

## **Convegno**

# ***“Le nuove sfide della ricerca oncologica: verso una partnership tra Enti Pubblici e Industria nella regione Lazio”***

**Roma, 17 maggio 2017  
Ore 8,30 – 14,30  
Regione Lazio - Sala Tirreno**

## **ABSTRACT BOOK**

A cura di

Paola Rizza<sup>1</sup> e Valentina La Sorsa<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Centro di Riferimento per la Medicina di Genere*

<sup>2</sup> *Servizio di Coordinamento e Supporto alla Ricerca  
Istituto Superiore di Sanità*

## PROGRAMMA

**Ore 8:30** Registrazione e welcome coffee - **Poster session**

**Ore 9:00** Apertura lavori – Saluti Istituzionali

- **Massimiliano Smeriglio**, *Assessore Formazione, Ricerca, Scuola, Università e Turismo – Regione Lazio*
- **Stefano Fantacone**, *Presidente Lazio Innova S.p.A.*
- **Walter Ricciardi**, *Presidente Istituto Superiore di Sanità*
- **Filippo Belardelli**, *Vice Presidente Alisei- Cluster Nazionale Scienze della Vita*
- **Fabio Miraglia**, *Presidente C.H.I.CO.- Cluster of Health Innovation and Community e Presidente Consorzio Tecnopolo di Castel Romano*
- **Tullio Pozzan**, *Direttore Dipartimento Scienze Biomediche, Consiglio Nazionale delle Ricerche*

**Ore 9:30** Panel 1 - **I biomarcatori in oncologia e diagnostica avanzata**

**Moderatore: Marco Marchetti**, *Direttore Centro Nazionale per l'Health Technology Assessment, Istituto Superiore di Sanità*

- **I biomarcatori nei tumori solidi**  
**Mauro Biffoni**, *Direttore Dipartimento di Oncologia e Medicina Molecolare, Istituto Superiore di Sanità*
- **I biomarcatori in oncoematologia**  
**Robin Foà**, *Direttore Istituto di Ematologia, Dipartimento di Biotecnologie Cellulari ed Ematologia, Università 'Sapienza'*
- **La ricerca di AbbVie per sviluppare terapie biomarkers guidate in oncologia e oncoematologia**  
**Umberto di Luzio Papparatti**, *Medical Director AbbVie Italia, Aprilia*
- **Anticorpi terapeutici nella pipeline oncologica Menarini**  
**Monica Binaschi**, *Head of Experimental and Translational Oncology, Menarini Ricerche, Pomezia*

**Ore 10:30** Coffee break - **Poster session**



**Ore 11:00** Panel 2 - **Le terapie cellulari e geniche in oncologia**

**Moderatore: Marianna Nuti**, *Direttore dell'Unità di Terapia Cellulare e del Laboratorio di Immunologia Oncologica, Policlinico "Umberto I"*

- **Sviluppo di vaccini terapeutici mediante l'uso di cellule dendritiche e citochine**  
*Filippo Belardelli*, *Vice Presidente Alisei- Cluster Nazionale Scienze della Vita*
- **I car-T in oncologia**  
*Franco Locatelli*, *Direttore del Dipartimento di Oncoematologia Pediatrica – Ospedale Pediatrico Bambino Gesù*
- **Vaccini genetici basati su neoantigeni tumorali**  
*Gennaro Ciliberto*, *Direttore scientifico Istituto Nazionale Tumori - Regina Elena*
- **Utilizzo di virus ricombinanti nel campo della immunoterapia del cancro**  
*Elisa Scarselli*, *Chief Scientific Officer, Nouscom Srl, Tecnopolo Castel Romano*
- **I Vaccini genetici contro il Cancro: l'Innovazione che nasce dal Lazio**  
*Luigi Aurisicchio*, *Chief Executive and Scientific Officer, Takis Srl, Tecnopolo Castel Romano*

**Ore 12:00** Panel 3 - **Le Terapie Biologiche**

**Moderatore: Enrico Proietti**, *Dipartimento di Oncologia e Medicina molecolare, Istituto Superiore di Sanità*

- **Anticorpi immunomodulanti in oncologia**  
*Paolo Marchetti*, *Direttore U.O.C. Oncologia Medica, Ospedale Sant'Andrea*
- **Combinazioni tra anticorpi monoclonali e molecole Fcgamma chimeriche: nuove strategie di targeting tumorale in oncoematologia**  
*Giuseppe Sconocchia*, *Direttore dell'Istituto di Farmacologia Traslazionale, Consiglio Nazionale delle Ricerche*
- **Presente e futuro della ricerca Merck in Italia**  
*Alessandra Aloe*, *Medical Affairs Director Merck Serono Italia S.p.A., Roma*
- **Terapie innovative da vecchi biomarcatori**  
*Rita De Santis*, *Head Biotechnology, Sigma-tau S.p.A., Pomezia*

**Ore 13:00** **Presentazione Avviso POR FESR Lazio 2014-2020 "Progetti Strategici" – Arturo Ricci**, *Progettazione Avvisi, Lazio Innova S.p.A.*

**Ore 13:45** Networking Lunch - **Poster session**

**Ore 14:30** **Chiusura lavori**



## Poster N.1

### **POTENZIAMENTO DELL'EFFICACIA DEL CETUXIMAB MEDIANTE COMBINAZIONE CON CELLULE T INGEGNERIZZATE CON RECETTORI Fc-gamma CHIMERICI PER IL TRATTAMENTO DEL CARCINOMA DEL COLON-RETTO KRAS MUTATO.**

**Sara Caratelli<sup>1</sup>, Roberto Arriga<sup>2</sup>, Donatella Pastore<sup>2</sup>, Tommaso Sconocchia<sup>3</sup>, Maurizio Alimandi<sup>4</sup>, Giulia Lanzilli<sup>1</sup>, Davide Lauro<sup>2</sup>, Barbara Savoldo<sup>5</sup>, Gianpietro Dotti<sup>5</sup>, Soldano Ferrone<sup>6</sup>, Giuseppe Sconocchia<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>Istituto di Farmacologia Traslazionale, CNR; <sup>2</sup>Dipartimento di Medicina dei Sistemi, Università di Roma Tor Vergata; <sup>3</sup>Istituto di Fisiopatologia ed Immunologia, Medical University of Graz, Austria;

<sup>4</sup>Dipartimento di Medicina Clinica e Molecolare, Università di Roma Sapienza; <sup>5</sup>Lineberger Comprehensive Cancer Center, Università del North Carolina, Chapel Hill, NC, USA;

<sup>6</sup>Dipartimento di Chirurgia e Chirurgia Ortopedica, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA, USA.

#### **ABSTRACT**

L'impiego di anticorpi monoclonali (AM) diretti contro il recettore per il fattore di crescita epidermico (EGFR), tra cui il cetuximab, ha rappresentato un significativo avanzamento nel trattamento del carcinoma coloretale metastatico (mCRC). L'effetto anti-tumorale del cetuximab è dovuto a: i) blocco della proliferazione neoplastica; ii) attivazione di processi apoptotici; iii) induzione di citotossicità cellulare dipendente da anticorpo (ADCC) mediante il legame con i recettori Fc-gamma. Tuttavia, diversi fattori limitano l'efficacia terapeutica del cetuximab; tra questi la presenza di mutazioni nel gene KRAS (KRAS-mut) e la scarsa presenza di cellule Natural Killer, capaci di mediare ADCC, nel microambiente tumorale. In questo studio ipotizziamo di superare i limiti terapeutici del cetuximab attraverso la sua combinazione con cellule T ingegnerizzate con recettori chimerici Fc-gamma (Fc-gamma-CRs).

**MATERIALI E METODI:** Due Fc-gamma-CRs, denominati CD32-CR e CD16-CR, sono stati generati dalla fusione della regione extracellulare del Fc-gammaRIIA (CD32) o del Fc-gammaRIIA (CD16) con il dominio transmembrana del CD8a e con i domini intracitoplasmatici del CD28 e del CD3zeta. Linfociti T attivati sono stati trasdotti con le chimere e la corretta espressione è stata valutata mediante citofluorimetria e western blot. I recettori sono stati caratterizzati funzionalmente in vitro attraverso test di binding e saggi ELISA. L'attività anti-tumorale delle cellule T trasdotte in associazione al cetuximab è stata valutata in test di deplezione in vitro e in topi SCID xenotrapiantati con la linea cellulare di CRC KRAS-mut HCT116.

**RISULTATI:** Entrambi gli Fc-gamma-CRs sono espressi correttamente sulla superficie delle cellule T. Il CD32-CR, ma non il CD16-CR, lega in maniera specifica il frammento Fc degli AM anti-EGFR cetuximab e panitumumab. La dose massima di cetuximab necessaria per saturare tutti i CD32-CR che è pari a 10ug/ml ed il binding è mantenuto anche in presenza di quantità crescenti di plasma umano. Sia il CD32-CR che il CD16-CR inducono rilascio di citochine in risposta a stimolazione con cetuximab o panitumumab. La combinazione del cetuximab con cellule T CD32-CR+: i) induce l'eliminazione di HCT116 in vitro; ii) riduce significativamente la crescita tumorale in vivo.

**CONCLUSIONI:** In questo studio preclinico dimostriamo che cellule T armate con CD32-CR potenziano l'efficacia del cetuximab contro CRC KRAS-mutato.

## **Poster N.2**

### **ENEA E SALUTE: MODELLI SPERIMENTALI PER CONTRASTARE LA RADIORESISTENZA DEI TUMORI.**

**Mariateresa Mancuso, Tanori M., Marino C.**

Divisione Tecnologie e Metodologie per la Salvaguardia della Salute, ENEA.

#### **ABSTRACT**

I tumori sono la seconda causa di morte sia in Italia che in Europa. Nonostante i progressi della ricerca e l'efficacia della diagnosi precoce e delle cure abbiano notevolmente migliorato la prognosi di alcune categorie di pazienti oncologici, i dati epidemiologici sulle neoplasie rilevano il loro carattere di malattia sociale e cronica, con un numero di nuovi malati di tumore in continuo aumento soprattutto per effetto dell'invecchiamento demografico. La Divisione Tecnologie e Metodologie per la Salvaguardia della Salute dell'ENEA opera da anni nel settore dell'oncologia sperimentale, coniugando la ricerca di base e quella preclinica per lo sviluppo di nuove strategie terapeutiche. Integrando il know-how radiobiologico che contraddistingue ENEA in ambito nazionale, i nostri interessi di ricerca sono finalizzati all'identificazione di nuove molecole adiuvanti la radioterapia (radio-protettori e/o radiosensibilizzanti). Particolare interesse è rivolto al superamento del fenomeno della radioresistenza tipicamente associata ad alcune tipologie tumorali, quali quelli cerebrali e quelli cutanei. Modelli sperimentali in vitro (colture cellulari da tumori primari e finalizzate all'arricchimento in cellule staminali tumorali) e in vivo (modelli murini geneticamente modificati e suscettibili all'insorgenza di tumori cerebrali, cutanei e di tessuti molli), in associazione ad una approfondita gamma di metodologie molecolari nonché alle peculiari capacità di trasferimento tecnologico proprie del sistema di ricerca dell'ENEA, possono rappresentare una soluzione di interazione con il tessuto produttivo nell'ottica di individuare soluzioni sostenibili per il Paese in tema salute.

## Poster N. 3

### **RICERCA DI MARCATORI DI PROGRESSIONE TUMORALE DELLA CHERATOSI ATTINICA, UN CARCINOMA IN SITU DELLA PELLE A LENTA EVOLUZIONE.**

**Fabiola Luzi<sup>1</sup>, Maria Vincenza Chiantore<sup>2</sup>, Gianna Fiorucci<sup>3</sup>, Giuseppina La Rosa<sup>2</sup>, Luisa Accardi<sup>2</sup>, Gianfranco Costanzo<sup>4</sup>, Gianni Rezza<sup>2</sup>, Paola Di Bonito<sup>2</sup>.**

<sup>1</sup>Chirurgia plastica e ricostruttiva, Istituto Dermatologico San Gallicano;<sup>2</sup>Dipartimento Malattie Infettive, Istituto Superiore di Sanità; <sup>3</sup>Istituto di Biologia e Patologia Molecolari, CNR;<sup>4</sup>Istituto Nazionale per la Salute, la Migrazione e la Povertà (NIHMP).

#### **ABSTRACT**

La cheratosi attinica (AK) è un carcinoma in situ a lenta evoluzione che si sviluppa sulla pelle foto danneggiata. La lesione di AK ha tre possibili esiti: guarisce spontaneamente, persiste per lungo tempo o progredisce a cancro invasivo, nella maggior parte dei casi a carcinoma squamoso. Per questo tumore sono stati individuati alcuni fattori di rischio come l'esposizione al sole, l'abbronzatura artificiale, il fototipo, la storia familiare di cancro della pelle e lo stato di competenza immunologica. Inoltre ha una maggior incidenza negli uomini rispetto alle donne. Le infezioni causate da virus cutanei oncogeni della famiglia dei Papillomavirus e dei Poliomavirus potrebbero agire come co-fattori e concorrere alla progressione di questo tumore della pelle. L'interesse del nostro studio è stato quello di individuare biomarcatori per la prognosi e la terapia di questi tumori. Abbiamo studiato la cute di 248 pazienti con AK, afferenti per il trattamento clinico all'ambulatorio laser chirurgico dell' Istituto Nazionale per la Salute, la Migrazione e la Povertà (NIHMP). Abbiamo analizzato il DNA estratto dalla cute con AK, in comparazione con quello ottenuto dalla cute sana e identificato la presenza di alcuni genotipi HPV dei generi beta-HPV e gamma-HPV. Circa la metà dei campioni sono positivi al al Merkel Polyomavirus (MCPyV). Da questi campioni clinici abbiamo anche ottenuto un profilo di espressione di miRNA cellulari modulati nella AK. I risultati verranno discussi con chiunque sia interessato ad uno sviluppo tecnologico dalle nostre ricerche.

## Poster N.4

### DIAGNOSTICA AVANZATA CON RADIAZIONE BETA- PER LA STADIAZIONE E/O RESEZIONE DEI TUMORI SOLIDI.

**Riccardo Faccini<sup>1,4</sup>, Gaia Bencivenga<sup>7</sup>, Antonella Cartoni<sup>2</sup>, Ilaria Fratoddi<sup>2</sup>, Dante Rotili<sup>3</sup>, Teresa Scotognella<sup>6</sup>, Iole Venditti<sup>2</sup>, Evaristo Cisbani<sup>4,5</sup>, Valentina Dini<sup>5</sup>, Antonella Tabocchini<sup>5</sup>, Francesco Collamati<sup>4</sup>, Silvio Morganti<sup>4</sup>, Elena Solfaroli Camillocci<sup>1,4</sup>, Massimo Castagnola<sup>8</sup>, Daria Maccora<sup>6</sup>, Alessandro Giordano.**

<sup>1</sup>Dipartimento di Fisica, Università di Roma Sapienza; <sup>2</sup>Dipartimento di Chimica, Università di Roma Sapienza; <sup>3</sup>Dipartimento di Chimica e Tecnologie del Farmaco, Università di Roma Sapienza; <sup>4</sup>INFN, Frascati; <sup>5</sup>Istituto Superiore di Sanità; <sup>6</sup>Istituto di Medicina Nucleare, Università Cattolica del Sacro Cuore di Roma; <sup>7</sup>Centro PET-CT, Università Cattolica del Sacro Cuore di Roma; <sup>8</sup>Istituto di Biochimica e Biochimica Clinica dell' Università Cattolica del Sacro Cuore di Roma.

#### ABSTRACT

##### LA TECNICA

La chirurgia radioguidata è una tecnica che mira alla rivelazione di residui tumorali radiomarcanti per permettere una completa resezione in sede operatoria. La metodologia consiste nell'iniezione di un radiofarmaco che si lega preferenzialmente alle cellule tumorali. Durante l'operazione di asportazione del tumore, con un dispositivo (sonda) in grado di rivelare la radiazione emessa dal radiofarmaco si esplora la cavità chirurgica al fine di verificare l'eventuale presenza di tessuto neoplastico residuo.

##### LIMITI ATTUALI DELLA TECNICA

Le tecniche odierne di chirurgia radioguidata sono basate su radiofarmaci che emettono raggi gamma. Il loro potere penetrante abbinato alla possibile presenza di un organo fortemente captante in prossimità della lesione può sovrastare il modesto segnale proveniente dai residui tumorali. Questa limitazione ostacola l'applicazione della chirurgia radioguidata a tumori cerebrali (vista l'alta captazione del cervello sano), addominali (in prossimità di reni, vescica, fegato,...) e pediatrici (dove le dimensioni sono ridotte). Inoltre, il personale medico è ripetutamente esposto ad una dose significativa di radiazione gamma.

##### PROGETTO ED INNOVAZIONE

Per superare queste limitazioni, il gruppo di ricerca propone una tecnica innovativa (brevettata dal gruppo) di diagnostica avanzata per la chirurgia radioguidata che utilizza radiofarmaci beta-emittenti. La scarsa penetrazione degli elettroni nei tessuti elimina, infatti, ogni interferenza da parte di organi sani captanti limitrofi, rendendo la tecnica applicabile a diversi casi clinici attualmente non trattabili, con ovvi vantaggi per la prognosi dei pazienti e con radioesposizione del personale medico quasi trascurabile.

Per lo sviluppo della tecnica, parallelamente all'ottimizzazione di rivelatori di elettroni innovativi è di particolare rilevanza la sintesi di radio-farmaci beta-emittenti specifici per le neoplasie di interesse. Al momento si sta studiando la preparazione di nuovi traccianti radiomarcanti con <sup>90</sup>Y, in particolare: i) derivati della benzil guanidina (per neuroblastomi); ii) anticorpi per i recettori EGFR; iii) polimeri; iv) nanoparticelle.

Allo stesso tempo si stanno esplorando tecniche diagnostiche specifiche per la valutazione della biodistribuzione dei radiotraccianti beta- nei test in vivo su modelli animali.

Il gruppo di ricerca ha già avviato una sperimentazione della tecnica su campioni ex-vivo di tumori cerebrali (meningioma, glioma) e tumori neuroendocrini con il radiofarmaco <sup>90</sup>Y-DOTATOC utilizzato in radioterapia.

## Poster N. 5

### **OTTIMIZZAZIONE, MODELLI E ALGORITMI PER LA BIOINFORMATICA E LA SYSTEMS BIOLOGY.**

**Federica Conte, Giulia Fiscon, Paola Paci, Pasquale Palumbo, Paola Bertolazzi.**

Istituto di Analisi dei Sistemi e Informatica "A. Ruberti", Consiglio Nazionale delle Ricerche.

#### **ABSTRACT**

Lo IASI sviluppa metodi matematici e informatici per la modellizzazione e simulazione di sistemi complessi. Nel settore della medicina traslazionale, per quanto riguarda l'area delle terapie geniche e molecolari, contribuisce utilizzando competenze ad ampio spettro che vanno dalla modellistica di sistemi dinamici, algoritmi, tecniche statistiche, machine learning, big data e creazione e gestione di conoscenza. Queste tecniche permettono di coprire tutta la filiera del processo di analisi dei dati prodotti dalla ricerca in laboratorio per riportare sul paziente forme di terapia personalizzata.

Esse vengono applicate all'analisi di sequenze di DNA e di dati di trascrittomica, di reti di proteine (PPI), di epigenetica e di metabolomica, in vari tipi di patologie umane. Significativi risultati sono stati recentemente ottenuti: un modello di simulazione della crescita cellulare nel lievito, un algoritmo basato sull'analisi integrata di dati di trascrittomica e di reti e un algoritmo per la individuazione di insiemi di biomarcatori per la diagnosi delle patologie multifattoriali.

Il primo presenta un modello della dinamica delle molecole che causano la crescita e duplicazione delle cellule, evidenziando i fattori di timing e di misura della dimensione.

Questa tecnica può essere utilizzata per testare in silico l'effetto di un farmaco.

Il secondo lavoro permette, attraverso l'integrazione di proprietà topologiche di reti di correlazione con proprietà di espressione genica, di scoprire i geni switch, ovvero una ridotta lista di geni con un ruolo chiave nel determinare la transizione tra due interessanti condizioni biologiche, quali ad esempio controllo/trattato oppure stato fisiologico/stato patologico. I geni switch sono caratterizzati da una marcata correlazione negativa con i loro primi vicini nella rete di correlazione e hanno la proprietà di interagire molto più al di fuori del loro modulo piuttosto che all'interno. Tale proprietà conferisce loro un importante ruolo topologico confermato dal drammatico aumento della lunghezza del cammino medio in seguito alla loro rimozione dalla rete. Questo metodo può fornire importanti indicazioni circa nuovi target terapeutici.

Il terzo lavoro espone una tecnica di enumerazione di soluzioni multiple del problema di feature selection, che permette di identificare insiemi di geni che sono caratterizzanti di una determinata patologia.

## Poster N. 6

### **SVILUPPO DI ANTICORPI RICOMBINANTI SINGLE-CHAIN PER LA PREVENZIONE DELLA PROGRESSIONE TUMORALE DI LESIONI ASSOCIATE A PAPILOMAVIRUS UMANO.**

**Carla Amici<sup>1</sup>, Francesca Verachi<sup>1</sup>, Paola Di Bonito<sup>2</sup>, Zulema Percario<sup>3</sup>, Francesca Paolini<sup>4</sup>, Aldo Venuti<sup>4</sup>, Luisa Accardi<sup>2</sup>.**

<sup>1</sup>Università di Roma Tor Vergata, Dipartimento di Biologia; <sup>2</sup>Istituto Superiore di Sanità, Dipartimento di malattie infettive; <sup>3</sup>Università degli studi Roma Tre, Dipartimento di Scienze; <sup>4</sup>Istituto nazionale tumori Regina Elena, Unità di Virologia.

#### **ABSTRACT**

La terapia delle lesioni associate a papillomavirus umano attualmente rappresenta un'area di studio e di grande interesse medico. Questo perché i papillomavirus ad alto rischio (hr-HPV), oltre ad essere la causa riconosciuta della totalità dei casi di tumore della cervice uterina (CC) e di tumori dell'area anogenitale, stanno emergendo come agenti eziologici di tumori in altri distretti del corpo quali l'orofaringe (HNC).

Nonostante i vaccini anti hr-HPV si siano dimostrati in grado di prevenire l'infezione persistente e di conseguenza lo sviluppo delle lesioni tumorali, l'esistenza di individui immunosoppressi o con infezioni pregresse rende necessaria la messa a punto di interventi terapeutici appropriati e non invasivi in grado di prevenire la progressione tumorale delle lesioni da basso ad alto grado.

La nostra strategia terapeutica si basa sull'uso di frammenti anticorpali a singola catena (scFvs) specifici per le oncoproteine E6 ed E7 che, interferendo nei pathways cellulari coinvolti nel controllo della proliferazione e della sopravvivenza cellulare, sono responsabili della trasformazione tumorale delle cellule infette. In particolare, abbiamo selezionato da libraries di anticorpi ricombinanti alcuni scFvs contro le proteine oncogene di HPV di tipo 16, il principale hr-HPV responsabile di più del 50% dei tumori della CC e di circa il 25% dei tumori testa/collo.

Abbiamo dimostrato che gli scFvs da noi selezionati, quando espressi come intrabodies in compartimenti specifici delle cellule infette, sono in grado di contrastare l'attività dei loro target molecolari, col risultato finale di inibire la proliferazione e ripristinare l'apoptosi delle cellule tumorali HPV-positive. Inoltre, abbiamo dimostrato che l'espressione di questi scFvs è in grado di prevenire lo sviluppo di tumori HPV in modelli preclinici. Attualmente sono in corso studi di efficacia antitumorale in setting terapeutico.

Per una possibile applicazione in medicina traslazionale, è prioritario lo studio delle modalità di delivery degli scFvs sia come proteine che come DNA, anche tenendo conto delle potenzialità derivanti dalla eventuale ingegnerizzazione di queste molecole. Ad esempio, costrutti specifici per oncoproteine di genotipi virali diversi potrebbero essere usati in combinazione tra loro per migliorare l'efficacia terapeutica e la prevenzione della progressione tumorale.

## Poster N. 7

### ATTIVITÀ ANTI-TUMORALE DELL'INTERLEUCHINA-33 E POSSIBILE RUOLO COME BIOMARCATORE NEL MELANOMA.

**Valeria Lucarini<sup>1</sup>, Giovanna Ziccheddu<sup>1</sup>, Carla Buccione<sup>1</sup>, Iole Macchia<sup>1</sup>, Valentina La Sorsa<sup>2</sup>, Francesca Peschiaroli<sup>1</sup>, Antonella Sistigu<sup>3</sup>, Massimo Sanchez<sup>4</sup>, Sara Andreone<sup>1</sup>, Maria Teresa D'Urso<sup>5</sup>, Massimo Spada<sup>5</sup>, Daniele Macchia<sup>5</sup>, Bruno Vincenzi<sup>6</sup>, Francesca Zalfa<sup>6</sup>, Giuseppe Perrone<sup>6</sup>, Claudia Afferni<sup>7</sup>, Fabrizio Mattei<sup>1</sup> and Giovanna Schiavoni<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>Dipartimento di Oncologia e Medicina Molecolare, Istituto Superiore di Sanità; <sup>2</sup>Servizio di coordinamento e supporto alla ricerca, Istituto Superiore di Sanità; <sup>3</sup>Unità di immunologia ed immunoterapia dei tumori, Dipartimento di ricerca, diagnostica avanzata e innovazione tecnologica, Istituto Nazionale Tumori Regina Elena; <sup>4</sup>Servizio grandi strumentazioni e core facilities, Istituto Superiore di Sanità; <sup>5</sup>Centro nazionale sperimentazione e benessere animale, Istituto Superiore di Sanità; <sup>6</sup>Facoltà dipartimentale di medicina e chirurgia, Università Campus Bio-medico di Roma; <sup>7</sup>Centro nazionale ricerca e valutazione preclinica e clinica dei farmaci, Istituto Superiore di Sanità.

#### ABSTRACT

L'interleuchina-33 (IL-33) è una citochina coinvolta nelle allergie, nell'autoimmunità e nell'infiammazione. E' rilasciata all'esterno della cellula in seguito a stress patologico o necrosi come "allarmina" ed esercita la sua azione biologica attraverso il legame specifico con il suo recettore ST2 espresso da molte cellule del sistema immunitario. Studi recenti hanno evidenziato che IL-33 svolge un ruolo anche nelle risposte immuni anti-tumorali, sebbene le evidenze correnti suggeriscono che i suoi effetti possono favorire o contrastare la crescita del tumore a seconda del sito di espressione e dell'istotipo. In questo studio, abbiamo analizzato il ruolo dell'asse IL-33/ST2 nella crescita tumorale e nel processo metastatico del melanoma. I nostri dati evidenziano come la somministrazione esogena di IL-33 in topi C57Bl/6 trapiantati con cellule di melanoma metastatico B16.F10 induce un rallentamento significativo della crescita tumorale accompagnato da un aumento di infiltrato tumorale di linfociti T CD8+ e di eosinofili. Inoltre, la somministrazione intranasale di IL-33 induce un forte reclutamento di eosinofili nel polmone che previene la formazione di metastasi polmonari nei topi inoculati con cellule di melanoma. La deplezione in vivo di eosinofili (mediante somministrazione di anticorpo anti-Siglec-F) abolisce l'efficacia dell'IL-33 nell'inibire la crescita del tumore primario e la formazione di metastasi, indicando il ruolo fondamentale degli eosinofili nel mediare l'attività anti-tumorale dell'IL-33. Abbiamo in seguito osservato che topi deficienti per il recettore ST2 (ST2<sup>-/-</sup>) sviluppano metastasi polmonari in maniera significativamente maggiore rispetto ai topi di controllo, suggerendo che in seguito all'inoculo del tumore vengono prodotti livelli endogeni di IL-33 che giocano un ruolo importante nell'immunosorveglianza contro l'insorgenza di metastasi polmonari. Analisi di PCR quantitativa hanno evidenziato che IL-33 è espressa nel melanoma murino e in diverse linee di melanoma umano in rapporto inverso alla progressione tumorale e/o alla presenza di mutazione BRAF. Inoltre, in uno studio pilota su biopsie di melanoma primario e di metastasi polmonari abbiamo osservato, mediante analisi istologica, che l'espressione di IL-33 è elevata nel tumore primario, ma attenuata nelle corrispettive metastasi. Questi dati indicano che l'espressione di IL-33 è negativamente correlata con la progressione tumorale e suggeriscono che IL-33 possa rappresentare un biomarcatore prognostico/predittivo nel melanoma.

## Poster N. 8

### **ALLA RICERCA DI PARTNERSHIP: CHIMERE GENETICHE TRA SEQUENZE VEGETALI E ANTIGENI VIRALI E/O TUMORALI PER L'IMMUNOTERAPIA DEI TUMORI ASSOCIATI ALLE INFEZIONI DA PAPPILLOMAVIRUS UMANO (HPV).**

**Silvia Massa<sup>1</sup>, Francesca Paolini<sup>2</sup>, Laura Spanò<sup>3</sup>, Aldo Venuti<sup>2</sup>, Rosella Franconi<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>ENEA, Dipartimento Sostenibilità, Centro Ricerche Casaccia; <sup>2</sup>Istituto Nazionale Tumori Regina Elena - HPV Unit, UOSD Immunologia Oncologica e Immunoterapia, Dip.to RIDAIT; <sup>3</sup>Università degli Studi dell'Aquila.

#### **ABSTRACT**

Diversi tumori sono imputabili ad infezione da virus del papilloma umano (HPV). HPV è l'agente causale del tumore del collo dell'utero, di molti tumori ano-genitali e di alcuni tumori della regione testa-collo per i quali non esiste una terapia specifica e risolutiva. La presenza in questi tumori di antigeni derivati dal virus (es. oncoproteine E7 ed E6) offre ampie prospettive di terapie mirate.

La tecnologia\* si basa su un vaccino genetico in cui il gene di E7 è fuso con quello codificante una variante della proteina vegetale 'saporina' di *Saponaria officinalis*. L'effetto è una migliore presentazione dell'antigene tumorale al sistema immunitario, che determina la regressione delle lesioni cancerose in due modelli murini differenti (di cui uno ortotopico per i tumori testa-collo), in particolare dopo somministrazione intra-tumore.

L'immunoterapia anti-cancro è in uso clinico da pochi anni con sorprendenti risultati. Essendo circa il 5% di tutti i tumori imputabile ad infezione da HPV, ed essendo disponibili sul mercato solo due vaccini preventivi, si ipotizza che il mercato di riferimento per le imprese farmaceutiche produttrici di vaccini terapeutici potrebbe essere rappresentato da centinaia di milioni di persone. In particolare nei Paesi in via di sviluppo, in assenza di procedure di screening e sorveglianza, l'immunoterapia può essere il modo più efficace per arginare la malattia. La tecnologia, collocata nell'area dell'immunoterapia dei tumori da infezione da HPV, è concettualmente estendibile ad altri tumori con un antigene specifico associato.

Tra le attività svolte e in corso: combinazioni con immuno-, radio-, chemio-terapia. Studio dei meccanismi cellulari e molecolari alla base dell'attività del vaccino. Studio della validità del vaccino in forma proteica prodotta in sistemi vegetali.

\*Brevetto europeo ENEA, IFO/IRE, Università dell'Aquila, Franconi R., Massa S., Venuti A., Spanò L. 'Vaccines based on genetic chimera of viral and/or tumoral antigens and plant proteins'. EP n. 2456785 Notifica in Italia, Francia, Germania.

## Poster N. 9

### **GENERAZIONE DI UN NUOVO ANTICORPO MONOCLONALE ANTI-VEGFR-1 CON POTENZIALE ATTIVITÀ ANTI-METASTATICA MEDIANTE UN TRIPLICE MECCANISMO D'AZIONE: INIBIZIONE DELL'INVASIVITÀ TUMORALE E DELL'ANGIOGENESI PATOLOGICA E MODIFICA DEL MICROAMBIENTE TUMORALE.**

**Grazia Graziani<sup>1</sup>, Federica Ruffini<sup>2</sup>, Lucio Tentori<sup>1</sup>, Manuel Scimeca<sup>3</sup>, Annalisa S. Dorio<sup>1</sup>, Maria Grazia Atzori<sup>1</sup>, Cristina M. Failla<sup>4</sup>, Veronica Morea<sup>5</sup>, Elena Bonanno<sup>3</sup>, Stefania D'Atri<sup>2</sup>, Pedro M. Lacal<sup>2</sup>.**

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina dei Sistemi, Università di Roma Tor Vergata; <sup>2</sup>Laboratorio di Oncologia Molecolare, "Istituto Dermopatico dell'Immacolata"-IRCCS; <sup>3</sup>Dipartimento di Biomedicina e Prevenzione, Università di Roma Tor Vergata; <sup>4</sup>Laboratorio di Immunologia Sperimentale, "Istituto Dermopatico dell'Immacolata"; <sup>5</sup>Istituto di Biologia Molecolare e Patologia, Consiglio Nazionale delle Ricerche.

#### **ABSTRACT**

Il VEGFR-1 è un recettore tirosin-chinasico espresso nell'endotelio, cellule tumorali e monociti/macrofagi, che è prodotto come una forma di membrana (mVEGFR-1) e una forma solubile (sVEGFR-1). Entrambe le forme interagiscono con potenti fattori angiogenici, quali VEGF-A e PlGF. sVEGFR-1 previene l'interazione dei ligandi con mVEGFRs, ma promuove anche l'adesione e migrazione delle cellule endoteliali. VEGF-A interagisce con VEGFR-1 e VEGFR-2, mentre PlGF si lega esclusivamente a VEGFR-1. Nonostante l'angiogenesi favorisca la progressione del melanoma, le terapie anti-angiogeniche, principalmente basate sull'inibizione del segnale indotto dall'interazione VEGF-A/VEGFR-2, sono risultate inefficaci e causano gravi effetti avversi dovuti all'inibizione dell'angiogenesi fisiologica. PlGF e mVEGFR-1 sono frequentemente espressi nel melanoma e ne promuovono l'invasività, contribuendo alla resistenza a terapie anti-VEGF-A. Inoltre, mVEGFR-1 svolge un ruolo rilevante solo nell'angiogenesi patologica. Pertanto, l'impiego di terapie che inibiscono selettivamente VEGFR-1 dovrebbe comportare una maggiore efficacia e minore tossicità.

In questo contesto, abbiamo generato un anticorpo monoclonale anti-VEGFR-1 (DI6F7) immunizzando topi BALB/C con un peptide che comprende 11 aminoacidi della sequenza del dominio II del recettore. DI6F7 non altera il legame di VEGF-A o PlGF a VEGFR-1 ma impedisce l'omodimerizzazione e conseguente attivazione del recettore. Inibisce in vitro: a) la migrazione di cellule umane endoteliali, mielomonocitiche e di melanoma in risposta a fattori che attivano mVEGFR-1; b) la migrazione di cellule endoteliali stimulate con sVEGFR-1; c) la vasculogenic mimicry in cellule di melanoma. Inoltre, DI6F7 cross-reagisce con VEGFR-1 umano e murino, permettendo la valutazione della sua attività anti-angiogenica e anti-tumorale anche in modelli murini in vivo. In tali modelli, DI6F7: a) è ben tollerato; b) inibisce l'angiogenesi indotta da VEGF-A; c) riduce fortemente la crescita del melanoma, inducendo apoptosi delle cellule tumorali e riducendo l'infiltrazione del tumore da parte dei monociti/macrofagi e la mobilitazione dei progenitori mieloidi ematopoietici.

In conclusione, l'anticorpo monoclonale specifico per VEGFR-1 da noi prodotto agisce mediante un meccanismo non-competitivo ed ha una potente attività antitumorale in vivo. L'anticorpo DI6F7, in seguito a umanizzazione, potrebbe avere un potenziale terapeutico nel melanoma metastatico, così come in altri tumori o condizioni patologiche nelle quali siano coinvolte molecole che legano VEGFR-1, come VEGF-A e PlGF.

## Poster N. 10

### **IMPATTO TRASLAZIONALE DELLE CELLULE STAMINALI TUMORALI DERIVATE DA PAZIENTE.**

**Lucia Ricci Vitiani<sup>1</sup>, Giovanna Marziali<sup>1</sup>, Roberto Pallini<sup>2</sup>, Mariachiara Buccarelli<sup>1</sup>, Mauro Biffoni<sup>1</sup>, Michele Signore<sup>1</sup>, Maurizio Martini<sup>2</sup>, Quintino Giorgio D'Alessandris<sup>2</sup>, Valentina Lulli<sup>1</sup>, Ramona Ilari<sup>1</sup>, Francesca Pedini<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>Dipartimento di Oncologia e Medicina Molecolare, Istituto Superiore di Sanità;<sup>2</sup> Istituto di Anatomia Patologica, e Istituto di Neurochirurgia, Università Cattolica del Sacro Cuore.

#### **ABSTRACT**

I tumori solidi sono generati e mantenuti da una piccola popolazione di cellule tumorali capaci di proliferare indefinitamente e di dare origine ad una progenie di cellule differenziate. Nel nostro laboratorio abbiamo isolato cellule indifferenziate da pazienti affetti da adenocarcinoma del colon-retto (CRC) o da glioblastoma (GBM). Queste cellule tumorali, validate per le loro "capacità staminali", possono essere mantenute in coltura in uno stato proliferativo e quando iniettate in topi immunodeficienti, sono in grado di riprodurre il tumore del paziente da cui sono state isolate. Le loro caratteristiche le rendono un modello affidabile per condurre studi, in vitro ed in vivo, sulla risposta al trattamento con diversi agenti chemioterapici e per identificare le "pathways" molecolari la cui alterazione determina la formazione e progressione del tumore. Sono inoltre, un modello utile per mettere a punto protocolli terapeutici combinati più efficaci perché in grado di colpire molecole chiave coinvolte nel controllo delle vie di segnalazione determinanti per la sopravvivenza e la proliferazione delle cellule tumorali.

Il CRC è una delle neoplasie maligne più frequenti e tra le prime cause di morte in tutto il mondo. Nonostante i progressi recenti, la prognosi del CRC in stadio avanzato rimane infausta a causa delle recidive e della formazione di metastasi. Mediante lo screening di cellule staminali di CRC (CRC-SCs) con una library d'inibitori delle proteine-chinasi, abbiamo dimostrato che le principali "pathways", determinanti per la sopravvivenza e la proliferazione cellulare, sono inibite da UCN-01, un derivato della staurosporina, che agisce interferendo prevalentemente con i meccanismi di riparo dei danni al DNA mediata da Chk1.

Il GBM è il tumore primitivo del sistema nervoso centrale più frequente e letale, caratterizzato da rapida crescita, alta invasività e resistenza alle terapie convenzionali. Analizzando il profilo dell'espressione dei geni e dei microRNA, le "pathways" attive e il profilo di espressione dei metaboliti mediante risonanza magnetica nucleare delle GSCs abbiamo identificato due sottogruppi di pazienti caratterizzati da diverso esito clinico, confermando che le osservazioni sulle GSCs forniscono importanti informazioni sulla patogenesi del GBM umano e potrebbero fornire utili indicazioni per la strategia terapeutica più appropriata.

## Poster N. 11

### **TERAPIA ANTITUMORALE DEL MELANOMA METASTATICO: SVILUPPO DI NANO-PARTICELLE IMMUNO-COMPETENTI IN GRADO DI VEICOLARE EFFICACEMENTE IL MIR126/126\* NELLE CELLULE BERSAGLIO.**

**Felicetti F<sup>1</sup>, Pedini F<sup>1</sup>, De Luca G<sup>1</sup>, Arasi MB<sup>1</sup>, Vitelli L<sup>1</sup>, Hassan HJ<sup>1</sup>, Biffoni M<sup>1</sup>, Carè A<sup>2</sup>, Felli N<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>Dipartimento Oncologia e Medicina Molecolare, Istituto Superiore di Sanità; <sup>2</sup>Centro di Riferimento Medicina di Genere, Istituto Superiore di Sanità.

#### **ABSTRACT**

Il melanoma in fase metastatica mostra un bisogno terapeutico non soddisfatto presentando quasi invariabilmente una prognosi infausta. Nonostante i notevoli progressi nelle terapie, la comparsa in tempi rapidi di recidiva resistente resta ancora la principale causa di morte. Una delle nuove frontiere in questo campo è rappresentata dalla combinazione di più composti capaci di contenere il processo di resistenza acquisita. A tale scopo ci siamo focalizzati sullo studio dei piccoli RNA non codificanti (miR), regolatori fisiologici di processi intracellulari e spesso deregolati nel cancro, individuando i miR126/126\* come onco-soppressori nel melanoma e dimostrando i meccanismi molecolari alla base della loro ridotta espressione nella trasformazione neoplastica. Al fine di utilizzare i miR126/126\* in combinazione con altri farmaci nella terapia del melanoma, abbiamo condotto lo “screening” in vitro di una libreria di 349 composti con effetto anti-neoplastico, molti dei quali già utilizzati in clinica o in fase avanzata di sviluppo pre-clinico. Tra questi il PIK-75 si è rivelato un forte induttore di apoptosi e la combinazione di questo farmaco con miR126/126\* e Vemurafenib ha migliorato significativamente la sua efficacia in esperimenti in vitro e in vivo. Gli studi degli ultimi anni nel campo della nanomedicina hanno individuato diversi vettori per il trasporto di molecole usate in terapia (polimeri di poli(lactide-co-glicolide), emulsioni di lipidi, liposomi, polimeri di polieterimmide), ma un sistema realmente in grado di veicolare e indirizzare in modo specifico i miR non è stato ancora individuato. Sulla base delle evidenze scientifiche da noi ottenute, la sfida che ci proponiamo di raccogliere è la messa a punto di un sistema in grado di veicolare efficacemente i miR126/126\* in una terapia combinata con i due farmaci, PIK-75 e Vemurafenib. A tale scopo, ma anche in vista di una possibile applicazione più ampia in oncologia, intendiamo produrre nanoparticelle in grado di proteggere gli acidi nucleici dall'azione degli enzimi plasmatici e ci proponiamo di renderle più selettive coniugandole ad anticorpi specifici per il tumore che si intende trattare (anti-CSPG4 nel caso del melanoma). Questa nanotecnologia trova applicazione in diversi tipi di terapie ed il suo sviluppo sarà proposto alle aziende presenti nella regione.

## Poster N. 12

### **ALLA RICERCA DI PARTNERSHIP: IMPLICAZIONI DELL'USO DI UNA SEQUENZA SEGNALE DI PIANTA PER INDURRE ANTICORPI NELLA PROFILASSI/TERAPIA DEI TUMORI DA PAPPILLOMAVIRUS UMANO (HPV) E PER LE MALATTIE INFETTIVE.**

**Massa S<sup>1</sup>, Paolini F<sup>2</sup>, Curzio G<sup>2</sup>, Cordeiro MN<sup>3</sup>, Illiano E<sup>4</sup>, Demurtas OC<sup>1</sup>, Franconi R<sup>4</sup>, Venuti A<sup>2</sup>.**

<sup>1</sup>ENEA Agenzia Nazionale per le Nuove Tecnologie, Energia e Ambiente, Dipartimento di Sostenibilità, Laboratorio di Biotecnologie; <sup>2</sup>Istituto Regina Elena HPV-UNIT , UOSD Immunologia dei tumori ed Immunoterapia; <sup>3</sup>Department of Genetics , Federal University of Pernambuco, LEMTE , Pernambuco, Brazil; <sup>4</sup>ENEA Agenzia Nazionale per le Nuove Tecnologie, Energia e Ambiente, Dipartimento di Sostenibilità, Laboratorio di Tecnologie Biomediche.

#### **ABSTRACT**

Le sequenze segnale (ss) guidano la secrezione delle proteine in tutte le cellule, dai batteri agli organismi superiori, anche se con somiglianze e differenze. La secrezione degli antigeni ha delle implicazioni immunologiche che ne determinano la 'visibilità' al sistema immunitario. Abbiamo esplorato con successo l'uso di una ss di pianta per migliorare la risposta anticorpale del sistema immunitario contro HPV (responsabile di infezioni e del 5% di tutti i tumori nell'uomo tra cui il cancro del collo dell'utero e vari tumori della regione della testa e del collo). In particolare, abbiamo usato la ss della proteina di inibizione della poligalatturonasi di fagiolo per 'guidare' due antigeni di HPV alla secrezione: una forma attenuata della proteina E7 di HPV16 (antigene associato a tumore nel carcinoma cervicale, E7GGG), e una regione della proteina di rivestimento L2, nota per la capacità di indurre un'immunità protettiva contro più tipi di HPV (L2 I-200). La presenza della ss a monte dei due geni singolarmente e della loro fusione (E7GGG/L2 I-200) ha determinato la secrezione delle corrispondenti proteine nel terreno di coltura di cellule modello di mammifero ed ha stimolato una risposta anticorpale specifica, robusta e duratura in topi immunizzati nel contesto di una vaccinazione a DNA\*.

\*Brevetto Franconi R, Massa S, Venuti A, 2016. 'Sequenza segnale di proteina vegetale come coadiuvante in vaccini a DNA'. Domanda n. 102016000131935 del 29-12-2016.

## Poster N. 13

### **LE “IFN-DC”: UN NUOVO FARMACO CELLULARE AUTOLOGO PER L’IMMUNOTERAPIA DEI TUMORI SVILUPPATO ALL’ISS E IN FASE DI SPERIMENTAZIONE CLINICA.**

**Santini SM<sup>1</sup>, Lapenta C<sup>1</sup>, Santodonato L<sup>2</sup>, D’Agostino G<sup>2</sup>, Donati S<sup>1</sup>, Montefiore E<sup>2</sup>, Carlei D<sup>2</sup>, Monque D<sup>2</sup>, Napolitano M<sup>2</sup>, Lattanzi L<sup>1</sup>, Urbani F<sup>1</sup>, Macchia I<sup>1</sup>, Spadaro F<sup>1</sup>, Aricò E<sup>2</sup>, Spada M<sup>3</sup>, Proietti E<sup>1</sup>, Cox MC<sup>4</sup>, Belardelli F<sup>5</sup>, Capone I<sup>1</sup>, Rozera C<sup>2</sup>.**

<sup>1</sup>Dipartimento di Oncologia e Medicina Molecolare, Istituto Superiore Di Sanità; <sup>2</sup>Servizio Grandi strumentazioni e Core facilities, Istituto Superiore Di Sanità; <sup>3</sup>Servizio biologico e per la gestione della sperimentazione animale, Istituto Superiore di Sanità; <sup>4</sup>Unità di Ematologia, Azienda Ospedaliera Sant'Andrea; <sup>5</sup>Istituto di Farmacologia Traslazionale, CNR.

#### **ABSTRACT**

Il nostro laboratorio ha dimostrato come l'IFN-ALFA sia in grado di indurre il rapido differenziamento dei monociti di sangue periferico in una nuova sottopopolazione di cellule dendritiche (IFN-DC), capace di promuovere efficacemente l'immunità di tipo cellulare. Le IFN-DC, rappresentano oggi un nuovo "farmaco cellulare", interamente sviluppato e caratterizzato presso l'Istituto Superiore di Sanità (ISS), protetto da brevetto e con promettenti prospettive d'impiego nell'immunoterapia di pazienti oncologici. La completa sicurezza e tollerabilità delle IFN-DC, prodotte presso la cell-factory dell' ISS (FabioCell), è stata dimostrata in un trial di fase I di chemio-immunoterapia in pazienti con melanoma avanzato, i cui risultati sono stati recentemente pubblicati .

Le IFN-DC sono in grado di fagocitare efficientemente cellule di linfoma follicolare (FL) apoptotiche, promuovendo una vigorosa risposta antitumorale in colture di linfociti autologhi provenienti da pazienti, caratterizzata da una massiva produzione di IFN-ALFA e l'attivazione/espansione dei linfociti NK e CD8 citotossici, con aumento dell'attività citolitica verso le cellule di linfoma.

Nonostante la sopravvivenza globale dei pazienti superi i 10 anni, il FL rimane una malattia incurabile che necessita dello sviluppo di nuove opzioni terapeutiche. La capacità delle IFN-DC di fagocitare le cellule linfomatose e stimolare una risposta verso antigeni linfoma-associati ha costituito un solido razionale per l'attivazione di un trial di fase I di "terapia intranodale" in pazienti con FL. L'immunoterapia è basata su cicli di somministrazione in un nodulo linfomatoso di basse dosi di anti-CD20 (rituximab), seguita dall'inoculo di IFN-DC autologhe. Attualmente, sono stati arruolati sette pazienti in stadio II-IV in fase indolente della malattia, con almeno una localizzazione superficiale del linfoma, così da permettere la somministrazione intralesionale del trattamento. I risultati preliminari hanno mostrato risposta clinica in 4 su 5 pazienti attualmente valutabili. Tre pazienti hanno mostrato remissione completa evidenziata con PET-TC. In aggiunta a questo studio clinico ancora in corso, sono in fase di sviluppo protocolli di “caricamento” in vitro di IFN-DC con lisati immunogenici di cellule tumorali autologhe o proteine ricombinanti di antigeni tumorali in diversi modelli di tumori umani, al fine di sviluppare vaccini terapeutici, da utilizzare anche in combinazione con altri farmaci antitumorali di vecchia e nuova generazione.

**IFN- $\alpha$  POTENZIA GLI EFFETTI ANTITUMORALI DIRETTI E IMMUNOMEDIATI DEI FARMACI EPIGENETICI VERSO LE CELLULE METASTATICHE E STAMINALI DEL TUMORE AL COLON-RETTO.**

**Maria Buoncervello<sup>1</sup>, Stefania Parlato<sup>1</sup>, Giulia Romagnoli<sup>1</sup>, Alessandra Fragale<sup>1</sup>, Irene Canini<sup>1</sup>, Elena Toschi<sup>1</sup>, Mariachiara Buccarelli<sup>1</sup>, Mario Falchi<sup>2</sup>, Adele De Ninno<sup>3</sup>, Rosa Molfetta<sup>4</sup>, Daniele Macchia<sup>1</sup>, Massimo Spada<sup>1</sup>, Mauro Biffoni<sup>1</sup>, Rossella Paolini<sup>4</sup>, Eugenio Martinelli<sup>5</sup>, Alessandro Sgambato<sup>6</sup>, Donatella Lucchetti<sup>6</sup>, Imerio Capone<sup>1</sup>, Filippo Belardelli<sup>1</sup>, Luca Businaro<sup>3</sup>, Lucia Ricci Vitiani<sup>1</sup>, Lucia Gabriele<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>Dipartimento di Oncologia e Medicina Molecolare, Istituto Superiore di Sanità; <sup>2</sup>Centro Nazionale AIDS, Istituto Superiore di Sanità; <sup>3</sup>Istituto di Fotonica e Nanotecnologie, CNR; <sup>4</sup>Istituto Pasteur, Fondazione Cenci Bolognetti, Università di Roma Sapienza; <sup>5</sup>Dipartimento di Ingegneria Elettronica, Università di Roma Tor Vergata; <sup>6</sup>Istituto di Patologia Generale, Università Cattolica del Sacro Cuore.

**ABSTRACT**

Le alterazioni epigenetiche, tra cui le modificazioni istoniche e la metilazione errata del DNA, contribuiscono a governare la progressione del tumore al colon-retto (CRC). Le aberrazioni epigenetiche possono essere farmacologicamente revertite dagli inibitori delle deacetilasi istoniche (HDACi), quali la romidepsina (R) e dagli inibitori delle DNA metiltransferasi (DNMTi), come l'azacitidina (A), che se utilizzati in combinazione con agenti immunomodulatori possono aumentare notevolmente il loro potenziale terapeutico. In questo studio, dimostriamo che la combinazione di R e A con l'IFN- $\alpha$  (I), definita ARI, presenta un elevato potere terapeutico agendo in modo preferenziale sulle cellule tumorali metastatiche e sulle cellule tumorali staminali di CRC, tramite il controllo dei principali pathways di morte, sopravvivenza cellulare e apoptosi immunogenica. La rilevante attività antitumorale di ARI si deve anche al potenziamento dei segnali immunologici mediati dalle cellule dendritiche (DCs). Le DCs generate *in vitro* in presenza di IFN- $\alpha$  (IFN-DCs) sono caratterizzate da una elevata capacità di fagocitare le cellule tumorali e presentare gli antigeni tumorali ai linfociti T. La capacità di interazione tra IFN-DCs e cellule tumorali trattate con ARI è stata estesamente studiata mediante la generazione di una innovativa piattaforma di microfluidica capace di ricreare l'ambiente tumorale in 3D. In questo microambiente riprodotto tramite un approccio di nanotecnologia, è stato possibile valutare, anche con l'utilizzo di algoritmi matematici, il movimento altamente efficiente delle IFN-DCs verso le cellule tumorali trattate e i successivi eventi di fagocitosi. Inoltre, questa piattaforma ha permesso di studiare alcuni tra i fattori più importanti coinvolti nel crosstalk tra IFN-DCs e cellule tumorali, quali l'asse CXCL12-CXCR4, dimostrando così l'utilità di questo strumento innovativo nel valutare l'efficacia di approcci immunoterapici. Nel complesso, i risultati di questo studio aprono una nuova frontiera sull'efficacia dell'IFN- $\alpha$  in associazione con farmaci epigenetici come un nuovo e promettente approccio terapeutico per il CRC.

## Poster N. 15

### **ALLA RICERCA DI PARTNERSHIP: BIOPRODUZIONE DI VACCINI E BIOFARMACI AD ALTO VALORE AGGIUNTO IN COLTURE DI RADICI.**

**Silvia Massa<sup>1</sup>, Francesca Paolini<sup>2</sup>, Aldo Venuti<sup>2</sup>, Rosella Franconi<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>ENEA, Dipartimento Sostenibilità, Centro di Ricerca 'Casaccia'; <sup>2</sup> Istituto Nazionale Tumori Regina Elena - HPV Unit, UOSD Immunologia Oncologica e Immunoterapia, Dipartimento RIDAIT.

#### **ABSTRACT**

Per la produzione di biomolecole utili alla salute, si può prevedere l'impiego di tessuti vegetali ingegnerizzati, utilizzando le piante come fabbriche cellulari di composti d'interesse di qualità pari o superiore a batteri, lieviti, cellule d'insetto e mammifero. I sistemi di espressione vegetali sono intrinsecamente sicuri (non veicolano patogeni per l'uomo) e rappresentano un sistema alternativo, con notevoli potenzialità, per produrre proteine o metaboliti in quantità illimitate, a costi contenuti o in caso di inadeguatezza del sistema produttivo classicamente utilizzato. FDA ha approvato nel 2012 'taliglucerasse', farmaco prodotto in cellule di carota ingegnerizzate sviluppato dalla biotech israeliana Protalix (poi acquisita da Pfizer) proprio a seguito di una contaminazione della linea di produzione in cellule di mammifero.

In questo lavoro è stato considerato l'uso delle colture di radice, una piattaforma robusta che combina i benefici dei sistemi vegetali con quelli delle colture cellulari (es. sterilità e contenimento).

Una forma attenuata dell'oncogene E7 di HPV16, è stata espressa in colture di radici di pomodoro anche come fusione con un carrier di origine vegetale\*. Gli estratti ottenuti dai cloni radicali positivi per l'espressione dell'antigene (1 ug di antigene/ dose) sono efficaci in un modello animale in grado di mimare la tumorigenesi da HPV: dati preliminari indicano che l'antigene somministrato in estratto (soprattutto se in combinazione con una somministrazione dello stesso come DNA) determina un blocco della crescita di tumori indotti sperimentalmente. Test immunologici sono in corso per caratterizzare la risposta immune correlata con l'effetto biologico osservato.

Anche il gene dell'enzima deramificante il glicogeno è stato espresso nello stesso sistema ai fini di una terapia enzimatica di sostituzione per la malattia rara 'Glicogenosi di tipo III'.

I nostri studi sono focalizzati sullo sviluppo di tecnologie sicure e a basso costo (come i sistemi di espressione vegetale e i vaccini genetici) per la produzione di biofarmaci utilizzando le piante anche come fonte di molecole adiuvanti, particolarmente interessanti per futuri sviluppi clinici.

\*Brevetto europeo ENEA, IFO/IRE, Università dell'Aquila, Franconi R, Massa S, Venuti A, Spanò L. 'Vaccines based on genetic chimera of viral and/or tumoral antigens and plant proteins'. EP n. 2456785 Notifica in Italia, Francia, Germania.

## Poster N. 16

### **MATRICI DI BIOSENSORI ELETTROCHIMICI PER RILEVAZIONE DI MARCATORI TUMORALI MEDIANTE DISPOSITIVI “POINT OF CARE”.**

**Signori E<sup>1</sup>; Giovannini D<sup>1,2</sup>; Contini G<sup>3</sup>; Maiolo L<sup>4</sup>; Pecora A<sup>4</sup>.**

<sup>1</sup>CNR-Ist. Farmacologia Traslazionale; <sup>2</sup>IRCCS Fondazione Bietti; <sup>3</sup>CNR-Ist. Struttura della Materia; <sup>4</sup>CNR-Ist. Microelettronica e Microsistemi.

#### **ABSTRACT**

Ogni anno più di 14 milioni di persone si ammalano di cancro. Nel 2015 il numero di decessi causati da tumore è stato pari al 17% delle morti causate da malattie. Lo sviluppo di nuove metodologie per la diagnosi precoce e il monitoraggio di tale patologia può rappresentare un'importante strategia per migliorarne drasticamente l'esito.

Attualmente la diagnosi si basa sull'analisi citologica e istologica di cellule e tessuti tumorali o sulla rilevazione di singoli biomarcatori. I biomarcatori del tumore associati vengono rilevati tramite saggi immunologici convenzionali, quali ELISA test. Sebbene questi test siano sensibili e specifici richiedono lunghi tempi di elaborazione, costi elevati e frequentemente utilizzano un solo biomarcatore come indicatore di malattia. Come alternativa a questi saggi sono stati recentemente sviluppati biosensori elettrochimici per la rilevazione di biomarcatori in campioni clinici. Tuttavia tali dispositivi non sono attualmente arrivati in commercio.

A tale scopo, proponiamo di sviluppare una matrice di biosensori elettrochimici miniaturizzati, per la rilevazione di biomarcatori tumorali a scopo diagnostico, prognostico e monitoraggio terapeutico. La matrice sarà costituita da un numero definito di biosensori, ciascuno composto da un recettore di legame per l'analita e un'unità per la trasduzione elettrochimica del segnale. Ciascun biosensore sarà progettato per rispondere ed identificare un solo analita. La specificità di risposta verrà assicurata mediante uso di anticorpi recettori del segnale. Questi dispositivi presentano i vantaggi di essere: sensibili, a basso costo, con tempi di risposta rapidi, rilevazione simultanea di più marcatori e applicabili come dispositivi “Point-of-Care”.

Per lo sviluppo di tale progetto è stato costituito, presso l'Area di Ricerca del CNR di Roma Tor Vergata, un network scientifico composto da tre laboratori di ricerca afferenti a tre diversi Istituti: Istituto di Farmacologia Traslazionale, Istituto di Microelettronica e Microsistemi e Istituto di Struttura della Materia. I laboratori hanno all'attivo una collaborazione di successo in progetti di ricerca in campo biomedicale, mediante l'integrazione di competenze di biomedicina, struttura della materia e sensoristica. Tali conoscenze consentono un approccio multidisciplinare e conferiscono ai progetti caratteristiche di originalità e innovazione adatte al trasferimento tecnologico.

## Poster N. 17

### **PRODUZIONE E QUANTIFICAZIONE DI ESOSOMI FLUORESCENTI PER LO SVILUPPO DI UNA TERAPIA MIRATA CONTRO CELLULE STAMINALI TUMORALI.**

**Isabella Parolini, Cristiana Zanetti, Carla Buccione, Mauro Valtieri.**

Dipartimento di Oncologia e Medicina Molecolare, Istituto Superiore di Sanità.

#### **ABSTRACT**

Gli esosomi sono “naturalmente” veicoli biologici di acidi nucleici, proteine e lipidi e rappresentano una piattaforma versatile per il trasporto ed il rilascio di sostanze terapeuticamente attive nella cura dei tumori. Tale trasporto può essere specificatamente indirizzato a cellule di tessuti bersaglio in virtù di un tropismo selettivo degli esosomi esercitato da caderine/integrine in essi contenute.

Attualmente le procedure di raccolta degli esosomi producono il co-isolamento con altre popolazioni vescicolari riducendone la biodisponibilità. Su tali procedure sono stati basati tutti gli studi preclinici finora condotti sugli esosomi quali efficaci veicoli terapeutici. Abbiamo recentemente sviluppato un metodo di marcatura metabolica basato sull'utilizzo di un precursore fluorescente di acidi grassi (BodipyC16) che porta alla secrezione di vescicole di natura endosomiale (esosomi) fluorescenti. Ciò consente una caratterizzazione e quantificazione diretta in citofluorimetria degli esosomi ed una misura del loro trasferimento alle cellule bersaglio.

Tale procedura può essere applicata allo studio dello sviluppo del tumore polmonare come malattia di organo o sistema.

Studi precedenti sull'effetto antitumorale di esosomi di cellule staminali mesenchimali caricati con Paclitaxel hanno indicato l'alta potenzialità di queste vescicole nella cura del tumore del polmone. Ciononostante allo stato attuale il caricamento post-isolamento degli esosomi con un agente terapeutico implica una manipolazione tecnica che comporta un significativo cambiamento nella struttura e contenuto della membrana esosomiale, alterandone la capacità di veicolazione e quindi l'efficacia delle informazioni molecolari in essi contenute.

Cellule mesenchimali derivanti da polmone possono essere trattate con paclitaxel quindi marcate con BodipyC16 per produrre esosomi/C16/PTX. Tali esosomi verranno incubati con cellule staminali di tumore polmone e sarà possibile valutare: i) interazione con cellule tumorali in vitro, ii) citotossicità, iii) efficacia terapeutica in modello murino.

La produzione di esosomi fluorescenti naive contenenti chemioterapici consentirà la realizzazione di una terapia indirizzata esclusivamente a cellule staminali tumorali. Inoltre la disponibilità di una metodologia di marcatura selettiva e di quantificazione degli esosomi consentirà di ottimizzare dose chemioterapico/effetti antitumorali come descritto nel progetto: L.R.13/2008 2 “Terapia mirata contro cellule staminali tumorali: potenziamento di attività chemioterapica di paclitaxel e 5FU mediante incorporazione in nanovesicole biologiche (esosomi)”.

**Poster N. 18**

## **STUDI DI MEDICINA TRASLAZIONALE IN CAMPO ONCOIMMUNOLOGICO.**

**Signori E<sup>1</sup>, Giovannini D<sup>1,2</sup>.**

<sup>1</sup>CNR-Ist. Farmacologia Traslazionale; <sup>2</sup>IRCCS Fondazione Bietti.

### **ABSTRACT**

Il Laboratorio di Patologia Molecolare e Oncologia Sperimentale (LaPMOS) del CNR-IFT si occupa di ricerche di medicina traslazionale in campo Oncoimmunologico. Gli studi riguardano l'identificazione di biomarcatori di patologie tumorali e infiammatorie; lo sviluppo di protocolli preclinici per la veicolazione di molecole terapeutiche mediante elettropermeabilizzazione (DNA plasmidico con sequenze antigeniche e/o immunomodulatorie, somministrato in combinazione o meno a chemioterapici) in modelli di patologie umane; la validazione di nuovi dispositivi e materiali da usare nella pratica clinica.

Recentemente il LaPMOS, in collaborazione con lo stabilimento Plaisant di Castel Romano, ha ottimizzato un modello murino di cancro del colon indotto chimicamente. Il modello ripercorre tutte le tappe di carcinogenesi del colon presenti nell'umano. Questo modello rappresenta una piattaforma ideale per lo studio della progressione tumorale da un punto di vista molecolare, per la ricerca di biomarcatori tumorali. Rappresenta altresì un modello indispensabile per determinare gli effetti anti-tumorali di strategie immunoterapiche in topi immunocompetenti.

Grazie alla adesione alla COST Action TD1104, in collaborazione con Istituti di Ricerca esteri (CONICET-Argentina, Inst Oncology Ljubljana-Slovenia, CNRS IPBS-Francia) il LaPMOS sta sviluppando studi traslazionali per il technology transfer di vaccini genetici e molecole immunomodulanti veicolati con elettroporazione. Gli studi sono condotti in pazienti veterinari immunocompetenti che sviluppano tumori spontanei con le stesse caratteristiche umane.

In collaborazione con Istituto di Struttura della Materia e con Istituto di Microelettronica e Microsistemi del CNR-Tor Vergata sta realizzando biosensori elettrochimici per identificazione di marcatori di patologie infiammatorie.

## Poster N. 19

### **ALLA RICERCA DI PARTNERSHIP: ONCOPROTEINE VIRALI RICOMBINANTI PER LO SVILUPPO DI NUOVI KIT PER LA DIAGNOSI DI TUMORI CORRELATI AL VIRUS DEL PAPILOMA UMANO (HPV).**

**Elena Illiano<sup>1</sup>, Maria Federica Caso<sup>1</sup>, Aldo Venuti<sup>2</sup>, Rosella Franconi<sup>3</sup>, Antonio Rinaldi<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>NANOFABER s.r.l.; <sup>2</sup> Istituto Nazionale Tumori Regina Elena - HPV Unit, UOSD Immunologia Oncologica e Immunoterapia, Dip.to RIDAIT; <sup>3</sup> ENEA, Casaccia R.C., Dipartimento Sostenibilità.

#### **ABSTRACT**

Il virus del papilloma umano è l'agente causale del tumore del collo dell'utero ed è implicato in alcuni tumori anali e del cavo orale.

La sovra-espressione delle oncoproteine E6 ed E7 è necessaria per la progressione verso lo sviluppo tumorale e questo offre l'opportunità di sviluppare test per distinguere le infezioni transitorie da quelle orientate verso il processo di carcinogenesi. Di recente, la proteina E6 di HPV16 è stata identificata come un biomarcatore precoce in quanto la presenza di anticorpi contro di essa antecede di 10 anni la diagnosi di tumori orofaringei (ed anali).

L'oncoproteina E6 in forma ricombinante è estremamente difficile da produrre. Abbiamo sviluppato una nuova procedura\* per ottenere la proteina E6 (di HPV-16, -18, -11) priva di mutazioni, in condizioni native, in forma stabile, solubile, biologicamente attiva.

Il nostro obiettivo è lo sviluppo di nuovi kit diagnostici, affidabili, di rapida e semplice esecuzione, a basso costo, per la diagnosi precoce dei tumori associati a HPV (che rappresentano il 4.8% di tutti i tumori, ad eziologia virale, a livello globale).

Tali pannelli diagnostici utilizzeranno una tecnologia innovativa, di proprietà ENEA e licenziata in esclusiva a Nanofaber srl, basata sulla produzione di una superficie polimerica ottenuta mediante elettrospinning per sviluppare microarray a bassa densità adatta a saggi immuno-diagnostici.

\*Brevetto Italiano n° 1379103 (30/08/2010): Franconi R., & Illiano E. (2007). 'Proteina E6 di HPV ricombinante, solubile e in forma biologicamente attiva, procedimento per la sua preparazione, usi e vaccini terapeutici che la comprendono.' (Licenza esclusiva Nanofaber srl)

**LA TRASCRITTASI INVERSA (RT) CODIFICATA DAI RETROTRANSPSONI LINE-I: UN NUOVO INFLUENTE PARAMETRO NELLA GENESI, DIAGNOSI PRECOCE E TERAPIA DEL CANCRO.**

**Ilaria Sciamanna<sup>1</sup>, Paola Sinibaldi-Vallebona<sup>2,3</sup>, Annalucia Serafino<sup>3</sup>, Cristina Bellisai<sup>1,2</sup>, Steno Sentinelli<sup>4</sup>, Rodolfo Lorenzini<sup>1</sup>, Michele Gallucci<sup>4</sup> and Corrado Spadafora<sup>3</sup>.**

<sup>1</sup>Centro Nazionale per la Sperimentazione ed il Benessere Animale, Istituto Superiore di Sanità;

<sup>2</sup>Dipartimento di Medicina Sperimentale e Chirurgia, Università "Tor Vergata"; <sup>3</sup>Istituto di Farmacologia Traslazionale, CNR; <sup>4</sup>I.F.O. Regina Elena, UOC Anatomia Patologica /Urologia.

**ABSTRACT**

Circa il 45% del genoma umano è costituito da retrotrasposoni. Questi codificano l'enzima trascrittasi inversa (RT) che permette la loro retrotrasposizione utilizzando intermedi di RNA. I retrotrasposoni LINE-I costituiscono una famiglia altamente espressa nei tessuti proliferanti, non differenziati, incluse le cellule embrionali e tumorali. Al contrario, l'espressione di LINE-I è praticamente assente nelle cellule differenziate. Una correlazione tra elevata attività di RT e tumorigenesi è stata dimostrata sia nel nostro che in numerosi altri laboratori. In particolare, abbiamo dimostrato che l'inibizione dell'RT in linee cellulari tumorali, sia tramite silenziamento genico (RNAi) che farmacologico, utilizzando l'Efavirenz, un inibitore non nucleosidico dell'RT correntemente utilizzato in terapia di pazienti affetti da HIV, è in grado di inibire significativamente e in maniera reversibile la proliferazione cellulare e di indurre il differenziamento. Gli stessi risultati sono stati ottenuti in vivo su modelli murini xenografts di carcinoma del colon, prostata, polmone e di melanoma. L'attività antitumorale dell'efavirenz è stata inoltre dimostrata in uno studio clinico di Fase II su pazienti affetti da carcinoma alla prostata metastatico ormone-resistente (mCRPC). Recentemente abbiamo prodotto un anticorpo monoclonale, altamente specifico, diretto contro la proteina ORF2 (ORF2p) di LINE-I umano, che codifica per la RT, ed abbiamo confermato un'alta espressione di ORF2p sia in varie linee cellulari tumorali che in tessuti neoplastici umani di colon, prostata, polmone e mammella. Abbiamo inoltre osservato che ORF2p è fortemente espressa nelle lesioni pre-neoplastiche del colon e della prostata. Studiando il coinvolgimento dell'RT nella genesi e progressione del cancro, abbiamo identificato un meccanismo di tumorigenesi attraverso il quale l'RT di LINE-I interferisce con la biogenesi di una sottopopolazione di microRNA alterando globalmente il profilo trascrizionale e favorendo l'instaurarsi di un fenotipo "cancro-permissivo". Al contrario, l'inibizione di RT nelle cellule tumorali ristabilisce il normale profilo dei microRNA riportando la cellula alle normali funzioni genomiche. Questi dati dimostrano che l'RT di LINE-I è un fattore cruciale nella "transizione" del trascrittoma cellulare da normale a tumorale e suggeriscono un suo ruolo fondamentale nella genesi del cancro. L'RT di LINE-I rappresenta pertanto un promettente target terapeutico anti-tumorale ed un potenziale biomarcatore precoce della tumorigenesi.

## Poster N. 21

### **TECNOLOGIE BASATE SU DISPOSITIVI MICROFLUIDICI PER LO STUDIO DELLE INTERAZIONI TRA CELLULE DEL CANCRO E DEL SISTEMA IMMUNITARIO NELLE CHEMIO E IMMUNOTERAPIE.**

**Valeria Lucarini<sup>1</sup>, Adele De Ninno<sup>2,3</sup>, Carla Buccione<sup>1</sup>, Erika Vacchelli<sup>4,8,9,10,11</sup>, Giovanna Ziccheddu<sup>1</sup>, Francesca Peschiaroli<sup>1</sup>, Sara Andreone<sup>1</sup>, Francesca Romana Bertani<sup>2</sup>, Annamaria Gerardino<sup>2</sup>, Arianna Mencattini<sup>5</sup>, Pamela Mozetic<sup>6</sup>, Marcella Trombetta<sup>6</sup>, Corrado Di Natale<sup>5</sup>, Claudia Afferni<sup>7</sup>, Guido Kroemer<sup>4,8,9,10,11</sup>, Eugenio Martinelli<sup>5</sup>, Alberto Rainer<sup>6</sup>, Giovanna Schiavoni<sup>1</sup>, Luca Businaro<sup>2</sup>, Fabrizio Mattei<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>Dipartimento di Oncologia e Medicina Molecolare, Istituto Superiore di Sanità; <sup>2</sup>Istituto di Fotonica e Nanotecnologie, Consiglio Nazionale delle Ricerche; <sup>3</sup>Dipartimento di Ingegneria Civile e Scienze computazionali, Università di Roma Tor Vergata; <sup>4</sup>Metabolomics and Cell Biology Platforms, Gustave Roussy Cancer Campus, Villejuif, France; <sup>5</sup>Dipartimento di Ingegneria Elettronica, Università di Roma Tor Vergata; <sup>6</sup>Unità di Ingegneria dei Tessuti, Università Campus Bio-Medico di Roma; <sup>7</sup>Centro Nazionale Ricerca e Valutazione Preclinica e Clinica dei Farmaci, Istituto Superiore di Sanità; <sup>8</sup> Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris, France; <sup>9</sup> Equipe I I labellisé Ligue Nationale contre le Cancer, Centre de Recherche des Cordeliers, Paris, France; <sup>10</sup> Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Paris, France; <sup>11</sup> Université Pierre et Marie Curie, Paris, France.

#### **ABSTRACT**

Le cellule tumorali interagiscono con il sistema immunitario a più livelli e in diversi scenari spaziotemporali. Al fine di sviluppare efficacemente le strategie terapeutiche anti-tumorali, è fondamentale una profonda conoscenza del cross-talk tra cellule tumorali e cellule immunitarie. In questo contesto, le piattaforme microfluidiche basate su nanotecnologie rappresentano uno strumento innovativo per studiare le comunicazioni tra cancro e sistema immunitario, consentendo uno stretto controllo del microambiente e un monitoraggio in tempo reale di interazioni tra differenti subsets cellulari impiegando quantità minime di cellule e farmaci. Utilizzando chip microfluidici basati su liquidi e basati su Matrigel, abbiamo studiato il cross-talk tra cellule immunitarie e cellule tumorali in tre differenti settings terapeutici: i) la risposta di un singolo paziente ad una chemioterapia definita; ii) l'efficacia anti-tumorale di un regime combinato di trattamenti rispetto ai singoli farmaci, e iii) il comportamento di un definito subset cellulare immunitario dopo immunoterapia. Nel loro insieme, questi studi evidenziano il potenziale delle piattaforme microfluidiche come ponte di collegamento tra studi convenzionali in vitro e in vivo con applicazioni cliniche per lo sviluppo di nuovi protocolli chemio/immunoterapeutici e per la medicina personalizzata.

## Poster N. 22

### OPEN SCIENCE E BIG DATA A SUPPORTO DELLA SANITÀ PUBBLICA NELLE SFIDE DELLA RICERCA ONCOLOGICA .

Mauro Grigioni<sup>1</sup>, Alessandro Palombo<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Centro Nazionale Tecnologie Innovative per la Sanità Pubblica, Istituto Superiore di Sanità;

<sup>2</sup>Dipartimento di Medicina Sperimentale, Sapienza Università di Roma.

#### ABSTRACT

L'ISS, come ente di ricerca e controllo vigilato dal Ministero della Salute, ha l'interesse principale di migliorare le opportunità di diagnosi e terapia, minimizzando ove possibile i costi per il SSN, mettendo a sistema tecnologie innovative come ad esempio i BIG DATA.

Pertanto, l'ISS riconosce come prioritario l'obiettivo della Open Science, che prevede la condivisione sia dei risultati delle ricerche, sia dei dati ad esse associati.

In prospettiva, questo concetto potrà portare beneficio per i cittadini, moltiplicando le opportunità di scoperta scientifica o anche solo di razionalizzazione dell'offerta sanitaria.

L'interesse dell'ISS si può quindi incontrare con quello di realtà aziendali che si interessano di Web Analytics e di Big Data, sfruttando al meglio l'enorme mole di dati ormai disponibile.

Il punto di vista è però quello della Sanità Pubblica e cioè un servizio non polarizzato da interessi commerciali e comunque referenziato da un organismo terzo, utilizzando Tecnologie Innovative al fine di ottenere risultati di valore con costi economici e temporali ridotti e in grado di stimolare analisi robuste su grandi moli di dati, rispondendo dinamicamente al mondo della ricerca clinica.

Ritenendo che per un nuovo progetto che voglia intervenire in tali complessi ambiti sia decisivo coniugare gli aspetti scientifico-metodologici con quelli organizzativo-procedurali, si intende promuovere lo sviluppo di iniziative e progetti orientati a migliorare la cooperazione tra industria, ricerca di base, ricerca clinica e medicina in oncologia, attraverso l'innovazione di processo ottenibile grazie alla implementazione dell'approccio Big Data.

Un tale prodotto/processo innovativo è una opportunità, oltre che per le aziende, anche per l'intero settore di riferimento, realizzando un workflow istituzionale finalizzato al miglioramento delle capacità di diagnosi e terapia oncologica, sulla base di dati generati sia da sistemi locali, sia da banche dati internazionali. Esso costituirebbe altresì l'occasione di far nascere un prodotto scientifico d'avanguardia sul territorio laziale sotto l'egida istituzionale di un ente terzo. Il successo della iniziativa, e quindi anche il ritorno dell'investimento effettuato, sarà legato proprio alla capacità di creare e sostenere un tale modello di cooperazione scientifico tecnologica, e di articolarlo in un flusso operativo condiviso tra le organizzazioni coinvolte.

## Poster N. 23

### LA SYSTEMS BIOLOGY E LE NUOVE SFIDE DELLE TECNOLOGIE ICT PER IL MIGLIORAMENTO DELLA DIAGNOSTICA IN ONCOLOGIA.

**Morena La Monaca.**

Project Consulting s.r.l.

#### **ABSTRACT**

La Systems Biology è una disciplina imperniata sulla ridefinizione del concetto di sistema biologico, inteso come unità integrata di enti osservabili collegati tra loro attraverso relazioni quantificabili, capace di esprimere una funzione biologica dotata, entro certi limiti, di apparente autonomia. L'approccio di SB tende a promuovere una visione organica che sappia coniugare prospettive di causalità complesse (sia bottom-up che top-down) che si avvicinino al concetto di causalità probabilistica. La SB ritiene che il flusso di informazione che dirige i processi osservati dipenda dalla concertazione di segnali molecolari (DNA, proteina, lipidi etc..) e fisici (parametri di stato del sistema: forze, vincoli termodinamici), interagenti in accordo ad una dinamica non-lineare.

Parallelamente all'affermazione della disciplina di System Biology, nell'ambito del vasto campo d'indagine relativo alla diagnosi ed alla ricerca oncologica, anche le tecnologie di imaging biomedicale hanno raggiunto un notevole livello di approfondimento ed è ormai affermata la grande utilità diagnostica delle tecniche di estrazione delle informazioni "nascoste" nelle immagini, relative ad un determinato soggetto, e ottenute con tecniche diverse e non immediatamente confrontabili.

Applicare metodologie e tecniche innovative allo studio dei tumori e alla loro diagnosi implica, dunque, non solo gestire una base dati eterogenea davvero ampia, ma anche applicare criteri di analisi di grande complessità; alla complessità "storica" determinata dalla gestione ed elaborazione di enormi volumi di dati si accompagnano nuovi "livelli di complessità" generati, da un lato, dalla "information fusion" tipica dell'approccio di Systems Biology (che necessita dell'integrazione di dati eterogenei e non strutturati, provenienti dall'osservazione del fenomeno biologico a diversi livelli di "scala biologica" - dal sub cellulare all'organismo), e dall'altro dalla estrazione di informazioni nascoste, che possono essere individuate solo mediante tecniche di "pattern recognition" ed interpretate mediante logiche di data mining. Da diversi anni La Project Consulting ha deciso di affrontare tale complessità investendo da un lato nell'acquisizione di know-how sulle più moderne metodiche di data assimilation, pattern recognition, data mining e Big Data, e dall'altro partecipando, sin dal 2010, ad importanti progetti scientifici nel settore dell'oncologia, in collaborazione con il Dipartimento di Medicina Sperimentale della Sapienza e con l'Istituto Superiore di Sanità.

## Poster N. 24

### HIGH-CONTENT IMAGING PER LA VALIDAZIONE DI FARMACI ANTI-TUMORALI E NUOVI BERSAGLI TERAPEUTICI.

**Italia Anna Asteriti<sup>1,2</sup>, Annalisa Verrico<sup>1</sup>, Valeria Colicchia<sup>3</sup>, Giuseppe Giannini<sup>3</sup>, Pietro Cirigliano<sup>4</sup>, Giulia Guarguaglini<sup>1,2</sup>, Patrizia Lavia<sup>1,2</sup>, Francesca Degrassi<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>Istituto di Biologia e Patologia Molecolari (IBPM), Consiglio Nazionale delle Ricerche, c/o Sapienza Università di Roma; <sup>2</sup>Nikon Reference Center for Central-Southern Italy at IBPM; <sup>3</sup>Dipartimento di Medicina Molecolare, Sapienza Università di Roma; <sup>4</sup>Nikon Instruments S.p.A., Campi Bisenzio, Firenze.

#### ABSTRACT

L'imaging cellulare offre la possibilità di apprezzare fenomeni complessi nella loro dinamica spazio-temporale. La videoregistrazione di singole cellule, inoltre, permette di visualizzare eventi stocastici ed eterogeneità nella risposta cellulare a molecole o terapie anti-tumorali, che non sarebbero altrimenti apprezzabili con metodologie convenzionali. Nella ricerca oncologica approcci avanzati di imaging si stanno quindi rivelando essenziali per la loro capacità di integrare diversi livelli di informazione nello studio di farmaci e di nuovi potenziali bersagli terapeutici.

Nel nostro laboratorio, tali approcci sono stati sviluppati per caratterizzare molecole con potenziale anti-tumorale, permettendo in particolare di raggiungere i seguenti risultati:

- a. separare effetti citostatici da effetti citotossici ed evidenziare eventi stocastici potenzialmente pro-tumorigenici (Alisertib, inibitore della chinasi Aurora-A),
- b. evidenziare l'influenza di piccole modifiche strutturali di molecole con potenziale terapeutico sull'efficacia del trattamento (aryl-tioindoli, inibitori della polimerizzazione dei microtubuli),
- c. evidenziare pathways di morte cellulare non attesi e l'influenza del background genetico sulla risposta cellulare (Olaparib, inibitore degli enzimi PARP)

Il contenuto informativo dell'imaging emerge anche nello studio di nuovi bersagli terapeutici (interazioni tra fattori pro-tumorigenici e loro regolatori/partner). Per esempio, una chiara "proof of concept" che l'interazione tra proteine del cinetocore e microtubuli può costituire un bersaglio efficace nella terapia del cancro è stata ottenuta dalla videoregistrazione di linee cellulari che sovraesprimono una versione modificata della proteina del cinetocore Hec-1 (Highly Expressed in Cancer protein 1).

Inoltre, per facilitare lo screening di interazioni proteina-proteina (o proteine/inibitore) abbiamo sviluppato ed automatizzato protocolli per saggi in situ (es. Proximity Ligation Assay), che permettono di visualizzare velocemente ed in condizioni native interazioni tra proteine in singole cellule nella loro dinamica spazio-temporale.

Lo sviluppo di metodologie di imaging avanzato può quindi rappresentare un nuovo livello di informazione e complementare con successo i flussi di lavoro di drug design, screening e validazione di molecole e terapie anti-tumorali.

## **UNA NUOVA FAMIGLIA DI IMINOZUCCHERI DI SINTESI, ANALOGHI DI INIBITORI NATURALI DELLE GLICOSIDASI, QUALI POSSIBILI STRUMENTI INNOVATIVI PER LA TERAPIA DEI TUMORI.**

**Beatrice Macchi,<sup>1</sup> Francesca Marino-Merlo,<sup>2</sup> Caterina Frezza,<sup>3</sup> Emanuela Papianni,<sup>3</sup> Annalucia Serafino,<sup>3</sup> Alberto Brandi,<sup>4</sup> Antonio Mastino<sup>3,5</sup>.**

<sup>1</sup>Dip. Medicina dei Sistemi, Università di Roma "Tor Vergata"; <sup>2</sup>IRCCS Centro Neurolesi "Bonino Pulejo", Messina; <sup>3</sup>Istituto di Farmacologia Traslazionale (IFT), C.N.R.; <sup>4</sup>Dip. Chimica Organica 'Ugo Schiff', Università di Firenze; <sup>5</sup>Dip. Scienze Chimiche, Biologiche, Farmaceutiche ed Ambientali, Università di Messina.

### **ABSTRACT**

Una delle principali caratteristiche distintive delle cellule tumorali, rispetto alle cellule normali, è l'alterazione del metabolismo energetico caratterizzato da due importanti eventi biochimici: i) la dipendenza preferenziale dalla glicolisi per la produzione di energia in maniera ossigeno-indipendente, ii) un aumentato assorbimento di glucosio. Ciò ha suggerito la possibilità di considerare il metabolismo del glucosio come bersaglio terapeutico per composti potenzialmente in grado di causare selettivamente morte cellulare nelle cellule tumorali. Inoltre, ciò ha condotto anche all'individuazione di nuovi potenziali bersagli cellulari farmacologici quale il recettore GLUT-1, trasportatore del glucosio predominante in molti tipi di tumori. Gli imminozuccheri, una classe di composti che si differenziano dai glicosidi veri e propri per la presenza di un atomo di azoto che sostituisce l'atomo di ossigeno endociclico, sono considerate sostanze potenzialmente in grado di interferire nei processi enzimatici che coinvolgono i carboidrati e sono da tempo studiati per le loro applicazioni biotecnologiche. L'ipotesi che gli imminozuccheri possano essere utilizzati come agenti terapeutici ha suscitato l'interesse nella realizzazione di derivati sintetici. In particolare, la nostra attenzione è caduta su una nuova famiglia di imminozuccheri di sintesi, analoghi di composti di origine naturale che inibiscono le glicosidasi, enzimi che catalizzano l'idrolisi dei legami glicosidici di carboidrati complessi e glicoconiugati. Abbiamo infatti dimostrato che l'enantiomero sintetico D(-) di un imminozucchero naturale è dotato di scarsa attività di inibizione delle glicosidasi, ma presenta invece una buona attività proapoptotica verso diverse linee cellulari tumorali, con bassa tossicità verso cellule normali. In particolare, l'imminozucchero di sintesi attiva la via intrinseca dell'apoptosi ed è in grado di indurre notevoli livelli di morte cellulare in modo dose-dipendente in alcune linee cellulari tumorali a concentrazioni relativamente basse. Simile attività è posseduta anche da un altro composto di sintesi da esso derivato. Sono quindi in corso studi per verificare la possibilità di considerare questa nuova famiglia di imminozuccheri di sintesi quali candidati composti utilizzabili nella terapia antitumorale. A tal fine si vuole in particolare approfondire il meccanismo alla base dell'effetto di questi composti sulle cellule tumorali e, in particolare, se esso coinvolga il metabolismo e l' up-take del glucosio.

**Poster N. 26**

## **SPETTROSCOPIA RAMAN COME NUOVO METODO DIAGNOSTICO A SUPPORTO DELL' ANALISI ISTOLOGICA.**

**Julietta V. Rau**

Istituto di Struttura della Materia, Consiglio Nazionale delle Ricerche.

### **ABSTRACT**

Recentemente è stato dimostrato come le tecnologie basate sulla spettroscopia Raman possano essere impiegate come strumento diagnostico dei tumori, per incrementare l'accuratezza della diagnosi e, in generale, per studiare qualsiasi lesione/neoplasia, aggiungendo l'informazione biochimica a supporto dell'analisi morfologica (istopatologica).

Qui si propone l'uso di un microscopio Raman Imaging di ultima generazione con risoluzione su scala micrometrica (a livello di singola cellula) per discriminare tessuti sani e patologici di tiroide, paratiroide, linfonodi e altri organi e, al contempo, per studiare le caratteristiche biochimiche specifiche delle varie patologie. Lo studio consiste nell'applicare la tecnica di microscopia Raman su piccole aree del tessuto prelevato da sezioni criostatiche e biopsie, al fine di ottenere informazioni biochimiche. L'approccio prevede la preparazione di banche dati Raman di patologie specifiche e l'elaborazione di modelli matematici, usando analisi statistica multivariata, in grado di tradurre le differenze spettrali rilevate tra tessuti sani e patologici in informazioni diagnostiche utili a classificare i tessuti in maniera più affidabile.

I dati finora ottenuti per tiroidi, paratiroidi e linfonodi possono essere trasformati in informazioni utili a fini diagnostici e compatibili con l'impiego clinico. La metodologia può essere utilizzata a supporto dell'analisi istologica per aumentare l'affidabilità e l'accuratezza nei casi di lesioni indeterminate, tuttora affette da uno scarso accordo diagnostico inter-osservatore. Inoltre, è evidente la necessità di fornire adeguati strumenti per la diagnostica precoce, per una miglior caratterizzazione delle lesioni e per una profonda comprensione della biologia dei tumori, al fine di migliorare la gestione dei pazienti, suggerendo un'appropriata strategia chirurgica e migliorando le probabilità di successo dei trattamenti.

In questo contesto, la spettroscopia Raman rappresenta una promettente tecnica in grado di aumentare l'affidabilità diagnostica fornendo informazioni biochimiche molto specifiche sulla composizione molecolare di cellule e tessuti.

## IL PROGETTO TOP-IMPLART.

L. Picardi<sup>1</sup>, C. Ronsivalle<sup>1</sup>, A. Ampollini<sup>1</sup>, G. Bazzano<sup>1</sup>, R. M. Montereali<sup>1</sup>, P. Nenzi<sup>1</sup>, M. Piccinini<sup>1</sup>, V. Surrenti<sup>1</sup>, E. Trinca<sup>1</sup>, M. Vadrucci<sup>1</sup>, C. Marino<sup>2</sup>, M. Balduzzi<sup>2</sup>, C. Patrono<sup>2</sup>, C. Pioli<sup>2</sup>, E. Cisbani<sup>3</sup>, P. Anello<sup>3</sup>, E. Cisbani<sup>3</sup>, S. Colilli<sup>3</sup>, C. De Angelis<sup>3</sup>, G. De Angelis<sup>3</sup>, S. Della Monaca<sup>3</sup>, V. Dini<sup>3</sup>, G. Esposito<sup>3</sup>, F. Ghio<sup>3</sup>, F. Giuliani<sup>3</sup>, M. Lucentini<sup>3</sup>, C. Notaro<sup>3</sup>, C. Placido<sup>3</sup>, F. Santavenere<sup>3</sup>, A. Spurio<sup>3</sup>, A. Tabocchini<sup>3</sup>, L. Strigari<sup>4</sup>, M. D'Andrea<sup>4</sup>.

<sup>1</sup> ENEA C.R. Frascati; <sup>2</sup> ENEA C.R. Casaccia; <sup>3</sup> Istituto superiore di Sanità; <sup>4</sup> IFO-Istituto Regina Elena

### ABSTRACT

Si descrive l'impianto sperimentale TOP-IMPLART in fase di realizzazione presso il Centro Ricerche-ENEA di Frascati per applicazioni di radioterapia oncologica con protoni. Il progetto si basa su un acceleratore lineare di protoni da 150 MeV corredato delle necessarie tecnologie funzionali al suo impiego nella clinica.

La protonterapia è una tecnica basata sul bombardamento da parte di protoni accelerati del tessuto neoplastico che offre un radio-trattamento più preciso rispetto alla terapia mediante raggi gamma essendo in grado di preservare gli organi sani circostanti la regione trattata.

L'innovatività del Progetto risiede nella scelta di un sistema di acceleratori lineari, estremamente versatile sul piano della terapia (controllo impulso per impulso dell'energia rilasciata) più economico e meno esigente dal punto di vista della radioprotezione rispetto alle macchine basate su acceleratori circolari (ciclotroni e sincrotroni). Il Progetto è condotto da ENEA, ISS e l'Istituto Regina Elena-IFO-Roma: L'ENEA ha il compito di coordinare il progetto e realizzare l'impianto, l'ISS di realizzare monitor di fascio, sistemi dosimetrici e di controllo, l'IFO di studiare i piani di trattamento e attuare la sperimentazione preclinica. Lo sviluppo del prototipo comporta l'implementazione di tecniche originali sia per la macchina acceleratrice sia nei campi correlati della dosimetria e della radiobiologia, che vengono sperimentate durante la fase realizzativa. Ciò si traduce in un notevole impatto a livello territoriale in virtù del trasferimento tecnologico delle competenze dei tre enti coinvolti alle imprese, in particolare quelle attive nella Regione Lazio.

Al termine della sperimentazione TOP-IMPLART verrà trasferito presso un ospedale laziale scelto dalla Regione, che diventerà il primo Centro di Protonterapia del centro-sud Italia.

Il Progetto, finanziato dalla Regione Lazio, ha completato la prima fase, fornendo un fascio di 27 MeV, già utilizzato in studi di radiobiologia preclinici ed altre applicazioni esplorative. Recentemente la Regione Lazio ha firmato una nuova Convenzione con l'ENEA che avvia la seconda fase del Progetto. Si prevede di ottenere entro il 2018 un fascio di energia maggiore di 65 MeV in grado di trattare il melanoma oculare, e di arrivare nel giro dei successivi due anni all'energia di 150 MeV, adeguata al trattamento dei tumori pediatrici e del distretto testa-collo.

## **FABIOCELL, L'OFFICINA FARMACEUTICA DELL'ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ'.**

**Giuseppina D'Agostino<sup>1</sup>, Laura Santodonato<sup>1</sup>, Eleonora Aricò<sup>1</sup>, Domenica M. Monque<sup>1</sup>, Mariarosaria Napolitano<sup>2</sup>, Enrica Montefiore<sup>1</sup>, Davide Carlei<sup>1</sup>, Imerio Capone<sup>3</sup>, Paola Rizza<sup>4</sup>, Enrico Proietti<sup>3</sup>, Filippo Belardelli<sup>5</sup>, Carmela Rozera<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>Servizio Grandi strumentazioni e Core facilities, Istituto Superiore Di Sanità;<sup>2</sup> Servizio tecnico scientifico di coordinamento e supporto alla ricerca, Istituto Superiore Di Sanità;<sup>3</sup>Dipartimento di Oncologia e Medicina Molecolare, Istituto Superiore Di Sanità;<sup>4</sup>Centro di riferimento medicina di genere, Istituto Superiore Di Sanità; <sup>5</sup>Istituto di farmacologia traslazionale, Consiglio Nazionale delle Ricerche.

### **ABSTRACT**

FaBioCell è una officina farmaceutica autorizzata dall'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA) alla produzione di farmaci per terapie cellulari. La Direttiva 2001/20/CE ha stabilito che i medicinali di terapia avanzata, di cui i farmaci per terapia cellulare fanno parte, debbano essere prodotti in conformità con le "good manufacturing practise" in strutture equiparate ad officine farmaceutiche, sottoposte ad autorizzazione da parte dell'AIFA.

L'Istituto Superiore di Sanità (ISS) ha promosso la costruzione e l'attivazione di FaBioCell, con l'obiettivo di favorire il trasferimento alla clinica dei risultati delle ricerche condotte nel campo dell'immunoterapia dei tumori non solo in ISS, ma anche in collaborazione con altri centri di ricerca e con i centri clinici. Scopo ultimo è quello di sviluppare le promettenti prospettive di utilizzo clinico dei nuovi farmaci cellulari personalizzati.

FaBioCell ha sviluppato e convalidato il metodo di produzione in GMP di cellule dendritiche generate in presenza di IFN-alfa (IFN-DC), oggetto di un brevetto ISS. Uno studio clinico di fase I ha dimostrato la sicurezza e tollerabilità delle IFN-DC, inoculate intra-lesionalmente su pazienti con melanoma metastatico. Questo farmaco cellulare è attualmente in produzione per il trattamento di pazienti affetti da Linfoma Indolente, nell'ambito dello studio "IFN-DC-based immunotherapy in combination with Rituximab in indolent non-Hodgkin lymphoma patients: a phase I clinical trial. (NLH-IFNDC-2)", in collaborazione con la Dott.ssa Cox (Azienda Ospedaliera Sant'Andrea di Roma).

E' stata anche convalidata la produzione in GMP di cellule Natural Killer per il trattamento di pazienti con Leucemia Linfoblastica Acuta, nell'ambito di uno studio clinico in collaborazione con il Prof. Foà (Università La Sapienza di Roma).

Oltre a mettere le linee di produzione già esistenti a disposizione di studi clinici di cui si condivide l'interesse scientifico, FaBioCell può allestire e sviluppare nuove pipelines per la preparazione di prodotti cellulari non attualmente in produzione, quali Linfociti T, cellule staminali, cellule mesenchimali. Può, inoltre, svolgere saggi di controllo qualità conto terzi e fornire consulenza per la preparazione di documenti regolatori.

## Poster N. 29

### UN APPROCCIO MULTIDISCIPLINARE PER UNA MEDICINA DI SISTEMA.

**Marta Ponzi.**

Servizio Grandi Apparecchiature e Core Facilities, Istituto Superiore di Sanità.

#### **ABSTRACT**

L'Istituto Superiore di Sanità (ISS) ha recentemente centralizzato le sue risorse strumentali in una piattaforma di Core Facilities (proteomica, citometria, officina farmaceutica FabioCell, calcolo scientifico, risonanza magnetica nucleare, microscopia confocale e risonanza paramagnetica elettronica) allo scopo di tenere il passo con gli avanzamenti tecnologici della ricerca biomedica e clinica. La piattaforma ISS si avvale di 40 ricercatori che operano in importanti aree della ricerca biomedica, come l'oncologia, le malattie neurodegenerative, infettive e metaboliche e l'invecchiamento. La piattaforma è coinvolta in studi clinici e preclinici, nell'analisi di campioni biologici per la ricerca di biomarcatori diagnostici e/o prognostici e nello studio di modelli cellulari/animali di patologie. La piattaforma è aperta a stabilire collaborazioni e a fornire servizi ad entità esterne pubbliche o private. Nell'ambito della ricerca oncologica la piattaforma è coinvolta in diversi progetti:

L'area di Citometria partecipa al progetto HERCULES, «Comprehensive characterization and effective combinatorial targeting of high-grade serous ovarian cancer via single-cell analysis», focalizzato all'individuazione di nuovi bersagli terapeutici per carcinomi ovarici "high grade" resistenti agli attuali trattamenti farmacologici. Partecipa a «La rete per il Monitoraggio Immunologico nei trials oncologici nella regione Lazio», facendo parte di un gruppo di cooperazione dei ricercatori operanti nella regione per la condivisione di piattaforme di «immunomonitoring» per studi clinici di immunoterapia dei tumori.

Le ricerche dell'Area NMR e microscopia confocale sono principalmente finalizzate alla identificazione di nuovi indicatori di diagnosi e prognosi e alla caratterizzazione di endpoint farmacologici in differenti patologie tumorali, utilizzando approcci di imaging molecolare e cellulare come base per la possibile realizzazione di percorsi innovativi di medicina traslazionale.

L'area EPR svolge attività di ricerca in campo oncologico in collaborazione con vari gruppi di ricerca nazionali. L'attività scientifica dell'Area riguarda il ruolo dei radicali liberi e dello stress ossidativo nell'insorgenza e progressione di patologie con predisposizione alla trasformazione tumorale o in modelli tumorali, quali il melanoma. L'area è inoltre attiva nella radioterapia dei tumori.

## LE EMORFINE E I TUMORI CEREBRALI PEDIATRICI: L'EMOGLOBINA COME FONTE DI PEPTIDI BIOMARCATORI E ANTITUMORALI.

**Claudia Desiderio<sup>1</sup>, Claudia Martelli<sup>2</sup>, Luca D'Angelo<sup>2</sup>, Marta Barba<sup>3</sup>, Wanda Lattanzi<sup>3</sup>, Daniela Delfino<sup>2</sup>, Alberto Vitali<sup>1</sup>, Luca Massimi<sup>4</sup>, Gianpiero Tamburrini<sup>4</sup>, Massimo Caldarelli<sup>4</sup>, Massimo Castagnola<sup>1,2</sup>.**

<sup>1</sup>Istituto di Chimica del Riconoscimento Molecolare, Consiglio Nazionale delle Ricerche;<sup>2</sup>Istituto di Biochimica e Biochimica Clinica, Università Cattolica del Sacro Cuore; <sup>3</sup>Istituto di Anatomia Umana e Biologia Cellulare, Università Cattolica del Sacro Cuore; <sup>4</sup>Unità Operativa Complessa di Neurochirurgia Infantile, Fondazione Policlinico Universitario A. Gemelli, Università Cattolica del Sacro Cuore.

### ABSTRACT

Le emorfine sono oggetto di studio nei nostri ambiti di ricerca in relazione ai tumori cerebrali pediatrici in fossa cranica posteriore. Questi peptidi corrispondono a piccoli tratti di sequenza della catena  $\beta$ - (o  $\gamma$ -,  $\delta$ - e  $\epsilon$ -) dell'emoglobina, da cui si ipotizza derivino tramite tagli enzimatici tessuto specifici. Note per l'azione oppioide non classica, le emorfine possiedono diverse attività biologiche, tra cui il mantenimento dell'omeostasi, il miglioramento delle capacità di apprendimento e memoria nella neurodegenerazione e l'inibizione dell'ACE. Studi proteomici effettuati su liquor di pazienti pediatrici affetti da tumori in fossa cranica posteriore, hanno evidenziato nella LVV-emorfina-7 e VV-emorfina-7, peptidi caratteristici del SNC, un potenziale ruolo di biomarcatori di prognosi: questi peptidi erano infatti rivelabili nel fluido solo dopo rimozione totale del tumore [1]. In presenza di metastasi o di resezione parziale, i peptidi non venivano caratterizzati, ipotizzando una possibile azione del tumore nella modulazione dei loro processi di sintesi e/o catabolismo. La determinazione quindi dei peptidi nel liquor post-chirurgico potrebbe avere applicazione clinica nel monitorare la resezione completa del tumore e/o diagnosticare precocemente recidive nel follow-up del paziente attraverso metodi veloci e accurati, già ottimizzati [2]. Livelli alterati di emorfine sono stati riscontrati in fluidi biologici tumorali e alcuni studi in vitro e in vivo, hanno evidenziato capacità antitumorali. L'assenza di emorfine nel liquor tumorale e le proprietà citotossiche osservate, ci hanno indotto a studiare l'attività antitumorale in vitro di alcune emorfine su cellule di medulloblastoma, il tumore in fossa cranica posteriore più maligno. Risultati preliminari evidenziano attività citotossica selettiva e internalizzazione cellulare, promettente per approfondimenti futuri. Le emorfine, essendo peptidi endogeni, hanno le caratteristiche di chemioterapici ideali a ridotto impatto per il paziente. I tumori cerebrali sono i tumori solidi più frequenti in età pediatrica e la chirurgia è l'unica modalità di trattamento seguita da eventuali terapie coadiuvanti. La possibilità di avere biomarcatori per il monitoraggio della malattia e/o terapie di trattamento pre- o post-chirurgico potrebbe significativamente ridurre le co-morbidità e migliorare la prognosi del paziente pediatrico. [1] C. Desiderio et al, Proteomics 12 (2012) 2158 [2] M. Zeccola et al, J Chromatogr A 1267 (2012) 177.

## Poster N. 31

### **OTTIMIZZAZIONE DI UN NUOVO PEPTIDE ANTICANCRO PER UNA POSSIBILE APPLICAZIONE TERAPEUTICA.**

**Fabiola Moretti**

Istituto di Biologia Cellulare e Neurobiologia CNR.

#### **ABSTRACT**

L'oncosoppressore p53 è uno dei più importanti oncosoppressori umani e per questo target di numerose terapie molecolari volte a riattivarne la funzione nei tumori umani. Infatti in circa il 50% di tumori umani di diversa origine, p53 è presente ma inattivo. Attualmente, solo poche di tali terapie hanno raggiunto trial clinici di tipo II e nessuna ancora ha raggiunto il mercato.

Il mio gruppo sulla base di precedenti ricerche ha sviluppato una strategia per riattivare p53, diversa da quelle attualmente in uso. Ciò ha portato all'individuazione, caratterizzazione e recente pubblicazione di una nuova molecola (un peptide) capace di riattivare p53 in vitro ed in vivo. Questo peptide suscita selettivamente una risposta di morte nelle cellule tumorali (la risposta elettiva di qualsiasi terapia antitumorale) mentre mostra una mancanza di attività su cellule umane normali non-trasformate. Pertanto questa molecola sembra caratterizzata da un'elevata efficienza e da una ridotta tossicità rispetto a tutte le attuali terapie molecolari.

Avendo dimostrato l'efficacia in vitro ed in vivo di questa nuova strategia, lo sviluppo futuro prevede l'ottimizzazione di tale peptide per poterne migliorare/testare le proprietà ADMET (assorbimento, distribuzione metabolismo, escrezione e tossicità) ed evidenziarne la reale potenzialità farmacologica.

## Poster N. 32

### **SONOWELL: UN INNOVATIVO STRUMENTO AD ULTRASUONI PER LA RICERCA BIOMEDICA IN VITRO.**

**Scoarughi G.L., Corso C., Migliore G.I.M., Catallo N., Gorgone A., Barbato G.**

Promedica Bioelectronics s.r.l.

#### **ABSTRACT**

Nello studio dell'interazione tra ultrasuoni (US) e sistemi cellulari modello, uno dei task più difficili da realizzare con la strumentazione attualmente disponibile è disegnare un esperimento in cui solo un parametro acustico viene variato mentre tutti gli altri sono mantenuti costanti.

Nella maggioranza degli studi di biologia cellulare che utilizzano ultrasuoni la strumentazione è artigianale, spesso derivante da strumentazione clinica realizzata per scopi differenti. I risultati non sono comparabili anche perché spesso non utilizzano supporti cellulari standard, inoltre sterilità e temperatura non sono rigidamente controllabili.

Nel nostro studio mostriamo l'effetto degli ultrasuoni in differenti sistemi cellulari. Gli esperimenti sono effettuati con il SonoWell, un innovativo strumento ad ultrasuoni benchtop per la ricerca biomedica, disegnato e brevettato da Promedica per l'uso in vitro usando comuni piastre sterili a 24 pozzetti (multiwell); esso consente l'esecuzione di protocolli robusti e riproducibili per lo studio dell'interazione tra US e sistemi cellulari. Particolare attenzione nel design dello strumento è stata rivolta alla minimizzazione di fenomeni fisici non controllabili, quali dispersione di energia acustica su pozzetti laterali, trasmissione e conversione di modalità di onde trasmesse, riflessioni e rifrazioni secondarie etc. fenomeni che causano una scarsa riproducibilità delle misure.

Viene mostrato l'uso simultaneo di un set di quattro trasduttori che operano sulla stessa multiwell esercitando la stessa pressione acustica in modo da isolare l'effetto biologico delle differenti frequenze nel readout dell'esperimento cellulare. Il disegno modulare dello strumento consente eventualmente di utilizzare quattro trasduttori identici per massimizzare la velocità di esecuzione di un test nel caso questa fosse un fattore limitante.

Sono stati effettuati test per alcune applicazioni basati sui differenti effetti biologici degli ultrasuoni, rilevanti anche in campo oncologico, variando intensità acustica, frequenza, tempo di sonicazione e duty cycle, tutti controllati attraverso interfaccia grafica e protocolli automatizzati. I dati ottenuti provano che è possibile effettuare esperimenti in vitro per scopi differenti (sonoporazione di DNA, drug delivery, ablazione, stimolazione della produzione di antibiotici, stimolazione cellulare, LIPUS).

Il miglioramento dal lato della riproducibilità e della portabilità degli esperimenti permette un importante avanzamento nel confronto di dati ottenuti con il nostro strumento e con altre tecniche standard di biologia cellulare

## Poster N. 33

### **DNA ELECTRO-GENE-TRANSFER: UNA SOLIDA PIATTAFORMA PER LA GENERAZIONE DI ANTICORPI MONOCLONALI.**

**Emiliano Pavoni, Manuela Cappelletti, Alessia Muzi, Fabiana Fosca Ferrara, Federica Bucci, Emanuele Marra, Luigi Aurisicchio, Giuseppe Roscilli.**

Takis S.r.l.

#### **ABSTRACT**

Gli anticorpi sono un reagente fondamentale per la ricerca e negli ultimi anni diversi anticorpi monoclonali sono stati approvati per uso clinico. Per questo motivo le grandi industrie farmaceutiche e le Biotech hanno popolato la loro linea di produzione con questi prodotti biologici.

Il metodo utilizzato per la generazione degli anticorpi monoclonali può influenzare in maniera importante la probabilità di successo. Il classico protocollo di immunizzazione si basa solitamente su peptide sintetici, frammenti di proteine o proteine ricombinanti di origine batterica o ottenute da cellule di mammifero che vengono utilizzati come immunogeni. I peptidi sintetici sono solitamente utilizzati per la facilità di produzione, ma la mancanza di un'algoritmo efficace per la predizione di epitopi riconosciuti dalle cellule B e l'assenza di strutture secondarie o terziarie, riduce la possibilità di selezionare un buon peptide immunogeno. Di conseguenza, la probabilità di generare anticorpi capaci di legare la proteina nella conformazione nativa, è molto bassa. L'utilizzo delle proteine purificate compensa le limitazioni dei peptidi, ma la sintesi e purificazione di proteine ricombinanti può risultare alquanto difficoltosa e le modifiche post-traduzionali possono essere molto diverse rispetto alla proteina nativa.

Takis, impiega l'immunizzazione genetica tramite elettroporazione del DNA (DNA electro-gene-transfer - DNA-EGT) per generare anticorpi monoclonali. Tramite questa tecnologia siamo capaci di indurre una forte risposta immunitaria nei topi dove l'immunizzazione con peptide è risultata inefficace. Inoltre, tramite DNA-EGT possiamo rompere la tolleranza verso antigeni self. Mediante ingegnerizzazione del DNA, come l'ottimizzazione dell'espressione e la fusione con frammenti proteici immunostimolanti e la combinazione con adiuvanti immunomodulatori, possiamo aumentare la risposta anticorpale e influenzare l'isotipo generato. Come esempio, mostriamo un tipico workflow utilizzato per la generazione di nuovi anticorpi monoclonali che riconoscono il recettore tirosin chinasi ErbB3. Gli anticorpi identificati possiedono le proprietà biochimiche e funzionali necessarie per il loro sviluppo ed impiego nella clinica.

Questi dati dimostrano che l'elettroporazione del DNA è una tecnica molto efficiente per la generazione di anticorpi monoclonali terapeutici.

## Poster N. 34

### **ESOSOMI: NUOVA FRONTIERA DELLA BIOPSIA LIQUIDA PER L'IDENTIFICAZIONE IN CIRCOLO DI BIOMARCATORI TUMORALI.**

**Donatella Lucchetti, Federica Calapà, Federica Carbone, Milena Colella, Luigi Perelli, Ruggero De Maria, Alessandro Sgambato.**

Istituto di Patologia Generale, Università Cattolica del Sacro Cuore di Roma.

#### **ABSTRACT**

La biopsia liquida consiste in un prelievo di fluidi biologici che mira a sostituire l'analisi di tessuto tumorale per analizzare in maniera accurata e non invasiva le caratteristiche genetico-molecolari di un tumore maligno permettendo di valutarne i cambiamenti nel tempo mettendo in atto una terapia personalizzata. Le cellule tumorali rilasciano in circolo vescicole di piccole dimensioni denominate esosomi che trasportano all'interno elementi chiave come DNA, microRNA e proteine. Lo studio degli esosomi può fornire informazioni utili sulle caratteristiche di un tumore, senza la necessità di ricorrere alla biopsia del tessuto e con la possibilità di identificare la malattia ancora prima che si manifesti e di seguire il paziente durante il trattamento terapeutico. Gli esosomi sono stati isolati da campioni di plasma e di urine mediante ultracentrifugazione e analizzati mediante PCR-RFLP, HRM, RT-PCR e Western Blot.

Gli obiettivi di questo studio sono stati quello di identificare il DNA mutato per KRAS negli esosomi isolati da plasma di 10 pazienti affetti da neoplasia al colon e di valutare l'espressione di geni (PSA, PCA3 e PSMA) nelle urine di 20 pazienti con cancro alla prostata prima e dopo prostatectomia da poter utilizzare come potenziali biomarcatori. E' stata identificata la mutazione di KRAS G12V negli esosomi isolati sia dal sovrnatante di linee cellulari di cancro del colon portanti la mutazione, sia dal plasma dei pazienti. Il dato è stato confermato dall'analisi mediante sequenziamento del DNA isolato.

L'espressione del PSA negli esosomi urinari dei pazienti con cancro alla prostata comparati con 10 controlli sani ha mostrato una sensibilità del 70%, una specificità del 62% e un'accuratezza complessiva del 68% nell'identificazione del cancro alla prostata. La sensibilità, la specificità e l'accuratezza totale per il PCA3 erano rispettivamente del 55%, 90% e del 67%, per il PSMA 76%, del 70% e del 74% mentre per il PSA 70%, 62% e 67%. La combinazione di PCA3 e PSMA è risultata essere la migliore in termini di sensibilità, specificità e accuratezza. Questo studio pilota suggerisce che gli esosomi possono essere utilizzati come possibili biomarcatori non invasivi diagnostici, predittivi e di sorveglianza nei pazienti affetti da patologie neoplastiche.

## **EFFETTI BIOLOGICI DEGLI ULTRASUONI A BASSA INTENSITÀ SU LINEE CELLULARI NORMALI E TUMORALI.**

**Donatella Lucchetti, Luigi Perelli, Gianluca Scoarughi, Gaetano Barbato, Ruggero De Maria, Alessandro Sgambato.**

Promedica Bioelettronics s.r.l.

### **ABSTRACT**

Gli ultrasuoni (US) rappresentano una nuova frontiera per le biotecnologie medicali per le loro potenziali applicazioni in terapia. Numerose evidenze scientifiche dimostrano come cambiamenti biofisici, quali quelli indotti dagli US, siano coinvolti nella patogenesi di numerose malattie, compreso il cancro. Lo studio degli effetti biologici indotti dall'esposizione delle cellule sia normali che neoplastiche agli US è, quindi, importante per comprenderne gli effetti sulla funzionalità cellulare e per poterne valutare le potenziali applicazioni in ambito oncologico.

Un obiettivo del nostro studio è stato quello di valutare gli effetti degli US a bassa intensità sulla proliferazione di una linea cellulare di fibroblasti normali (RAT-1) e su una linea di coloncarcinoma umano (HT29) utilizzando un innovativo strumento ad US, SonoWell, prodotto dalla Promedica. In test preliminari è stato evidenziato un effetto citotossico degli US ad elevate intensità acustiche su entrambe le linee.

La proliferazione è stata valutata mediante saggio di vitalità MTT. Gli esperimenti sono stati eseguiti a quattro diverse frequenze e a tre intensità acustiche. A 12 ore dal trattamento nelle HT29 l'applicazione di intensità e frequenze medio-basse ha comportato un aumento proliferazione cellulare mentre nelle RAT-1 non è stato osservato un effetto significativo. Nella linea normale il trattamento con frequenze elevate e intensità medio-basse sembrerebbe stimolare la proliferazione cellulare sia dopo 12 che 24 ore. Le alte intensità evidenziano un effetto dannoso sia nelle HT29 che nelle RAT-1. L'effetto proliferativo è meno evidente sulla linea tumorale a intensità e frequenze medio-basse a 24 ore dal trattamento mentre si accentua a frequenze elevate. In conclusione, l'effetto biologico degli ultrasuoni appare differente tra la linea cellulare normale e tumorale a frequenze e intensità medio-basse. In entrambi i casi l'applicazione di intensità elevate comporta un effetto dannoso.

Un secondo obiettivo è stato quello di valutare il drug delivery in presenza di ultrasuoni nella linea HT29. L'esposizione ad US in presenza di oxaliplatino risultava in una riduzione di vitalità del 80%. In assenza di oxaliplatino la riduzione di vitalità dovuta ai soli ultrasuoni era del 20%. L'azione combinata di ultrasuoni e chemioterapico influenza quindi la vitalità cellulare in misura maggiore delle due condizioni prese singolarmente.

## IMAGING MOLECOLARE CON RADIONUCLIDI NELLA DIAGNOSI PRECOCE DELE TUMORE ALLA MAMMELA.

**Evaristo Cisbani<sup>1</sup>, Stefano Colilli<sup>1</sup>, Francesco Cusanno<sup>2</sup>, Giovanna Fois<sup>2</sup>, Franco Garibaldi<sup>1,2</sup>, Francesco Ghio<sup>1</sup>, Fausto Giuliani<sup>1</sup>, Massimo Gricia<sup>1</sup>, Teresa Inero<sup>1</sup>, Maurizio Lucentini<sup>1</sup>, Maria Lucia Magliozzi<sup>3</sup>, Adriana Marcucci<sup>3</sup>, Paolo Musico<sup>4</sup>, Carmelo Notaro<sup>1</sup>, Fabio Santavenere<sup>1</sup>, Alessandro Spurio<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>Centro Nazionale Tecnologie Innovative per la Salute Pubblica, Istituto Superiore di Sanità;

<sup>2</sup>Istituto Nazionale di Fisica Nucleare, Sezione di Roma; <sup>3</sup>Sapienza Università di Roma; <sup>4</sup>Istituto Nazionale di Fisica Nucleare, Sezione di Genova.

### ABSTRACT

Il cancro alla mammella è il tumore più diffuso nella donna, e la sua cura è tanto più efficace quanto più la diagnosi è precoce (precedendo la formazione di metastasi); questo si traduce nella necessità di identificare lesioni tumorali di dimensioni minori di 5 mm. I dispositivi e le tecniche usate correntemente nello screening mammografico, e in particolare con raggi X, sono molto sensibili ma poco specifiche e in presenza di seno denso (il 30-40 % dei soggetti sottoposti a screening) presentano maggior probabilità di falsi-negativi; una lesione sospetta costringe generalmente a procedere con l'asportazione di un piccolo campione per esame biotico che solo in una frazione (meno del 20%) dei casi risulta poi positivo, con costi significativi che potrebbero pertanto essere evitati.

Nel corso degli ultimi 12 anni, grazie anche a finanziamenti della regione Lazio, ricercatori dell'ISS e dell'INFN hanno sviluppato, in forma prototipale, dispositivi innovativi per imaging funzionale con radionuclidi per diagnosi precoce di tumori (sfruttando l'alta specificità e massimizzando la sensibilità) e per studi di patologie umani su modelli animali. Queste attività di ricerca hanno permesso di realizzare, tra l'altro, elettronica dedicata, algoritmi di processamento e la deposizione di un brevetto di un originale sistema scintigrafico compatto, composto da due teste di rivelazione asimmetriche, in grado di ottimizzare le performance (sensibilità e risoluzione spaziale, in primis) minimizzando, in particolare, la distanza tra presunta lesione e sistema attivo di rivelazione (una forte limitazione nei sistemi scintigrafici tradizionali basati su Anger Camera).

Dal dispositivo prototipale, negli ultimi anni, si è passati ad una prima ingegnerizzazione, da parte della ditta Metaltronica, leader nel settore dei dispositivi mammografici, in collaborazione con gli Istituti sopra richiamati, nell'ambito del progetto MBI della regione Lazio. La combinazione dell'esame morfologico mammografico ad alta sensibilità con quello funzionale scintigrafico più specifico, coadiuvato da tecniche di diagnosi anche parzialmente tomografiche (e quindi tri-dimensionali) rappresenta prevedibilmente una delle frontiere di sviluppo in questo campo.

## **SINTESI E SVILUPPO DI NANOMOLECOLE PER IL DELIVERY SPECIFICO DI SOSTANZE NATURALI ANTITUMORALI.**

**Alberto Vitali<sup>1</sup>, Stefano Serra<sup>1</sup>, Alessandro Gori<sup>1</sup>, Giovanna Mancini<sup>2</sup>, Cecilia Bombelli<sup>2</sup>, Marisa Colone<sup>3</sup>, Annarita Stringaro<sup>3</sup>.**

<sup>1</sup>CNR-Istituto per la Chimica del Riconoscimento Molecolare; <sup>2</sup>CNR-IMC Istituto di Metodologie Chimiche, Monterotondo; <sup>3</sup>Dipartimento di Tecnologie e Salute, Istituto Superiore di Sanità.

### **ABSTRACT**

Il rilascio specifico di farmaci nelle cellule tumorali per aumentarne l'efficacia e diminuirne la citotossicità, è una delle maggiori sfide attuali per l'industria farmaceutica. La somministrazione mirata implica l'uso di un vettore biologico che può essere legato covalentemente ad un agente terapeutico formando un cosiddetto "coniugato" o incapsulato in un apposito polimero che può essere opportunamente funzionalizzato per renderlo specifico verso determinate popolazioni cellulari. L'impiego di farmaci organici antitumorali è infatti, spesso ostacolato dalle proprietà chimico-fisiche di questi composti, spesso rappresentate dalla loro idrofobicità che ne riduce drasticamente la biodisponibilità e quindi l'efficacia stessa. Per aggirare questo aspetto, la coniugazione a peptidi specificamente disegnati o l'incapsulamento in polimeri idrofilici, sono modalità molto efficaci per rendere i composti organici maggiormente biodisponibili. Il vantaggio di utilizzare i peptidi come trasportatori di molecole organiche risiede in molti aspetti: a) aumento della solubilità in siero, b) possibilità di veicolare in maniera specifica (tipo cellulare, organello, tessuto) il farmaco, c) riduzione della farmaco-resistenza delle cellule tumorali e) minor costo di produzione rispetto agli anticorpi umanizzati attualmente impiegati (es.: trastuzumab). Il nostro progetto riguarda l'applicazione di molecole di origine naturale come alcuni antrachinoni derivati da diverse specie vegetali con comprovata attività antitumorale, ma le cui caratteristiche fisico-chimiche ne determinano una scarsa solubilità nei mezzi acquosi e quindi una limitata applicazione e biodisponibilità. La coniugazione di questi composti con peptidi appositamente disegnati con sequenze specifiche per recettori espressi dalle cellule tumorali e la loro inclusione in nanocarrier, come i liposomi cationici, potrebbe consentire un delivery particolarmente efficace e selettivo ai siti di destinazione, riducendo gli effetti collaterali nei restanti tessuti rappresentando quindi farmaci antitumorali altamente innovativi.

## Poster N. 38

### **MINIGENI BASATI SU EPITOPHI PER UNA POTENTE INDUZIONE DELLA RISPOSTA IMMUNITARIA CONTRO ANTIGENI TUMORALI E NEOANTIGENI.**

**Silvio Bandini<sup>1,2</sup>, Laura Luberto<sup>1</sup>, Fabio Palombo<sup>1,3</sup>, Matteo Pallocca<sup>4</sup>, Giuseppe Roscilli<sup>1</sup>, Emanuele Marra<sup>1</sup>, Rita Mancini<sup>4</sup>, Gennaro Ciliberto<sup>5</sup>, Luigi Aurisicchio<sup>1,2</sup>.**

<sup>1</sup>Takis s.r.l.; <sup>2</sup>Biogem, Ariano Irpino; <sup>3</sup>Alleanza contro il Cancro; <sup>4</sup>Sapienza Università di Roma; <sup>5</sup>Istituto Tumori Regina Elena.

#### **ABSTRACT**

Recentemente abbiamo generato un metodo che consente l'identificazione di epitopi di T cellule all'interno di antigeni associati ai tumori (TAA) e la costruzione di vaccini genetici contro il cancro basati sull'utilizzo di minigeni. La previsione in silico di epitopi di cellule T si basa su tre criteri: 1) legame ad alleli di classe I di MHC; 2) unicità dell'antigene di interesse; 3) maggiore probabilità di processamento e presentazione degli epitopi. La combinazione della previsione in silico e di un test biochimico di legame / stabilità determina un'accurata identificazione di nuovi epitopi derivanti dai TAA. Gli epitopi predetti sono stati collegati con linkers sensibili alla furina, al segnale di attivazione del plasminogeno del tessuto umano (TPA) e alla subunità enterotossina B di E. coli, per costruire vaccini candidati. Innanzitutto, i minigeni somministrati tramite l'elettroporazione del DNA (DNA-EGT) sono stati più immunogenici dei vettori genetici che codificano l'intera proteina o dei peptidi iniettati sottocute e sono stati in grado di rompere la tolleranza immunologica nei topi transgenici per l'HLA-A0201 umano. Inoltre, questa tecnologia applicata a epitopi selezionati all'interno dei TAA induce una forte immunogenicità e significativi effetti antitumorali in vari modelli murini.

In conclusione, il nostro lavoro dimostra che i minigeni somministrati tramite DNA-EGT e basati su epitopi predetti e / o sperimentali sono strumenti potenti per indurre risposte immunitarie e combattere il Cancro. Studi di combinazione di minigeni con vaccinazione peptidica, chemioterapia e Immune Checkpoint inhibitors potranno definire nuove opportunità terapeutiche per i pazienti affetti da tumore.

## **FARMONCHIP - FACILITY REGIONALE PER LO SVILUPPO E L'UTILIZZO DEGLI ORGANI SU CHIP.**

**Businaro L<sup>1</sup>, De Ninno A<sup>1</sup>, Bertani F.<sup>1</sup>, Gerardino A.<sup>1</sup>, Schiavoni G.<sup>2</sup>, Mattei F<sup>2</sup>, E. Martinelli<sup>3</sup>, A. Mencattini<sup>3</sup>, C. Di Natale<sup>3</sup>, A. Rainer<sup>4</sup>.**

<sup>1</sup> CNR-Istituto di Fotonica e Nanotecnologie; <sup>2</sup>Dipartimento di Oncologia e Medicina Molecolare, Istituto Superiore di Sanità; <sup>3</sup> Dipartimento di Ingegneria Elettronica, Università di Roma Tor Vergata; <sup>4</sup>Università Campus Bio-Medico di Roma.

### **ABSTRACT**

Portare un nuovo farmaco sul mercato è oggi uno dei percorsi più costosi che l'industria si trova a dover percorrere. Mediamente occorrono oltre 12 anni e più di un miliardo di euro per selezionare tra diverse migliaia di possibili candidati un composto che arrivi sul mercato, gli altri falliscono in uno dei diversi passaggi del processo e, più questo è avanzato, maggiore risulta il costo del fallimento. I metodi attuali, colture in vitro e test sugli animali sopra tutti, non risultano sufficientemente predittivi, infatti oltre il 90% dei farmaci validati con essi fallisce durante i trials clinici, risultando tossici o non efficaci. L'industria farmaceutica necessita, quindi, di strumenti predittivi che accelerino e rendano più economico il processo di selezione delle molecole. Per altre industrie attive nei settori della cosmetica, agro-alimentare, beni di largo consumo, sono necessari analoghi strumenti per la valutazione della tossicità, in particolare da quando gli esperimenti su animali sono stati vietati per questi scopi.

Tra le varie proposte che si stanno esplorando, gli organi su chip appaiono sicuramente tra i più promettenti. Questo approccio, basato sulla combinazione di micro e nano tecnologie con la biologia, permette la ricostituzione di funzioni meccaniche e fisiologiche degli organi umani sotto forma di microdispositivi accoppiati a sistemi di cellule vive. Essi permettono, tramite un preciso controllo dei flussi di terreno e degli stimoli meccanici, combinati con interfacce tra tessuti, l'ottenimento di modelli dinamici più rilevanti dal punto di vista biologico rispetto alle colture statiche, pur mantenendo i vantaggi delle tecnologie in vitro in termini di controllo dei parametri sperimentali, ripetibilità e riproducibilità dei sistemi.

La proposta che presentiamo nel poster riguarda proprio la nascita e lo sfruttamento di una facility multidisciplinare che risponda alle esigenze industriali specifiche presenti nel Lazio. Tale facility, già operante a livello scientifico, vede coinvolte unità di ricerca afferenti ad alcuni dei più importanti enti di ricerca presenti sul territorio (CNR, Università di Tor Vergata, Istituto Superiore di Sanità, Università Campus Biomedico) e copre l'intero processo dalla realizzazione dei dispositivi, alla analisi dei risultati e modellizzazione teorica attraverso la sperimentazione biologica e l'analisi strumentale.

## Poster N. 40

### SVILUPPO DI UN SENSORE APTAMERICO PER APPLICAZIONI NEL SETTORE ONCOLOGICO.

Elisa Scatena<sup>1</sup>, Sara Pascale<sup>1</sup>, Cristina Cairone<sup>1</sup>, Filippo Fabbri<sup>1</sup>, Salvatore Iannotta<sup>2</sup>, Costantino Del Gaudio<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Consorzio di Ricerca Hypatia; <sup>2</sup>MEM – CNR.

#### ABSTRACT

Nell'ambito della ricerca oncologica lo sviluppo e messa a punto di metodiche innovative e non invasive in grado di diagnosticare precocemente la presenza di una patologia neoplastica e di fornire indicazioni sulla scelta terapeutica più adeguata è di fondamentale importanza. Lo sviluppo di sensori ad effetto SERS (surface enhanced Raman spectroscopy), ad elevata sensibilità, può quindi consentire (i) la diagnosi precoce tramite rivelazione di marcatori tumorali specifici presenti a concentrazioni molto basse, (ii) di "personalizzare" la terapia somministrando dosi calibrate di farmaco per minimizzare eventuali effetti collaterali, legati a sottodosaggio o sovradosaggio e (iii) di disporre di strumenti diagnostici più economici. La realizzazione di un tale dispositivo prevede l'impiego di oligonucleotidi di sintesi: gli aptameri, brevi sequenze di acidi nucleici aventi la proprietà di legarsi ad un determinato target con elevata affinità e specificità.

Presso il Consorzio di Ricerca Hypatia, in collaborazione con ricercatori CNR, sono in studio sensori realizzati a partire da superfici nanostrutturate di oro o di argento per la funzionalizzazione con aptameri, opportunamente selezionati, per il riconoscimento di determinati marcatori o chemioterapici. Il complesso così formato consente di individuare l'analita di interesse grazie ad un'amplificazione del segnale Raman, dovuta alle proprietà plasmoniche delle nanostrutture metalliche.

L'elevata risoluzione del sistema proposto permette inoltre di valutare la distribuzione dell'aptamero sulla superficie di misura, andando così ad individuare in maniera precisa i siti di interazione con la molecola in esame. Il sensore può essere alloggiato in un dispositivo microfluidico, appositamente progettato per essere facilmente posizionato sullo stage dello spettrometro Raman, in modo da semplificare e rendere automatico l'intero protocollo di misura. L'approccio iniziale qui presentato intende consolidare la definizione e realizzazione del sensore e del relativo sistema di rilevazione, dimostrando al contempo l'elevata flessibilità del sistema di misura proposto nel poter essere adattato a diverse richieste cliniche.

La presente attività di ricerca è svolta nell'ambito del progetto cofinanziato NanoBioTech: Salute e Ambiente (Legge Regionale n. 13/2008 - Promozione della ricerca e sviluppo dell'innovazione e del trasferimento tecnologico nella Regione Lazio).

## Poster N. 41

### RICERCA E SVILUPPO DI UN METODO PER L'ANALISI DI MIRNA COME BIOMARCATORI DI DANNO AL FEGATO.

**Blandino G., Mori F., Pulito C., Pediconi N., Guerrieri F., Belloni L., Strano S., Spedaletti V., Levrero M.**

Genechron S.r.l

#### ABSTRACT

I miRNA sono una classe di piccoli RNA non-coding che regolano l'espressione a livello post-trascrizionale e che risultano coinvolti in diverse patologie.

Numerosi miRNA sono in studio come biomarcatori, anche circolanti, per la diagnosi e la prognosi di diverse patologie epatiche, incluso il carcinoma epatocellulare e per l'identificazione dei pazienti con epatopatie croniche virali o steatosi.

L'epatocarcinoma rappresenta la seconda causa di morte per cancro nel mondo e la sua frequenza è in aumento, soprattutto nei casi di steatoepatite. L'IIT, in collaborazione con l'Unità di Oncogenomica ed Epigenetica dell'Istituto "Regina Elena", ha condotto uno studio incentrato sull'analisi di specifici miRNA come biomarcatori di danno epatico legato all'accumulo di lipidi ed alla steatosi.

L'analisi è stata condotta sia su modelli cellulari di steatosi vescicolare rappresentati da cellule dHepaRG trattate con acido oleico (OL) sia su modelli in vivo di steatosi epatica legata all'età topi invecchiati di 77 settimane. Gli esperimenti condotti in cellule dHepaRG hanno permesso di identificare dei miRNA modulati da OL attraverso l'attivazione del fattore STAT3 (miR-let7a, miR-18a, miR-21, miR-24, miR-34a, miR-26a, miR-122, miR-181-b e miR-221).

Il trattamento con un farmaco inibitore di STAT3 determina una riduzione dell'accumulo sia di trigliceridi sia di specie reattive dell'ossigeno indotto dall'OL ed inibisce l'induzione di miR-21 nelle cellule dHepaRG. L'analisi dei livelli di miR-122 in topi con steatosi epatica ha mostrato una correlazione fra i livelli di espressione di miR-122 nel fegato e il grado di progressione della steatosi epatica. Nel fegato di topi invecchiati, i livelli di miR-122 sono significativamente più alti rispetto ai topi giovani e risultano parzialmente ridotti dal trattamento con l'inibitore di STAT3. I topi trattati con l'inibitore di STAT3, che mostrano una steatosi del fegato attenuata, hanno anche bassi livelli sierici di miR-21 e di miR-122 rispetto ai topi non trattati.

Questi risultati suggeriscono come miR-21 e miR-122 possano essere utilizzati come biomarcatori sia per la diagnosi della steatosi epatica sia per la valutazione dell'attività di specifici farmaci.

I risultati di queste analisi saranno utilizzati da Genechron per la validazione in GLP di un metodo per la quantificazione assoluta del miR-21 e del miR-122 in siero.

## **IDENTIFICAZIONE DI PAZIENTI CON CARCINOMA GASTRICO AD ALTO RISCHIO MEDIANTE ANALISI DI BIOMARCATORI NEL LAVAGGIO PERITONEALE.**

**Anna Crescenzi<sup>1</sup>, Pamela Mozetic<sup>2</sup>, Chiara Taffon<sup>1</sup>, Isabella Giovannoni<sup>1</sup>, Marco Caricato<sup>3</sup>, Fabio Miraglia<sup>3</sup>, Giovanni Zelano<sup>4</sup>.**

<sup>1</sup>UOC Anatomia Patologica, Policlinico Universitario Campus Bio-Medico; <sup>2</sup> UOC Laboratorio Analisi, Policlinico Universitario Campus Bio-Medico; <sup>3</sup> UOC Chirurgia, Policlinico Universitario Campus Bio-Medico; <sup>4</sup> Giomi Innovation and Research S.r.l.

### **ABSTRACT**

Il carcinoma gastrico, il tumore maligno più frequente dello stomaco, è un problema di salute rilevante ed è la quinta causa di morte per cancro al mondo. Tra i fattori prognostici, l'individuazione di cellule tumorali intraperitoneali è associata ad una significativa diminuzione della sopravvivenza globale. L'attuale edizione del TNM classifica i pazienti con lavaggio peritoneale positivo come stadio IV. L'esame citologico del lavaggio peritoneale è lo strumento diagnostico di routine, tuttavia la sensibilità nell'individuare cellule tumorali nel liquido di lavaggio peritoneale è relativamente bassa e recidive neoplastiche intraperitoneali sono osservate anche nei pazienti con citologia negativa. Negli ultimi tempi sono state individuate tecniche immunocitochimiche e molecolari di supporto alla citologia per migliorare l'identificazione dei pazienti ad alto rischio.

L'obiettivo di questo studio è stato quello di aumentare la sensibilità e la specificità della diagnosi citologica del lavaggio peritoneale eseguendo analisi molecolari con l'utilizzo di un biomarcatore clinico per i tumori gastrointestinali, il Ceacam5. Sono stati valutati prospetticamente 20 pazienti sottoposti a chirurgia per carcinoma gastrico. Per ogni paziente il lavaggio peritoneale è stato analizzato sia mediante diagnostica citologica routinaria sia con tecniche molecolari (qRT-PCR). Dai campioni criopreservati è stato estratto RNA e retrotrascritto. Analisi di qRT-PCR sono state condotte mediante sonde TaqMan® per geni housekeeping (GAPDH, B-catenina) e per Ceacam5. L'analisi citologica routinaria del lavaggio peritoneale ha individuato 3 pazienti positivi per presenza di cellule tumorali su 20 esaminati (15%). L'analisi con tecniche molecolari ha confermato i 3 casi positivi ed ha permesso di individuare ulteriori 3 pazienti con positività neoplastica tra quelli risultati citologicamente negativi (18%). Nel complesso la qRT-PCR ha individuato 6 pazienti positivi (30%) raddoppiando la capacità identificativa dell'analisi citologica routinaria.

La sensibilità e la specificità della citologia del lavaggio peritoneale possono essere notevolmente migliorate mediante l'introduzione di tecniche molecolari. In questo ambito l'applicazione della qRT-PCR con l'analisi del biomarcatore Ceacam5 ha rivelato la capacità di aumentare significativamente la sensibilità della citologia permettendo di individuare pazienti ad alto rischio di recidiva, non identificati dall'analisi standard. Il test in qRT-PCR si propone pertanto come importante integrazione nella stadiazione di pazienti con carcinoma gastrico.

**L'ASSE PDI-PDLI NELLE MALATTIE LINFOPROLIFERATIVE**

**Anna Crescenzi<sup>1</sup>, Antonella Bianchi<sup>1</sup>, Ombretta Annibaldi<sup>2</sup>, Giuseppe Avvisati<sup>2</sup>, Fabio Miraglia<sup>3</sup>, Giovanni Zelano<sup>3</sup>.**

<sup>1</sup>UOC Anatomia Patologica, Policlinico Universitario Campus Bio-Medico; <sup>2</sup> UOC Ematologia, Policlinico Universitario Campus Bio-Medico; <sup>3</sup> Giomi Innovation and Research S.r.l.

**ABSTRACT**

L'asse PDI-PDLI è uno dei principali meccanismi utilizzati per sfuggire alla sorveglianza immunologica da parte di numerosi tumori nei quali si osserva un'up-regulation di PDLI.

Il successo delle terapie di blocco dei checkpoint immunitari nel trattamento di diversi tumori solidi ha incoraggiato la ricerca di simili risultati anche nello spettro delle malattie linfoproliferative. Allo scopo di migliorare l'efficacia terapeutica di tale approccio, diversi studi sono stati condotti per investigare e quantificare i livelli di espressione di PDI-PDLI mediante immunistochemica (IIC). Risultati affidabili possono essere ottenuti solo dopo la standardizzazione delle procedure di analisi. Ad oggi numerosi aspetti critici sono in fase di valutazione per determinare la riproducibilità dell'immunistochemica di PDI-PDLI.

La tecnica IIC è sensibile ai parametri preanalitici (ad es. il tempo di ischemia fredda, il tipo e la durata della fissazione). Sezioni di controllo positive e negative devono essere incluse in ogni sessione di colorazione. Un patologo esperto deve valutare il pattern di colorazione sia nelle cellule che morfologicamente appaiono in modo inequivocabile tumorali sia nelle cellule infiammatorie infiltranti. Il punteggio deve essere ottenuto utilizzando obiettivi 10-20x e se necessario confermato a 40x. L'espressione di PDLI deve essere valutata semiquantitativamente in aree rappresentative con la più alta percentuale di cellule neoplastiche, mentre le aree tumorali con necrosi devono essere escluse. Anche se è ancora in corso l'identificazione di un cutoff al di sopra del quale il tumore è considerato positivo l'immunistochemica è considerata il metodo più efficace per la selezione dei pazienti per la terapia anti-PDLI. Il materiale citologico di solito non consente una corretta valutazione della cellula colorata con anticorpi anti-PDLI. Se i campioni citologici sono l'unico materiale disponibile, è necessario ricorrere alla tecnica del cell block.

L'immunistochemica di PDLI come un saggio predittivo per la selezione dei pazienti per terapia anti-PD-I o anti-PDLI sta diventando un passaggio cruciale non solo nei tumori solidi ma anche nei linfomi. Per la convalida dei criteri di refertazione è necessaria una maggiore quantità di dati confermati. Nel frattempo i laboratori di patologia e le ematologie dovranno collaborare per lo sviluppo, la consegna e l'interpretazione dei test immunistochemici di PDLI.

## Poster N. 44

### **DRUG REPOSITIONING: NUOVE PROMESSE PER VECCHI FARMACI NELL'IMMUNOTERAPIA DEI TUMORI.**

**Laura Bracci, Federica Moschella, Enrico Proietti.**

Dipartimento Oncologia e Medicina Molecolare, Istituto Superiore di Sanità.

#### **ABSTRACT**

Il numero e la tipologia delle strategie terapeutiche proposte nel trattamento del cancro sta continuamente crescendo e conquistando sempre più spazio a fianco delle terapie correnti. Nel 2014, sono stati spesi per farmaci oncologici, in tutto il mondo, 100 miliardi di dollari e le vendite globali dei dieci farmaci oncologici più venduti hanno raggiunto la cifra senza precedenti di 43 miliardi di dollari. Con l'immissione sul mercato di nuovi farmaci a bersaglio molecolare e immunoterapici, dai costi elevatissimi, le spese per i Sistemi Sanitari Nazionali (SSN) stanno diventando insostenibili. Per i nuovi farmaci contro l'epatite virale, il melanoma e il tumore del polmone, solo nel 2017 in Italia, sono stati stanziati mille milioni di euro aggiuntivi alle precedenti spese del SSN ma lo spettro di tumori potenzialmente trattabili con i nuovi farmaci immunoterapici si sta allargando considerevolmente.

L'incremento delle conoscenze sui meccanismi di azione e di interazione di vecchi farmaci già approvati per l'uso clinico è in grado di permettere una rivisitazione ed un riposizionamento del loro utilizzo contro nuove patologie ed una possibile associazione con i nuovi immunoterapici con evidenti vantaggi legati alla conoscenza del loro profilo di sicurezza e ai ridotti tempi e costi di sviluppo industriale.

Sulla base dell'insieme delle conoscenze acquisite recentemente, due vecchi farmaci possono costituire un esempio virtuoso di nuovo utilizzo in associazione con l'immunoterapia: Ciclofosfamide e Interferone alfa/beta.

Il primo, un chemioterapico di prima generazione, noto per i suoi effetti citocidi ed immunosoppressivi, è stato rivisitato per i suoi effetti immunoadiuvanti e induttori di morte cellulare immunogenica. Del secondo, noto per le sue proprietà antivirali e antiproliferative, sono state messe in evidenza, tra le altre, le proprietà immunoadiuvanti e il ruolo fondamentale nell'avviare le risposte immunitarie e rinforzare la memoria immunologica. La combinazione dei due, nel trattamento dei tumori, è in grado di produrre, in modelli sperimentali, la captazione ed il riconoscimento di antigeni tumorali da parte del sistema immunitario attivando, di conseguenza, una risposta immunitaria antitumorale specifica e personalizzata che potrebbe essere fortemente potenziata dai nuovi "check point inhibitors" verosimilmente a dosaggi e costi molto più ridotti.

## Poster N. 45

### RETE DEL LAZIO PER LA MEDICINA TRASLAZIONALE E SVILUPPO DELLE BIOTERAPIE DEI TUMORI.

**Filippo Belardelli<sup>1</sup>, Rosina Bellizzi<sup>1</sup>, Mauro Biffoni<sup>1</sup>, Laura Bracci<sup>1</sup>, Elena Bravo<sup>2</sup>, Maria Cristina Errico<sup>2</sup>, Angela Guderzo<sup>1</sup>, Valentina La Sorsa<sup>2</sup>, Iole Macchia<sup>1</sup>, Maria Rosaria Napolitano<sup>2</sup>, Lucia Palmisano<sup>3</sup>, Paola Rizza<sup>4</sup>, Carmela Rozera<sup>5</sup>, Filippo Santoro<sup>2</sup>, Francesca Urbani<sup>1</sup>.**

<sup>1</sup>Dipartimento di Oncologia e Medicina Molecolare, Istituto Superiore di Sanità; <sup>2</sup>Servizio di Coordinamento e Supporto alla Ricerca, Istituto Superiore di Sanità; <sup>3</sup>Centro Nazionale Ricerca e Valutazione preclinica e clinica dei Farmaci, Istituto Superiore di Sanità; <sup>4</sup>Centro di Riferimento Medicina di Genere, Istituto Superiore di Sanità; <sup>5</sup>Servizio Grandi Strumentazioni e Core Facilities, Istituto Superiore di Sanità.

#### ABSTRACT

La Rete del Lazio per la Medicina Traslazionale e Sviluppo delle Bioterapie dei Tumori è un network di istituzioni a livello regionale che si occupa di ricerca preclinica e clinica, coordinata dall'Istituto Superiore di Sanità. Tale rete coinvolge Enti di Ricerca, Università e vari attori del settore privato in tutte le sue forme di organizzazione di impresa presenti sul territorio regionale. Gli obiettivi specifici sono :

- La creazione di una piattaforma informatizzata orientata alla conoscenza delle risorse (banche dati, molecole, campioni biologici, infrastrutture, competenze e servizi) disponibili su tutto il territorio regionale nel settore della medicina innovativa, con una particolare attenzione allo sviluppo di prodotti terapeutici e/o diagnostici di rilievo per la salute e il mercato, in particolare nel settore delle bioterapie antitumorali.
- La creazione di una rete di servizi per la sperimentazione clinica a supporto di tutte le varie fasi della sperimentazione clinica: dagli aspetti regolatori alla scrittura dei protocolli clinici, dal monitoraggio al data management.
- La creazione di una rete regionale per il monitoraggio immunologico degli studi clinici di bioterapie dei tumori, per la condivisione di competenze, protocolli, reagenti e conoscenze fra i principali centri che nella regione hanno un' expertise specifica in questa area fondamentale della biomedicina.
- La creazione di un network di GMP facilities della Regione Lazio al fine di favorire l'accesso e l'uso di tali strutture e per integrare e valorizzare competenze, risorse pubbliche e private.
- Lo sviluppo di percorsi di formazione e informazione rivolti al personale medico e di ricerca in ambito oncologico, al fine di promuovere le conoscenze sui trattamenti più innovativi e competitivi.
- Lo sviluppo di partenariati pubblico-privati, per favorire il dialogo con le imprese, e consentire il trasferimento in ambito industriale di prodotti bioterapeutici e/o diagnostici innovativi e di impatto per la salute e il mercato.

Il progetto di costituzione della Rete per la Medicina Traslazionale per il Lazio offre nuove opportunità di valorizzazione degli investimenti sul territorio e di collegamento all'Europa sia per partner pubblici che privati con ricadute per lo sviluppo tecnologico e industriale.

## Poster N. 46

### **ASSOCIAZIONE RICONOSCIUTA A\_IATRIS.**

**Coordinatore: Franca Moretti, Servizio di Coordinamento e Supporto alla Ricerca, Istituto Superiore di Sanità (eatris@iss.it).**

**Centro di Medicina Rigenerativa “Stefano Ferrari”, Modena; Centro Regionale Biomarcatori Diagnostici Prognostici e Predittivi, Azienda ULSS 3, Serenissima, Venezia; Consorzio Collezione Nazionale dei Composti Chimici e Centro Screening (CNCCS), Roma; Centro di Riferimento Oncologico (CRO), Aviano, Pordenone; Fondazione IRCCS “Istituto Nazionale dei Tumori”, Milano; Fondazione Santa Lucia, Roma; Istituto Oncologico Veneto IRCCS Padova; Istituto Ortopedico Galeazzi IRCCS, Milano; Istituto Ortopedico Rizzoli IRCCS, Bologna; Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri Milano; Istituto Mediterraneo per i Trapianti e Terapie ad Alta Specializzazione S.r.l., Palermo; Istituto Nazionale Tumori IRCCS “Fondazione G. Pascale”, Napoli; Istituto Scientifico Romagnolo per lo Studio e la Cura dei Tumori (I.R.S.T.), Meldola, Forlì-Cesena; Istituto Superiore di Sanità, Roma; Istituto di Ricerca Diagnostica e Nucleare S.D.N. S.p.a., Napoli; Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma; Ospedale San Raffaele S.r.l., Milano.**

### **ABSTRACT**

L'Associazione A\_IATRIS (Italian Advanced Translational Research Infrastructure), coordinata dall'Istituto Superiore di Sanità, è una Rete di diciassette istituzioni di eccellenza nel panorama nazionale in grado di fornire contributi specifici e complementari nell'area della medicina traslazionale.

A\_IATRIS rappresenta il Nodo nazionale dell'Infrastruttura Europea EATRIS (European Advanced Translational Research Infrastructure in Medicine) e coordina le attività relative ai servizi per la medicina traslazionale nel paese.

L'Associazione è finalizzata all'erogazione di servizi a utenti nazionali o internazionali per la realizzazione di progetti di ricerca mediante forme di collaborazione o di ricerca commissionata.

A\_IATRIS rende disponibili agli utenti tutte le facilities necessarie allo sviluppo di un farmaco da una prima validazione dell'ipotesi (proof of principle) fino alla proof of concept nell'uomo (studi clinici fase I/IIa). In particolare A\_IATRIS è organizzata in piattaforme per lo sviluppo di Prodotti Medicinali per Terapie Avanzate (PMTA), Piccole Molecole, Imaging e Tracing, Biomarcatori, Vaccini ed un servizio di consulenza su Intellectual Property & Technology Transfer.

**ASSOCIAZIONE RICONOSCIUTA A\_IATRIS: PIATTAFORMA IMAGING & TRACING.**

**Coordinatore A\_IATRIS: Franca Moretti, Servizio di Coordinamento e Supporto alla Ricerca, Istituto Superiore di Sanità (eatris@iss.it).**

**Centro di Riferimento Oncologico, Aviano, Pordenone; Fondazione Santa Lucia, Roma; Istituto di Ricerca Diagnostica e Nucleare S.D.N. S.p.a., Napoli; Istituto Mediterraneo per i Trapianti e Terapie ad Alta Specializzazione (ISMETT), Palermo; Istituto Nazionale Tumori "Fondazione G. Pascale", Napoli; Istituto Oncologico Veneto, Padova; Istituto Ortopedico Rizzoli, Bologna; Istituto Scientifico Romagnolo per lo Studio e la Cura dei Tumori (I.R.S.T.), Meldola, Forli-Cesena; Istituto Superiore di Sanità, Roma; Ospedale San Raffaele S.r.l., Milano.**

**ABSTRACT**

La piattaforma Imaging & Tracing di A\_IATRIS è in grado di offrire un'ampia serie di servizi nell'ambito dello sviluppo di traccianti e una completa gamma di tecniche di imaging multi-modali (PET / MRI, PET / CT, SPECT, MRI, MRS, ecografia e ottico) e analisi avanzata delle immagini, affrontando molti campi della ricerca pre-clinica e clinica.

Ad oggi partecipano alla piattaforma dieci istituzioni, che ricoprono diversi ambiti di competenza: Cardiovascolare, Farmacologia, Infiammazione, Malattie del sistema muscolo-scheletrico, Malattie neurodegenerative, Malattie psichiatriche, Oncologia, Ortopedia, Trapianti.

Gli obiettivi della piattaforma sono di contribuire alla messa a punto di nuove terapie (target therapy, stem cell imaging & tracking), promuovere la partecipazione a sperimentazioni cliniche, incrementare la professionalità in diversi campi, dalla ricerca di base alla clinica, sviluppare le sinergie per permettere un avanzamento delle ricerche con maggiore impatto traslazionale.

La distribuzione su tutto il territorio nazionale degli istituti che partecipano alla piattaforma facilita l'interazione e permette una maggiore omogeneità di accesso ai servizi disponibili.

## Poster N. 48

### **ASSOCIAZIONE RICONOSCIUTA A\_IATRIS: PIATTAFORMA VACCINI.**

**Coordinatore A\_IATRIS: Franca Moretti, Servizio di Coordinamento e Supporto alla Ricerca, Istituto Superiore di Sanità (eatris@iss.it).**

**Centro di Riferimento Oncologico, Aviano, Pordenone; Istituto Mediterraneo per i Trapianti e Terapie ad Alta Specializzazione (ISMETT), Palermo; Istituto Oncologico Veneto IRCCS, Padova; Istituto Scientifico Romagnolo per lo Studio e la Cura dei Tumori (I.R.S.T.) Meldola, Forlì-Cesena; Istituto Superiore di Sanità, Roma.**

#### **ABSTRACT**

La piattaforma Vaccini di A\_IATRIS, con i cinque istituti che la compongono, è in grado di offrire consulenza tecnico scientifica ed assistenza nel processo di sviluppo di vaccini nelle fasi precliniche e cliniche (e.g. modelli animali specifici, monitoraggio immunologico, accesso alle coorti di pazienti). I servizi offerti includono inoltre la produzione di vaccini (Vaccini vivi attenuati, basati su proteine ricombinanti o peptidi, DNA/RNA, Polisaccaridi, Vaccini coniugati), di sistemi di delivery (nanoparticelle, vettori virali), di adiuvanti (adiuvanti di origine batterica, carboidrati).

Molto ricca è l'offerta di modelli animali che comprendono:

- Modelli animali, di piccola e media taglia, per patologie tumorali e infettive per testare l'efficacia e la tossicità della vaccinazione; analisi delle risposte umorali e cellulari
- Modelli animali, di piccola e media taglia, per la sperimentazione di adiuvanti e sistemi di delivery
- Insettario.

Obiettivi della piattaforma sono:

- Garantire servizi in tempi brevi e con il minor dispendio di risorse
- Fornire consulenti esperti in ambito scientifico e regolatorio
- Stimolare collaborazioni strategiche per progetti comuni; promuovere attività didattiche e di formazione; incentivare le attività di scambio fra le piattaforme di prodotto, con particolare attenzione alla piattaforma ATMP per attività condivise.

## Poster N. 49

### **ASSOCIAZIONE RICONOSCIUTA A\_IATRIS: PIATTAFORMA PMTA.**

**Coordinatore A\_IATRIS: Franca Moretti, Servizio di Coordinamento e Supporto alla Ricerca, Istituto Superiore di Sanità (eatris@iss.it).**

**Centro di Medicina Rigenerativa “Stefano Ferrari”, Modena; Centro di Riferimento Oncologico, Aviano, Pordenone; Istituto Mediterraneo per i Trapianti e Terapie ad Alta Specializzazione (ISMETT), Palermo; Istituto Nazionale Tumori "Fondazione G. Pascale", Napoli; Istituto Ortopedico Rizzoli, Bologna; Ospedale San Raffaele S.r.l., Milano; Istituto Superiore di Sanità, Roma; Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma; Istituto Ortopedico Galeazzi, Milano; Istituto Oncologico Veneto IRCCS, Padova; Istituto Scientifico Romagnolo per lo Studio e la Cura dei Tumori (I.R.S.T.) Meldola, Forlì-Cesena.**

#### **ABSTRACT**

Partecipano alla piattaforma PMTA (Prodotti Medicinali per Terapie Avanzate) di A\_IATRIS undici centri che nel loro insieme coprono l'intera pipeline di produzione e sviluppo di PMTA e che sono caratterizzati da un'elevatissima eccellenza scientifica: infatti, su sei PMTA attualmente presenti sul mercato europeo, tre sono stati sviluppati in Italia da Istituti A\_IATRIS.

La piattaforma fornisce le tecnologie più qualificate e state-of-the-art per i problemi critici in questo settore di sviluppo, quali strutture specializzate di GMP, servizi di imaging per gli studi sugli animali in vivo, disponibilità di modelli animali dedicati/personalizzati, accesso alle strutture cliniche ed ai pazienti con malattie ad alta prevalenza e/o malattie rare.

I servizi offerti includono, per quanto riguarda la produzione, l'accesso a cinque officine farmaceutiche in GMP già autorizzate AIFA per un ampio spettro processi e prodotti.

Oltre a ciò sono disponibili piattaforme di sviluppo di vettori per trasduzione genica, gene editing, ingegneria tissutale del tessuto muscoloscheletrico (anche con modelli 3D) e malattie genetiche della pelle.

Sono inoltre disponibili modelli preclinici per malattie rare, vari tipi di cancro, malattie di osso, tendini e cartilagine, malattie della pelle e degli epitelii oculari.

Relativamente alla ricerca clinica la piattaforma è in grado di offrire l'accesso a coorti di pazienti, servizi clinici e sperimentazione clinica conforme alle GCP per malattie rare, vari tipi di cancro, malattie terminali d'organo, trapiantati, malattie di osso, tendini e cartilagine, malattie della pelle e degli epitelii oculari, e, inoltre, monitoraggio immunologico dei pazienti trattati con PMTA. La piattaforma include infine una rete di esperti in materia di regolamentazione specializzata nel campo dei PMTA per garantire la conformità alle linee guida di sviluppo preclinico e clinico in Europa.

**Poster N. 50**

**ASSOCIAZIONE RICONOSCIUTA A\_IATRIS: PIATTAFORMA BIOMARCATORI.**

**Coordinatore A\_IATRIS: Franca Moretti, Servizio di Coordinamento e Supporto alla Ricerca, Istituto Superiore di Sanità (eatris@iss.it).**

**Centro di Riferimento Oncologico, Aviano, Pordenone; Centro Regionale Specializzato per i Biomarcatori Diagnostici Prognostici e Predittivi Azienda ULSS 3, Serenissima, Venezia; Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori, Milano; Fondazione Santa Lucia, Roma; Istituto Mediterraneo per i Trapianti e Terapie ad Alta Specializzazione (ISMETT), Palermo; Istituto Nazionale Tumori "Fondazione G. Pascale", Napoli; Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri, Milano; Istituto Ortopedico Galeazzi, Milano; Istituto Oncologico Veneto IRCCS, Padova; Istituto Ortopedico Rizzoli, Bologna; Istituto Scientifico Romagnolo per lo Studio e la Cura dei Tumori (I.R.S.T.) Meldola, Forlì-Cesena; Istituto Superiore di Sanità, Roma.**

**ABSTRACT**

Le istituzioni della piattaforma biomarcatori di A\_IATRIS utilizzano infrastrutture all'avanguardia e posseggono una gamma di competenze scientifiche, tecnologiche e cliniche per fornire servizi professionali e di alta qualità nello sviluppo di questi prodotti.

Gli obiettivi della piattaforma riguardano l'identificazione, lo sviluppo e la validazione di nuovi biomarcatori diagnostici, prognostici e predittivi.

La piattaforma è caratterizzata da una molteplicità di approcci tecnologici per studi di proteomica (spettrometria di massa, reverse phase proteomic array, cromatografia, elettroforesi bidimensionale), genomica (microarrays, PCR quantitativa, next generation sequencing), immunodosaggi (ELISA, multiplex), microscopia ottica ed elettronica, istologia, immunoistochimica, ibridazione in situ, citometria / sorting di popolazioni rare, saggi biologici.

Ulteriori punti di forza della piattaforma sono rappresentati dalla partecipazione a numerose sperimentazioni cliniche, interazione con le altre piattaforme (Imaging, ATMP, Vaccini, Piccole molecole), disponibilità di biobanche con fluidi e tessuti per studi retrospettivi, applicazione di sistemi di qualità.

Per le sue caratteristiche la piattaforma è in grado quindi di sviluppare progetti, sia di ricerca collaborativa che commissionata, nel minimo tempo e con l'utilizzo più efficiente delle risorse, garantendo al contempo livelli elevati di eccellenza scientifica in conformità alle normative e a tutte le linee guida di sviluppo pre-cliniche e cliniche in Europa.

## Poster N. 51

### **ASSOCIAZIONE RICONOSCIUTA A\_IATRIS: PIATTAFORMA PICCOLE MOLECOLE.**

**Coordinatore A\_IATRIS: Franca Moretti, Servizio di Coordinamento e Supporto alla Ricerca, Istituto Superiore di Sanità (eatris@iss.it).**

**Consorzio Collezione Nazionale dei Composti Chimici e Centro Screening (CNCCS), Roma; Fondazione Santa Lucia, Roma; Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri, Milano; Istituto Nazionale Tumori "Fondazione G. Pascale", Napoli; Istituto Scientifico Romagnolo per lo Studio e la Cura dei Tumori (I.R.S.T.) Meldola, Forlì-Cesena; Istituto Superiore di Sanità, Roma.**

#### **ABSTRACT**

La piattaforma Piccole molecole di A\_IATRIS supporta lo sviluppo pre-clinico e clinico di farmaci utilizzando l'esperienza dei sei istituti di eccellenza che ne fanno parte e che offrono accesso a strutture di screening avanzate con test innovativi, nonché l'utilizzo integrato delle più recenti tecniche analitiche.

Le principali infrastrutture e metodologie disponibili comprendono:

- Animal Care Facilities (modelli transgenici e xenograft da tumori umani, modelli comportamentali)
- Infrastrutture per l'analisi di immagine in vivo (NMR, microscopia a due fotoni, micro TAC, micro PET)
- Infrastrutture per la sintesi, la purificazione e la caratterizzazione di peptidi con attività biologica
- Infrastrutture per la Farmacocinetica e la Farmacodinamica
- Infrastrutture per la Proteomica, Metabolomica, Genomica
- Piattaforme High-throughput screening (HTS) per l'identificazione e sviluppo di nuovi agenti terapeutici
- Collezione nazionale di più di 150.000 composti chimici con proprietà "drug-like"
- Modellizzazione in silico per relazioni quantitative tra struttura chimica e attività biologica, inclusa la predizione di tossicità.

Ulteriori punti di forza della piattaforma sono rappresentati dalla partecipazione a numerose sperimentazioni cliniche, interazione con le altre piattaforme, professionalità in diversi campi, dalla ricerca di base alla clinica, disponibilità di competenze di eccellenza sul territorio nazionale.