle Venezie (Centro di Referenza Nazionale per le Attività Assistite dagli Animali).
- IRCCS San Raffaele Pisana, Centro di Riabilitazione "Villa Buon Respiro" di Viterbo e Università Telematica San Raffaele.
- Azienda per i Servizi Sanitari n. 6 "Friuli Occidentale", "Validazione di attività innovative in ambito agricolo finalizzate all'inserimento sociale, riabilitativo o lavorativo di persone diversamente abili".
- Accordo di collaborazione "La presa in carico dei bambini con diagnosi di Spettro Autistico, costruzione di una rete: sanità, scuola e famiglia". Enti collaboranti: ASL di Latina, Università "Sapienza" Polo Pontino e Associazione "Frammenti".

*Altre attività*

- Realizzazione di un rapporto tecnico-divulgativo sulle cure palliative pediatriche in collaborazione con Ministero della Salute.
  - Realizzazione di un rapporto sullo stress da lavoro correlato in collaborazione con Università di Alghero e Sassari.
- Realizzazione di un rapporto sulla valutazione della comunicazione in ambito SLA in collaborazione con CNESPS, Reparto Malattie RARE, ASL, Strutture Ospedaliere Nazionali e Associazioni di categoria.

**Reparto Neurotossicologia e neuroendocrinologia**

L'attività dell'anno 2015 ha riguardato:

*Missione*

- Validazione e studio di modelli sperimentali di disturbi del neurosviluppo umano: ruolo dei fattori ambientali, vulnerabilità genetica, e loro interazione nella eziologia di tali condizioni.
- Studi epidemiologici e clinici sui disturbi neuro comportamentali in età evolutiva.
- Sviluppo e applicazione di metodi di analisi statistica complessi per variabili di tipo comportamentale, sia in modelli animali sia nella sperimentazione clinica.

*Attività di ricerca*

- Neurotossicologia: effetti avversi sullo sviluppo neurocomportamentale e sulla vulnerabilità ad alterazioni neuroendocrine dell'esposizione fetale e perinatale a pesticidi organo fosforici e agenti antiepilettici.
- Studi epidemiologici: studio di coorti europee madre/bambino ed effetti di fattori ambientali (contaminanti, fattori nutrizionali, stress materno) sulla maturazione neuropsicologica; caratterizzazione dell'esposoma.
- Modelli murini di disturbi del neuro sviluppo umano: studio di ceppi murini transgenici portatori di mutazioni in geni candidati per i disturbi dello spettro autistico e della sindrome di Rett; analisi di condizioni perinatali associate ad aumentato rischio di

Rapporti ISTISAN 16/17

disturbi del neurosviluppo (es. attivazione immunitaria materna); identificazione di marcatori precoci e loro validazione da utilizzare per la valutazione a livello preclinico dell'efficacia di trattamenti protettivi e riabilitativi.

- Epidemiologia e clinica: studi di carattere epidemiologico e clinico su disturbi neurocomportamentali in età evolutiva (disturbi dello spettro autistico, ADHD, sindrome di Tourette e disturbi ticcosi); indagine sui servizi per l'autismo in Italia in collaborazione con il Ministero della Salute.

#### *Attività istituzionali e di controllo*

- Autorizzazioni in deroga per l'uso di modelli animali per la sperimentazione su richiesta del Ministero della Salute.
- Pareri su mozioni e interrogazioni parlamentari sui temi dell'autismo su richiesta del Ministero della Salute.
- Gestione del sito istituzionale sui disturbi dello spettro autistico.
- Partecipazione al Tavolo Tecnico del MIUR – Progetto Sportello Autismo.

#### *Formazione*

- Corso di formazione per il riconoscimento precoce dei disturbi dello spettro autistico indirizzato ai pediatri.
- Corso di formazione per il riconoscimento precoce dei disturbi dello spettro autistico indirizzato ai funzionari e operatori degli asili nido.
- Diffusione della conoscenza scientifica in corsi e convegni.

#### *Convenzioni*

- Università di Milano, IRCCS Stella Maris Pisa, IRCCS Burlo Garofolo Trieste, ASL Latina.

#### *Altre attività*

- *Scientific Advice* su pratiche EMA per l'AIFA.
- *Scientific Expertise* per l'EFSA.
- *Scientific Advice* per l'OECD.

## **Reparto Terapia genica e cellulare**

L'attività dell'anno 2015 ha riguardato:

#### *Missione*

- Miglioramento dell'efficacia delle terapie basate sui prodotti medicinali per terapie avanzate (ATMP) mediante studi sperimentali e supporto ai gruppi accademici e non profit che li sviluppano.

#### *Attività di ricerca*

- Identificazione del ruolo dei glucocorticoidi in mielodisplasie. Si è utilizzata una tecnica di coltura cellulare che permette di analizzare il ruolo degli ormoni steroidei nel controllo della proliferazione e differenziazione. I risultati delle analisi genomiche e proteomiche ha permesso di individuare alterazioni nella regolazione in pazienti con BDA e Policitemia vera.
- Regolazione della proliferazione cellulare in cellule umane primarie identificando varianti geniche associate ad alto rischio di sviluppo di leucemie e mielodisplasie. Utilizzando forme sintetiche del GH, è stato possibile identificare oltre ai recettori nucleari anche un nuovo *pathway* basato sulla coniugazione con recettori di membrana presente negli eritroblasti umani da soggetti normali.

## Rapporti ISTISAN 16/17

- Studio del ciclo cellulare e senescenza, caratterizzazione immunofenotipica e capacità di differenziamento. La senescenza in coltura delle cellule mesenchimali viene considerata come un rischio in quanto di difficile separazione da trasformazioni pre-cancerose. Cellule Staminali Mesenchimali umane ottenute da tessuto adiposo e midollare di donatori normali, rispondono alla presenza di Siero Fetale Bovino (FBS) piuttosto che di Lisato Piastrinico umano (PL), in modo radicalmente diverso, sia sotto l'aspetto proliferativo che morfologico che fenotipico (cambiamento dei markers di superficie). L'effetto sulla comparsa di cellule senescenti indica che queste derivano da condizioni sub-ottimali di coltura *in vitro* piuttosto che da fenomeni di trasformazione cancerosa.
- Studio dei meccanismi di controllo della cellula staminale utilizzando cellule primarie della serie eritroide come modello sperimentale.
- Analisi dei meccanismi di trasformazione tumorale *in vitro* utilizzando come modello cellule mesenchimali umane primarie.
- Studio degli effetti della proteina Nef di HIV-1 sulla regolazione delle attività funzionali in macrofagi umani.
- Stesura di progetti di ricerca per il programma H2020.
- Attività di laboratorio inerenti l'uso del cell sorter (FACSARIA BD) e di due citofluorimetri, uno obsoleto ma funzionante (FacScan BD) e uno di ultima generazione (Gallios BC). Quest'ultimo strumento (Gallios) rientra in un progetto di condivisione di piattaforme tecnologiche avanzate e innovative per la realizzazione di una struttura comune interdipartimentale con la creazione di un servizio centralizzato di citometria ad alta specializzazione (*Cytometric Core Facility*).

## Attività istituzionali e di controllo

- Pareri per l'autorizzazione nazionale alle sperimentazioni cliniche di prodotti medicinali per terapie avanzate.
- Pareri per l'autorizzazione europea al commercio di prodotti medicinali per terapie avanzate.
- Pareri per il CAT (EMA, Londra) su aspetti di Terapia Genica (es. linee guida).
- Procedure europee di VHP (*Voluntary Harmonisation Procedures*) sulle terapie cellulari.
- Consulenza sugli aspetti regolatori dello sviluppo di prodotti medicinali per terapie avanzate.
- Attività di consulenza per ricercatori degli IRCSS nei modi di sviluppo dei PMTA sia come parte delle attività della commissione per l'autorizzazione alle sperimentazioni cliniche di Fase I sia direttamente agli sperimentatori che ne fanno richiesta.
- Ispezioni per l'autorizzazione di impianti di produzione in GMP.
- Ispezioni GLP/BPL a laboratori di ricerca preclinica.
- Partecipazione alle infrastrutture di ricerca europee (ECRIN, EATRIS e BBMRI).
- Coordinamento della rete italiana IATRIS.
- Relazioni internazionali con l'infrastruttura europea EATRIS.
- Partecipazioni a commissioni AIFA per l'autorizzazione al commercio di farmaci.
- Gruppo di lavoro sui prodotti cellulari della Farmacopea Europea (EDQM).
- Gruppo di lavoro sulla terapia genica della Farmacopea Europea (EDQM).
- DL.vo 4 marzo 2014, n. 26 "Attuazione della Direttiva 2010/63/UE sulla protezione degli animali utilizzati a fini scientifici" - Richiesta di valutazione tecnico-scientifica ai sensi dell'art. 31 comma 3 e art. 33 comma 2.

## Convenzioni

- Convenzione con l'AIFA per le attività svolte per la valutazione dei dossier su qualità e sicurezza sulle sperimentazioni di Fase II-III.

Rapporti ISTISAN 16/17

*Altre attività*

- Esperimento pilota di condivisione interdipartimentale di citofluorimetri e cell sorter. Coordinamento delle attività di laboratorio collegate all'uso di un cell sorter (FACSAria, *BectonDickinson*, BD) e di due citofluorimetri, un FACScan BD e uno di ultima generazione (*Gallios*, *BeckmanCoulter*) di nuova acquisizione, ospitati nel Reparto Terapia Genica e Cellulare. Quest'ultimo strumento (*Gallios*) rientra in un progetto di condivisione di piattaforme tecnologiche avanzate e innovative per la realizzazione di una struttura comune interdipartimentale con la creazione di un servizio centralizzato di citometria ad alta specializzazione (*Cytometric Core Facility*). Gli altri due strumenti rientrano anch'essi in una politica di Reparto di gestione delle risorse tecnologiche indirizzata verso una diffusa condivisione delle risorse disponibili. L'esperienza pilota della *Cytometric Core Facility* ha di fatto permesso una condivisione delle strumentazioni, ma soprattutto messo a disposizione personale tecnico altamente qualificato e dedicato ad assicurare un assiduo controllo delle apparecchiature nonché assistenza al personale che ne ha fatto richiesta, ottimizzandone il lavoro. Interazione con il personale della *Beckman Coulter* nell'organizzazione di corsi di formazione per operatori tecnico-scientifici afferenti a più Dipartimenti dell'ISS; coordinamento di un sistema di organizzazione interdipartimentale tra i Dipartimenti di BCN, EOMM, Farmaco e MIPI per gli accessi alla struttura e il trasferimento delle informazioni ricevute dal SIDBAE per lavorare in remoto.

Rapporti ISTISAN 16/17

## DIPARTIMENTO DI EMATOLOGIA, ONCOLOGIA E MEDICINA MOLECOLARE

Il Dipartimento di Ematologia, Oncologia e Medicina Molecolare (EOMM) svolge attività di ricerca principalmente nel campo dei tumori, delle malattie del sangue e delle cellule staminali, come anche in alcune aree della genetica e della medicina cardiovascolare. La ricerca svolta all'interno del Dipartimento è mirata a comprendere i meccanismi che controllano la crescita, la maturazione e la morte cellulare in condizioni normali e nel corso di malattie. Durante queste ricerche una speciale attenzione è rivolta allo sviluppo di nuovi marcatori diagnostici e prognostici e di terapie e farmaci innovativi, aspetti particolarmente importanti nel caso delle malattie oncologiche ed ematologiche a causa della loro diffusione ed elevato impatto socio-economico e sanitario.

Nel Dipartimento biologi e medici lavorano fianco a fianco per comprendere i processi che portano le cellule staminali a formare cellule mature specializzate, come quelle che formano il sangue, i muscoli e il sistema nervoso. Infatti la comprensione di questi processi potrà portare in futuro ad utilizzare le cellule staminali per riparare i tessuti danneggiati o per sostituire organi colpiti da malattie. Nel campo delle cellule staminali una particolare area di punta della ricerca è rappresentata dallo studio delle cellule staminali neoplastiche, considerate come responsabili rilevanti dello sviluppo dei tumori e della resistenza alle terapie antineoplastiche. Le ricerche in atto includono anche studi di validazione di biomarcatori predittivi di risposta, consistenti nell'analisi della risposta alle *targeted therapies* in relazione al profilo molecolare dei tumori di origine, per individuare una relazione fra la responsabilità alla terapia e lo stato di attivazione di alcune molecole chiave, individuate come potenziali biomarcatori. Altri progetti di ricerca sono dedicati alla caratterizzazione delle proprietà funzionali degli esosomi rilasciati da cellule normali e tumorali e allo studio delle nefropatie e di malattie genetiche rare, quali le talassemie, le malattie lisosomiali e la sindrome di Noonan. Alcuni progetti sono finalizzati all'identificazione dei geni-malattia coinvolti in un ampio gruppo di malattie rare (displasie scheletriche, sindromi malformative e malattie neurodegenerative) utilizzando approcci genomici (sequenziamento dell'esoma e del trascrittoma).

Un importante settore di ricerca è costituito dalla genomica e dai microRNA, piccoli geni non codificanti che inibiscono la sintesi di specifiche proteine e che sono alla base di numerosissimi processi fisiologici e patologici.

Nel Dipartimento sono altresì presenti linee di ricerca riguardanti: i) l'immunoregolazione (con particolare riferimento al ruolo di citochine e chemochine nella risposta immune innata e acquisita); ii) l'immunologia dei tumori; iii) l'immunoterapia sperimentale e clinica.

Il Dipartimento è ulteriormente impegnato nello sviluppo di diverse tipologie di modelli murini rilevanti per studi di patogenesi e terapia delle malattie umane, con particolare riferimento ai tumori.

Inoltre, il Dipartimento è anche direttamente coinvolto nel coordinamento di studi clinici di Fase I e di Fase II in pazienti con melanoma e con linfoma indolente basati su protocolli derivanti dalle ricerche condotte in istituto in questi ultimi anni nel settore dell'oncoimmunologia, utilizzando vaccini tumorali o farmaci cellulari (prodotti dell'Officina Farmaceutica Farmaci Biologici Cellulari, FaBioCell), da soli o in combinazione con chemioterapia o anticorpi monoclonali.

Il Dipartimento funge da centro di coordinamento di Programmi di ricerca nazionali e di collaborazione internazionale, quali il Programma Italia-USA sulla Oncoproteomica e da referente principale per l'istituto nella rete degli IRCCS oncologici di Alleanza contro il Cancro

Rapporti ISTISAN 16/17

(ACC), partecipando alle attività e svolgendo azioni di supporto alla rete stessa. In aggiunta, il Dipartimento svolge un'importante attività di supporto tecnico-scientifico al Ministero della Salute per la gestione del progetto ERA-net TRANSCAN-2 (Ricerca Traslazionale in Oncologia). Il Dipartimento coordina il nodo nazionale per la partecipazione all'infrastruttura di ricerca europea EATRIS (*European Advanced Translational Research InfraStructure in Medicine*) e le attività di partecipazione dell'istituto alle altre infrastrutture europee di ricerca BBMRI (*Biobanking and Biomolecular Resources Research Infrastructure*) e ECRIN (*European Clinical Research Infrastructures Network*): Il dipartimento ha di recente avviato un progetto per lo sviluppo di una Rete Regionale per la Medicina Traslazionale e le Bioterapie Anti-tumorali finanziato dalla Regione Lazio.

Il Dipartimento fornisce pareri e consulenza, su richiesta del Presidente, del Ministero della Salute o delle strutture interne all'ISS stesso, su temi inerenti la missione del dipartimento stesso. Il Dipartimento partecipa infine ad una serie di valutazioni di grande importanza per la sicurezza dei cittadini. Tra queste, ricordiamo i controlli di stato e le verifiche di qualità sugli emoderivati, la valutazione delle sperimentazioni cliniche sull'uomo con farmaci di nuova istituzione e il controllo delle nuove terapie nel settore emato-oncologico.

## Resoconto attività 2015

Le attività del Dipartimento del 2015 hanno registrato uno sviluppo importante delle principali linee di ricerca e di coordinamento di progetti nazionali e internazionali già in atto e la continuazione del costante impegno di parte del personale in attività di controllo e istituzionali tipiche della missione del dipartimento stesso.

Aspetti rilevanti delle ricerche condotte nel 2015 hanno riguardato i seguenti temi: caratterizzazione di Cellule Staminali Tumorali (CST) in diversi modelli e individuazione di inibitori e anticorpi monoclonali diretti contro tali cellule, anche mediante analisi fosfoproteomica delle vie di trasduzione dei segnali; caratterizzazione delle Cellule Staminali Mesenchimali (CSM) presenti nell'intestino umano e dell'effetto positivo di CSM da cordone ombelicale nell'amplificazione dei progenitori ematopoietici *in vitro* e *in vivo*; studi riguardanti l'isolamento e l'amplificazione di cellule endoteliali da sangue di cordone ombelicale umano; studi di proteomica sui meccanismi di regolazione della crescita e diffusione metastatica del melanoma cutaneo; studi di correlazione malattia renale cronica/malattie cardiovascolari e sugli effetti di diverse tecniche emodialitiche sui livelli di vitamine antiossidanti; studi sui microRNA come potenziali marcatori diagnostici e bersagli terapeutici in tumori solidi (melanoma, glioblastoma e carcinoma del polmone e del colon) e come fattori chiave nel controllo dell'ematopoiesi e dell'eritropoiesi; messa a punto di metodologie per lo studio degli esosomi e del loro ruolo nei fenomeni di comunicazione intercellulare e quali potenziali marcatori diagnostici antitumorali; caratterizzazione del meccanismo d'azione di nuovi farmaci anti-tumorali; studi della relazione fra ematopoiesi e angiogenesi studiata in modelli sperimentali; identificazione di nuovi geni-malattia implicati nelle RASopatie e in altre malattie dello sviluppo e dei sottostanti meccanismi patogenetici; studi di oncogenomica diretti alla comprensione del significato biologico e della rilevanza clinica delle mutazioni somatiche di JAK3 nelle leucemie linfoblastiche acute e alla caratterizzazione dei profili mutazionali delle CST; studi rivolti alla comprensione dei meccanismi cellulari alla base dell'aumentata autofagia nella malattia di Gaucher; studi dei meccanismi molecolari e cellulari che regolano la risposta immunitaria e il ruolo di loro alterazioni nella patogenesi di alcune malattie infettive, neoplastiche, infiammatorie e autoimmuni; studi cellulari e molecolari su cellule dendritiche (DC) murine e umane finalizzate allo sviluppo di nuovi farmaci cellulari per l'immunoterapia

Rapporti ISTISAN 16/17

dei tumori; sviluppo di modelli murini di topi knock-out, transgenici e/o immunodeficienti per studi di patogenesi di alcune malattie umane e di terapie innovative contro i tumori; sviluppo di strategie terapeutiche di chemio-immunoterapia in modelli di tumori murini; generazione di anticorpi monoclonali contro antigeni tumorali per lo sviluppo di kit diagnostici nel carcinoma del colon-retto; studi sui meccanismi molecolari alla base del sinergismo tra chemioterapia e immunoterapia in modelli murini e in pazienti con neoplasie ematologiche; identificazione di nuovi biomarcatori immunologici e meccanismi molecolari immuno-mediati nella risposta ad agenti chemioterapici in modelli murini e nell'uomo.

A queste attività di ricerca, si sono aggiunte quelle tese all'attivazione di studi clinici, quali la preparazione di farmaci cellulari all'officina farmaceutica FaBioCell per trials di Fase I in: i) pazienti con linfomi indolenti trattati con cellule dendritiche autologhe (IFN-DC) e Rituximab; ii) pazienti con neoplasie ematologiche trattati con cellule NK autologhe. Nel 2015 sono stati ulteriormente monitorati i pazienti con melanoma reclutati nell'ambito di uno studio di Fase II per la valutazione dell'efficacia di un vaccino peptidico contro antigeni di melanoma in associazione a dacarbazina.

Il Dipartimento ha svolto un'importante attività di supporto tecnico-scientifico al Ministero della Salute per la gestione del progetto ERA-net TRANSCAN-2 ed ha partecipato a diverse iniziative della Rete degli IRCCS Oncologici ACC. Inoltre, il Dipartimento ha gestito progetti speciali di valenza nazionale e internazionale, quali il Programma Oncotecnologico, quello Italia-USA sulla Oncoproteomica, il progetto TRAIN co-finanziato dalla Commissione Europea per progetti di mobilità di giovani ricercatori nel settore dell'oncologia traslazionale, un progetto per l'accreditamento di sistemi di qualità degli IRCCS di ACC mediante il modello dell'OECD, e i progetti per lo sviluppo dei nodi nazionali per le infrastrutture di ricerca europee EATRIS, BBMRI e ECRIN. In particolare, il Dipartimento ha svolto un ruolo cruciale nello sviluppo delle attività della Rete IATRIS, che nel dicembre 2015 ha visto il passaggio verso la costituzione di un'Associazione Riconosciuta coordinata dall'ISS e comprendente diversi IRCCS e enti di ricerca impegnati nella Medicina Traslazionale su tutto il territorio nazionale.

Il Dipartimento ha altresì svolto attività di organizzazione di meeting nel settore delle bioterapie dei tumori e di formazione in alcune aree pertinenti la missione del dipartimento stesso. Infine, ha svolto diversi tipi di attività istituzionali, quali: i) verifiche di qualità e sicurezza sugli emoderivati anche nell'ambito di una convenzione con l'AIFA; ii) valutazione delle sperimentazioni cliniche sull'uomo con farmaci di nuova istituzione e il controllo delle nuove terapie nel settore emato-oncologico; iii) controllo di stato di emoderivati prima dell'immissione in commercio, sorveglianza post-marketing e la farmacovigilanza di medicinali emoderivati; consulenza per l'SSN per la diagnosi di anemie ereditarie da difetto enzimatico e di membrana eritrocitaria; iv) aggiornamento del Registro Nazionale delle Coagulopatie Congenite; v) pareri per l'autorizzazione in deroga per le sperimentazioni animali e per interrogazioni parlamentari su temi inerenti la missione del dipartimento stesso.

## Descrizione dei Reparti

### Reparto Applicazioni cliniche delle terapie biologiche

Il Reparto di Applicazioni cliniche delle terapie biologiche nasce nell'aprile 2008 con l'intento di promuovere la ricerca e l'applicazione in ambito clinico di strategie terapeutiche basate sull'uso di prodotti biologici di nuova generazione. In particolare, il Reparto si occupa prevalentemente di immunoterapia dei tumori senza tralasciare le possibili implicazioni che gli

Rapporti ISTISAN 16/17

sviluppi delle conoscenze in questo ambito potrebbero avere anche su altre patologie (infettive, degenerative o autoimmuni).

Lo scopo è di mettere a frutto le conoscenze precliniche e cliniche elaborate dai propri ricercatori e di collaborare con altre istituzioni di ricerca e con istituzioni cliniche per promuovere la realizzazione nell'uomo di nuovi protocolli terapeutici e valutarne gli effetti e l'efficacia. Le tematiche da sviluppare riguarderanno l'uso di citochine, di DC e di linfociti in combinazione o meno con agenti chemioterapici ed, eventualmente, altri farmaci, per potenziare le risposte immunitarie contro i tumori.

Il Reparto ha, inoltre, il compito specifico di mantenere costantemente aggiornate le conoscenze nel settore delle bioterapie sia attraverso un'attività di *horizon scanning* che di ricerca attiva in modelli animali e nell'uomo per disegnare, coordinare e monitorare studi clinici di immunoterapia e più in generale di bioterapia con il fine ultimo di fornire *proof of concept* per l'applicazione clinica di terapie biologiche.

Non ultimo, l'*expertise* dei ricercatori del Reparto sarà messo a disposizione dell'Istituto e dell'accademia per la comprensione e il superamento dei problemi tecnici e regolatori che rendono difficile l'applicazione e la diffusione delle bioterapie.

— Studi preclinici:

- Studi *in vitro* e *in vivo* su linea MCA205 e C57BL/6 per dimostrare il coinvolgimento del *pathway* dei recettori endosolici dell'IFN di tipo I e di TLR3 nella risposta alla terapia con antracicline. Lo studio, in collaborazione con l'*Institut Gustave Roussy, Villejuif* (Francia) chiarisce il ruolo dell'interferon di tipo I nell'induzione di apoptosi immunogenica in modelli sperimentali murini. Il lavoro giunto a conclusione parziale è stato pubblicato sulla rivista scientifica *Nature Medicine* e continua nel suo approfondimento.
- Caratterizzazione fenotipica e costruzione di anticorpi monoclonali verso l'antigene tumore associato COA-1 espresso nel carcinoma del colon-retto (CRC). Uno di questi anticorpi, saggiato su circa 300 tessuti tumorali (prevalentemente di CRC), mostra una reattività selettiva proponendosi come strumento di indagine diagnostica e prognostica per questo tipo di tumore. La ricerca mediante tecniche ELISA messe a punto *ex novo* della proteina nel siero effettuata su circa 150 pazienti con CRC e soggetti sani ha dato risultati positivi di correlazione con la malattia. Si è proceduto alla ulteriore comparazione della positività per anticorpi anti COA-1 e CEA in pazienti con CRC per una maggiore valutazione del valore predittivo-prognostico di questi marcatori.
- Definizione del ruolo di IRF-1 nella mediazione dell'effetto antitumorale determinato dalla combinazione di chemio e immuno-terapia in modelli sperimentali murini. Lo studio ha dimostrato il coinvolgimento di IRF-1 nell'effetto immunoadiuvante della ciclofosfamida in combinazione con immunoterapia adottiva antitumorale. Lo studio, concluso, è in fase di pubblicazione.
- Studio di strategie terapeutiche di chemio-immunoterapia in modelli murini di tumore spontaneo della mammella su topi transgenici Her2-NEU. Lo studio è in fase avanzata di completamento e i risultati mostrano come la chemioterapia sia in grado di rompere la tolleranza immunologica indotta dal tumore e rendere quest'ultimo sensibile al trattamento immunoterapico. Il modello sperimentale sarà utilizzato e validato come modello preclinico di dose *finding* e *combination effectiveness* per disegnare nuovi trial clinici. I risultati parziali sono in via di pubblicazione.
- Studio del microambiente tumorale con particolare riferimento al ruolo dei macrofagi associati al tumore (TAM) nella risposta anti-tumorale in modelli murini.

Rapporti ISTISAN 16/17

- Studi clinici:
  - Studio di Fase I-II per la valutazione dell'efficacia di un vaccino peptidico contro antigeni di melanoma in associazione a chemioterapia (Dacarbazina). La fase di preparazione dello studio si è conclusa. Il numero dei pazienti arruolati è arrivato a 34 e tutti i pazienti hanno terminato il ciclo completo di trattamento. L'arruolamento dei pazienti è stato temporaneamente interrotto per consentire una valutazione interinale dei risultati immunologici e clinici. Questi ultimi mostrano un significativo incremento del periodo privo di malattia e del tempo totale di sopravvivenza la cui osservazione ha raggiunto i 5 anni. È in corso la stesura del rapporto scientifico per la pubblicazione su una rivista internazionale.
  - Nell'ambito dello studio clinico di Fase I di vaccinazione mediante inoculo intralesionale di IFN-DC in pazienti con melanoma superficiale, svolto in collaborazione con il Reparto di Immunoterapia Sperimentale (EOMM), sono stati messi a punto ed eseguiti i test immunologici e valutate le risposte antitumorali dei singoli pazienti. Lo studio è stato pubblicato.

### Reparto Biochimica e biologia molecolare clinica

Il Reparto ha svolto le seguenti attività:

#### Progetti di ricerca

- Nell'ambito del progetto di ricerca CNS9 "Valutazione della storage lesion delle emazie portatrici di difetti congeniti del globulo rosso: il deficit enzimatico di glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G6PD) e il trait sferocitico", sono continuati gli studi sulle modificazioni delle proprietà reologiche e della morfologia dei globuli rossi, le anomalie strutturali della membrana cellulare e le alterazioni delle capacità metaboliche e ossido-riduttive eritrocitarie confrontando emazie normali e con deficit di G6PD dovuta a varianti di classe II e III, e sferocitosi ereditaria da difetto di spettrina o di anchirina.
- Nell'ambito del progetto finalizzato *New therapeutic approaches in the human beta-thalassemia treatment: in vitro and in vivo studies* U04- Studi clinici nella  $\beta$ -Talassemia: nuove strategie" è continuato lo studio per valutare il profilo emoreologico di pazienti con  $\beta$ -talassemia intermedia e major in relazione ai parametri di disfunzione endoteliale in presenza o meno di terapia ferro-chelante.
- Nell'ambito di una collaborazione con il Dipartimento di Chimica dell'Università "Sapienza" di Roma è stato predisposto un nuovo approccio diagnostico alla  $\beta$ -talassemia mediante analisi termogravimetrica e chemio metrica, ed è stato costruito un modello di classificazione specifico per la patologia.

#### Attività di controllo e istituzionale

- Il Reparto, in qualità di Laboratorio Ufficiale per il Controllo dei medicinali (*Official Medicines Control Laboratory*, OMCL) emoderivati, secondo la norma ISO/IEC 17025, effettua il Controllo di Stato dei medicinali albumina, fattori della coagulazione, inibitori plasmatici e plasma inattivato prima dell'immissione in commercio (DM 31 marzo 2008) con il rilascio di un certificato valido in tutti i Paesi membri dell'UE nell'ambito del network europeo dell'EDQM.
- In collaborazione con l'EDQM nell'ambito dell'OMCL collabora agli studi collaborativi per l'assegnazione dei valori agli standard internazionali e partecipa alla stesura di linea guida EDQM.

Rapporti ISTISAN 16/17

- Effettua la sorveglianza post-marketing e farmacovigilanza dei medicinali emoderivati e la valutazione tecnico-scientifica di dossier dei farmaci emoderivati su richiesta dell'AIFA, nell'ambito della convenzione AIFA-ISS.
- Nel Reparto si effettuano indagini specialistiche per la diagnosi delle seguenti anemie ereditarie: anemie da difetto enzimatico (deficit di glucosio-6-fosfato deidrogenasi, piruvato chinasi ed esochinasi); anemie da difetto di membrana eritrocitaria (sferocitosi ed ellissocitosi ereditarie).
- Collabora con l'AIFA nell'attività ispettiva delle aziende farmaceutiche.

#### *Altre attività*

- È stato effettuato il Controllo di Stato di 231 lotti di emoderivati prima della commercializzazione, la sorveglianza post-marketing e la farmacovigilanza di emoderivati.
- Nell'ambito della collaborazione con l'EDQMs si è collaborato alla stesura della linea guida EDQM *Management of Documents and Records* a cura del relativo *Working Group*.
- Nell'ambito dell'attività istituzionale il Reparto ha svolto indagini specialistiche che riguardano le anemie ereditarie incluse fra le Malattie Rare (DM 18 maggio 2001 n. 279), su richiesta di Centri ospedalieri afferenti all'SSN, tra cui sono compresi Centri di Riferimento e Presidi della Rete Regionale delle Malattie Rare.
- Ha espresso pareri tecnico-scientifici di competenza ed effettuato studi collaborativi con l'EDQM.

#### *Attività di formazione: relazioni a convegni e corsi*

- “Alterazioni emoreologiche e del microcircolo nella beta- Talassemia.” Corso Management Trasfusionale nelle emoglobinopatie. - Scuola Medica Ospedaliera- Roma, 30-31 marzo 2015.
- “Anemia falciforme: valutazione di parametri emoreologici e ossidativi in relazione alla terapia trasfusionale.” Corso Management Trasfusionale nelle emoglobinopatie. - Scuola Medica Ospedaliera- Roma, 30-31 marzo 2015.
- *Vasculopathy in Thalassemia: New approaches to an old problem*. Joint Meeting of the European Society for Microcirculation and European Vascular Biology Organisation – Pisa, 5 giugno 2015
- “Emoreologia nella talassemia” VI Congresso Nazionale e First International Meeting Hemorheology and Microcirculation – Società Italiana di Emoreologia Clinica e Microcircolazione. Catanzaro, 26 settembre 2015.
- *Factor VIII concentrates*. Blood Session, Annual Meeting of the OMCL Network Council of Europe. Brussels, 01 giugno 2015.

### **Reparto Biotecnologie oncologiche ed ematologiche**

Il Reparto di Biotecnologie Ematologiche e Oncologiche svolge attività nel campo della ricerca traslazionale volta all'identificazione di nuove terapie mirate antitumorali e dei meccanismi che presiedono alla progressione, chemioresistenza e metastatizzazione dei tumori solidi.

#### *Attività di ricerca*

Nel corso del 2015 l'attività di ricerca si è incentrata principalmente sulle seguenti aree:

- Caratterizzazione molecolare delle cellule staminali di tumore di polmone, colon-retto e mammella: nel tumore del colon-retto sono stati analizzati i profili di eterogeneità clonale ed effettuate correlazioni tra profili di farmacoresistenza e profili mutazionali per

Rapporti ISTISAN 16/17

oncogeni e oncosoppressori. Inoltre è stata identificata la proteina embrionale Cripto-1 come nuovo marcatore delle cellule staminali di tumore del colon nonché regolatore del compartimento staminale tumorale. Nel carcinoma polmonare è stata valutata la risposta alla inibizione di EGFR con Erlotinib in cellule staminali con differente stato mutazionale di EGFR e la sensibilità è stata correlata al profilo molecolare di attivazione delle pathway di sopravvivenza. Inoltre sono stati studiati i meccanismi molecolari della progressione del cancro della prostata, con particolare riferimento ai non-coding RNA e agli oncogeni classici.

- Identificazione di nuovi farmaci targeted in grado di colpire la popolazione staminale: è stato realizzato un nuovo farmaco in grado di colpire la popolazione staminale e di bloccare la progressione tumorale nel colon e nel polmone (in corso di brevetto, in collaborazione con Istituto Regina Elena e Università di Bologna) ed è stata condotta la generazione e caratterizzazione di anticorpi monoclonali diretti contro le cellule staminali di carcinoma polmonare del sottotipo squamoso. Nelle cellule staminali tumorali della mammella sono stati identificati i microRNA miR-361-3p e del miR-1271 come bersagli terapeutici e sono stati caratterizzati sia i loro meccanismi d'azione sia possibili strategie di intervento.
- Produzione e ottimizzazione di nuovi modelli sperimentali per la diagnosi, prognosi e predittività nei tumori. Specificamente, i modelli utilizzati riguardano nuovi metodi e marcatori basati su vescicole esosomiali per i tumori di colon, polmone e prostata, l'ottimizzazione di modelli ortotopici murini e colture di organoidi per cancro al rene e al colon-retto, la creazione di una banca di tessuti e cellule staminali di cancro al rene, la validazione di tecniche avanzate di chirurgia con microTAC, ecografo e stereomicroscopio, la validazione di vettori lentivirali per *imaging in vivo* e la messa a punto del modello di gene editing CrispR-Cas9 per la realizzazione di *knocktn* e *knockout locus*-specifici.

#### Attività istituzionali e di controllo

Sono state effettuate n. 35 valutazioni tecnico-scientifiche in co-assegnazione ai sensi 31 comma3 e 33 comma 2 per la sperimentazione animale.

#### Formazione

Si effettua la formazione di dottorandi e tirocinanti provenienti da altre Istituzioni (Istituto Regina Elena, Università "Sapienza" di Roma), attività di docenza nel corso di EVEREXPERIENCE (La pratica clinica nel carcinoma renale avanzato) organizzato da Novartis e seminari presso scuole superiori.

#### Altre attività

Sono state effettuate dal personale del Reparto attività di divulgazione scientifica (articoli su quotidiani e riviste, partecipazione ad eventi scientifici per il grande pubblico). Si effettua un'intensa attività di referaggio per progetti e riviste scientifiche di livello medio e alto.

### Reparto Cellule staminali ed endotelio

Il Reparto si è occupato del ruolo delle cellule stromali mesenchimali nel cancro della prostata, contribuendo ad un articolo sulla rivista *Oncogene*.

L'attività svolta dal Reparto ha riguardato alcuni filoni di ricerca. Particolare enfasi è stata rivolta allo studio di alcuni microRNAs che svolgono un ruolo importante nel controllo dell'ematopoiesi normale a livello del compartimento staminale e dei progenitori emopoietici e leucemica, a livello delle leucemie acute mieloidi.

Rapporti ISTISAN 16/17

Sempre in questo ambito, altri studi svolti hanno contribuito a definire il ruolo del miR146a, quale regolatore dell'espressione del recettore CXCR4 nelle cellule ematopoietiche, dando importanza al ruolo rivestito dall'ipossia nella regolazione di questo miR.

Altri studi hanno rappresentato la naturale prosecuzione di studi condotti già in precedenza e che hanno mostrato la presenza nel sangue di cordone ,di progenitori altamente indifferenziati in grado di generare un endotelio emogonico, che, in opportune condizioni di coltura, dà origine ad una progenie di cellule ematopoietiche. Dopo circa sei settimane questo endotelio permette lo sviluppo e la proliferazione a lungo termine di cellule mastocitarie.

Queste osservazioni hanno portato ad ipotizzare l'esistenza di un particolare tipo di progenitori multipotenti.

Nel corso degli ultimi anni molte pubblicazioni scientifiche hanno dimostrato che l'infiammazione e la risposta immunitaria giocano un ruolo di cruciale importanza in patologie oncologiche come ad esempio il melanoma cutaneo. Nel corso del 2015 l'attività Reparto è stata focalizzata su studi di biologia molecolare e proteomica in modelli oncologici (colture cellulari di linee tumorali e colture di cellule staminali da pazienti oncologici) e in patologie caratterizzate da disfunzioni immunitarie. Utilizzando tecnologie immunometriche (Luminex con protein array in fase liquida) e di proteomica avanzata (tecnica TRIDENT seguita da spettrometria di massa LC-MS/MS) sono stati studiati nuovi farmaci attivi contro il melanoma cutaneo caratterizzando la modulazione del rilascio di citochine e chemochine. Sono stati condotti anche studi sul ruolo degli elementi chimici e di piccole molecole (poliamine) nella omeostasi della cellula di melanoma e nello sviluppo e progressione del tumore stesso. Inoltre sono stati studiati e identificati nuovi *pathway* molecolari correlati alla risposta infiammatoria/immunitaria nel cancro del colon-retto. Gli stessi meccanismi di risposta infiammatoria e /o immunitaria sono stati anche studiati, confrontando campioni di siero da pazienti e controlli sani, per studiare il coinvolgimento di *pathway* immunitari nella patogenesi dei disturbi dello spettro dell'autismo e nella disfunzione dell'angiogenesi in corso di diabete mellito. Le suddette metodologie sono state anche utilizzate per fornire supporto all'attività di ricerca di altri Reparti e Dipartimenti dell'ISS, per effettuare analisi di miscele complesse di proteine come siero, plasma, supernatanti di colture cellulari e fluido cerebrospinale da pazienti affetti da patologie infiammatorie, oncologiche e neurodegenerative. Nel corso del 2015, sono proseguite le attività di coordinamento del Progetto Sieroproteomica, Programma Italia-USA, per la spedizione di sieri oncologici e relative informazioni clinico-anamnestiche, ai ricercatori della *George Mason University* (Virginia, USA). Inoltre sono state svolte attività di supporto e consulenza in audizioni per la Commissione per la valutazione dell'ammissibilità alla sperimentazione clinica di Fase I.

### Reparto Emoglobinopatie ed ematopoiesi

Nell'ambito degli studi sulle emoglobinopatie, e in particolare sulla  $\beta$ -talassemia, si è cercato di determinare i meccanismi molecolari attraverso i quali lo *stem cell factor* (SCF) induce *in vitro* una forte riattivazione della sintesi di emoglobina fetale (HbF) in colture di progenitori eritroidi purificati da soggetti adulti normali e talassemici. In particolare, è stato dimostrato l'effetto dello SCF su una serie di fattori trascrizionali tra cui BCL11A, SOX6 e KLF1 che agiscono da repressori della sintesi di HbF. I risultati di questo studio mostrano inequivocabilmente che lo SCF induce in maniera riproducibile una chiara diminuzione dell'espressione di tutti e tre questi repressori.

La presenza di un'alta incidenza di eventi trombotici nei pazienti  $\beta$ -talassemici ha portato all'identificazione di uno stato di ipercoagulabilità in questi soggetti. Vari fattori sono stati ipotizzati essere associati a tale stato e non è escluso che una combinazione di eventi possa

Rapporti ISTISAN 16/17

essere la causa della trombosi clinica. Le piastrine, oltre ad essere conosciute come mediatori primari nell'emostasi e nella trombosi, sono coinvolte nel processo infiammatorio e giocano un ruolo attivo sia nell'immunità innata che acquisita. È stato dimostrato che le piastrine esprimono molecole, quali CD40L e il suo recettore CD40 e TLRs, strettamente legate all'attività delle cellule immunitarie. L'espressione della proteina di membrana CD40L o il suo rilascio nella forma solubile (sCD40L) da parte delle piastrine sembra essere correlato alla loro attivazione e alti livelli di sCD40L sono stati trovati nel siero di pazienti con infiammazioni acute o croniche. A questo proposito, notevole importanza riveste lo studio dell'espressione di biomarcatori dell'attivazione piastrinica e infiammatori nei megacariociti e nelle piastrine. È stato avviato quindi uno studio per analizzare l'espressione e la modulazione di queste molecole nei megacariociti e nelle piastrine di pazienti  $\beta$ -talassemici. Tale studio può portare a nuove strategie terapeutiche con la finalità di ridurre l'elevato rischio trombotico nella talassemia e, possibilmente, in altre patologie infiammatorie e neoplastiche.

L'analisi mutazionale del promotore del gene della Ferroportina (FPN1) ha evidenziato variabilità a livello di due microsatelliti e di 20 siti polimorfici a singolo nucleotide (SNPs) in pazienti affetti da  $\beta$ -talassemia, emocromatosi ereditaria e iperferritinemia. L'analisi di associazione ha dimostrato l'esistenza di 10 aplotipi dei quali tre (a1, a5, a8) sono prevalenti e rappresentano circa l'80% del totale. Studi funzionali hanno dimostrato una diminuzione del 50% nella risposta ai livelli di eme intracellulare per quanto riguarda la zona del promotore che porta le variazioni a singolo nucleotide caratteristiche dell'aplotipo a1.

Per quanto riguarda lo studio dei microRNA (miR), su un progetto finanziato AIRC, è stata analizzata l'espressione di un pannello di miR, noti per essere differenzialmente espressi tra tessuti normali e Glioblastoma Multiforme (GBM), in una collezione di 24 linee staminali-tumorali purificate da tessuti di pazienti GBM rispetto a linee di cellule staminali neurali normali. Il miR-135b è quello maggiormente down-regolato nelle linee staminali di glioblastoma (GSC) e può essere considerato un potenziale anti-oncogene. La sua espressione indotta mediante infezione retrovirale in 7 di queste linee staminali ne determina un significativo decremento nella proliferazione, nella migrazione e nella capacità clonogenica. Inoltre, l'iniezione intra-cerebrale di queste linee trasdotte in modelli murini di GBM è in grado di ridurre notevolmente il volume della massa tumorale.

Infine, nell'ambito dei progetti riguardanti lo studio e la caratterizzazione delle *cancer stem cells* (CSC) di colon, è proseguita la produzione e la validazione di nuove CSC da pazienti. Lo studio compiuto durante lo scorso anno ha portato alla caratterizzazione completa del profilo mutazionale delle CSC bancate e allo screening della sensibilità ad anticorpi inibitori di EGFR nelle linee disponibili. È attualmente in corso lo screening delle CSC bancate per librerie di farmaci.

#### *Attività istituzionale e di controllo*

Espletamento di pratiche di comma C in campo ematologico e onco-ematologico concernenti controlli e pareri di competenza sulla sperimentazione di fase I di nuove specialità medicinali nonché numerose autorizzazioni alla sperimentazione animale ai sensi degli art. 8-9 del DL.vo 116.

#### *Attività di formazione*

Docenza per esterni non retribuito ISS, Roma, dal 29/09/2015 al 30/09/2015 Centro Internazionale Formazione e Informazione Veterinaria, Teramo, il 02/10/2015.

Rapporti ISTISAN 16/17

### Reparto Fisiopatologia delle malattie genetiche

L'attività è stata finalizzata all'identificazione di nuovi geni-malattia implicati nelle RASopatie e in altre malattie dello sviluppo e alla comprensione dei sottostanti meccanismi patogenetici. Tra i diversi risultati ottenuti, l'attività sperimentale ha portato all'identificazione di un nuovo gene implicato nella sindrome di Noonan (SOS2), di due geni responsabili, quando mutati, della sindrome di Zimmermann-Laband (KCNH1 e ATP6V1B2) e del gene responsabile della sindrome di Fine-Lubinsky (MAF). Studi di oncogenomica sono stati diretti alla caratterizzazione dei profili mutazionali delle cellule staminali tumorali.

Infine, l'attività di ricerca è stata rivolta allo studio di mutazioni nel gene della prosaposina.

### Reparto Fisiopatologia delle malattie renali e patologie correlate

L'attività del Reparto si è focalizzata sulla sperimentazione in ambito oncologico preclinico e sull'insufficienza renale cronica.

La collezione di cellule staminali tumorali derivate da carcinoma del colon-retto e da glioblastoma si è arricchita grazie alla collaborazione con l'Anatomia Patologica dell'Ospedale Sant'Andrea dell'Università "Sapienza" di Roma e con la Neurochirurgia del Policlinico Gemelli dell'Università Cattolica del Sacro Cuore. Delle linee da carcinoma del colon-retto è stata eseguita una caratterizzazione molecolare di un numero selezionato di geni mediante tecniche di *next generation sequencing* in collaborazione con gli Istituti Fisioterapici Ospitalieri-Istituto Regina Elena. Ne sono scaturite informazioni sulle mutazioni presenti in geni ritenuti determinanti per lo sviluppo e la progressione del carcinoma del colon utili alla definizione di modelli preclinici per la sperimentazione di terapie a bersaglio e all'interpretazione dei risultati. Su alcune linee selezionate è stata studiata la relazione tra instabilità genomica e meccanismi di riparazione del danno al DNA in collaborazione con il Dipartimento AMPP. In questo anno si è concluso il progetto *EuroTransBio Colcab* condotto in collaborazione con un'azienda italiana, Exiris Srl, e una tedesca, Aldevron. Al termine dello studio sono stati identificati ibridomi produttori anticorpi monoclonali rivolti contro antigeni di cellule staminali di carcinoma del colon. In particolare è stato approfondito lo studio funzionale e la caratterizzazione di un anticorpo che riconosce un recettore dell'FGF. La possibilità di utilizzare i risultati ottenuti è stata ceduta alla ditta Exiris per ulteriori sviluppi a fronte della previsione di una compartecipazione agli eventuali utili derivanti dal suo sfruttamento commerciale.

Per quanto riguarda la sperimentazione sulle cellule staminali tumorali di glioblastoma multiforme è stato pubblicato il lavoro descritto nella precedente rendicontazione relativo alla classificazione in diversi sottogruppi con significato prognostico sulla base dell'analisi dell'espressione genica, del pattern di fosforilazione di proteine di segnale e del profilo metabolico, studiato in collaborazione con il Dipartimento TES. È stato anche pubblicato il lavoro sul ruolo del miR135b nelle cellule staminali di glioblastoma nelle quali riduce la capacità di proliferare e di migrazione *in vitro*. Sono stati inoltre effettuati studi sulla radiosensibilità di linee con diverso profilo metabolico alla radioterapia con raggi gamma e con ioni o atomi di carbonio che tuttora proseguono in collaborazione con il Dipartimento TES.

Nella sezione di a fase inversa (RPPA), oltre alle attività descritte sopra a proposito della caratterizzazione di cellule staminali tumorali, sono state eseguite analisi di *microarray* di proteine, *western blot* e *screening* di vitalità su cellule staminali tumorali trattate con una libreria di farmaci commercialmente disponibili.

Anche nel 2015 è proseguito lo studio del ruolo dei microRNA nello sviluppo del carcinoma del colon-retto. A seguito di uno screening di una *library* di inibitori di microRNA abbiamo

Rapporti ISTISAN 16/17

identificato alcune molecole in grado di inibire la proliferazione cellulare e di indurre apoptosi in cellule derivate da carcinoma di colon-retto (staminali tumorali e linee immortalizzate commerciali), mutanti nel *pathway* di KRAS, con il fine ultimo di identificare nuove strategie terapeutiche per quei pazienti che non rispondono alle attuali terapie con inibitori dell'EGFR. Attualmente sono in corso esperimenti *in vitro* e *in vivo* per determinare il potenziale terapeutico di questo approccio. Abbiamo infine concluso uno studio sul carcinoma polmonare derivante dal lavoro degli anni passati (manoscritto in preparazione).

Nell'ambito della ricerca su insufficienza renale cronica, nel corso dell'anno 2015 è stato avviato lo studio relativo alla valutazione degli effetti a breve e lungo termine dell'utilizzo di membrane dialitiche ad elevata permeabilità sui livelli plasmatici di composti tiolici, liberi e coniugati, quali indicatori surrogati di stato di stress ossidativo e dismetabolico nel paziente uremico in trattamento emodialitico cronico. L'analisi di tali biomarcatori, associata a quella di indicatori classici di infiammazione e stress ossidativo, si prevede potrà fornire indicazioni utili sui meccanismi patogenetici alla base dell'elevato rischio cardiovascolare di questi pazienti e di come questi possano essere modulati nel lungo termine dall'utilizzo di diversi trattamenti emodialitici. Tale studio è condotto in collaborazione con centri dialisi dell'SSN e aziende biomedicali del settore. In considerazione dello stretto legame tra malattia cardiovascolare e insufficienza renale, e dell'importante ruolo giocato dall'inquinamento atmosferico nello sviluppo della malattia cardiovascolare, è stato inoltre avviato uno studio *in vitro* volto a valutare la tossicità sull'endotelio vascolare di materiale solubile rilasciato dal particolato atmosferico. È noto infatti che nanomateriali e materiali solubili rilasciati da quest'ultimo sono in grado di attraversare l'epitelio polmonare e raggiungere il letto circolatorio potendo così interferire con la funzione endoteliale a livello sistemico. Tale studio è condotto in collaborazione con dipartimenti universitari e del CNR. Entrambi gli studi proseguiranno nel corso del 2016.

Alle attività di ricerca proprie del Reparto si sono associate le collaborazioni con diversi gruppi principalmente del dipartimento EOMM ma anche di altri gruppi dell'istituto ed esterni, in citofluorimetria e citometria di massa. Una di queste collaborazioni con gruppi europei ha consentito la partecipazione alla ideazione e presentazione del progetto Hercules che ha ricevuto il finanziamento nell'ambito del programma Horizon 2020 e per il quale ci occuperemo della caratterizzazione mediante citometria di massa di cellule di carcinoma dell'ovaio.

Per quanto riguarda l'attività istituzionale sono stati redatti 22 pareri per la Commissione per la Sperimentazione Clinica di Fase I e un *assessment report* sulla parte non clinica in un procedimento di autorizzazione mediante procedura centralizzata europea.

### Reparto Immunoregolazione

Il Reparto svolge attività di ricerca riguardante principalmente la caratterizzazione dei meccanismi molecolari e cellulari che regolano la risposta immunitaria e il ruolo di loro possibili alterazioni nella patogenesi di malattie infettive, neoplastiche, infiammatorie e autoimmuni.

#### Attività di ricerca

- Studi sul ruolo del tessuto adiposo e della dieta nella regolazione dell'infiammazione e della risposta immune (in collaborazione con Dipartimento SPVSA, Università di Padova; Ospedale Pediatrico Bambino Gesù).
- Studio degli effetti del microambiente degli adipociti sulle cellule epiteliali intestinali e le cellule dell'immunità innata (in collaborazione con Dipartimento SPVSA).
- Modelli sferoidi 3D di Caco-2 (adenocarcinoma umano colon-retto) per studi di cross-talk tra il tessuto adiposo e l'epitelio intestinale nella patogenesi del tumore del colon-retto.