

**O.R.I.A.**

Osservatorio Ricerca e Innovazione Aziendale

Seduta del 3 Febbraio 2010

**DIPARTIMENTO ONCOLOGICO**

# O.R.I.A.

Osservatorio Ricerca e Innovazione Aziendale  
Seduta del 3 Febbraio 2010



## **U.O. LABORATORIO DI GENETICA**

**1) *Applicazione della tecnologia CGH (Comparative Genomic Hybridization) microarray per attività diagnostiche e di ricerca nella patologia genetica costituzionale e oncoematologica.***

**Dott.Croci**

DIPARTIMENTO ONCOLOGICO  
UNITA' OPERATIVA LABORATORIO DI GENETICA

# O.R.I.A.

Osservatorio Ricerca e Innovazione Aziendale  
Seduta del 3 Febbraio 2010



## **AVANZAMENTO DEI PROGETTI 2008-2009**

- 1) Progetto interdipartimentale per la determinazione del profilo di metilazione del promotore del gene MGMT**
- 2) Tumore ovarico e proteomica**
- 3) Studio degli SNPs (single nucleotide polymorphisms) dei principali geni coinvolti nei pathway infiammatori utilizzando tecniche di genotipizzazione dei TAG-SNPs mediante microarray (in collaborazione con SEQUENOM Inc.)**

DIPARTIMENTO ONCOLOGICO  
UNITA' OPERATIVA DI BIOLOGIA MOLECOLARE

# O.R.I.A.

Osservatorio Ricerca e Innovazione Aziendale  
Seduta del 3 Febbraio 2010

 4) ***Caratterizzazione dei meccanismi molecolari che regolano la progressione dei tumori della tiroide***

 Collaborazioni: ***Anatomia Patologica, Endocrinologia***

 Data d'inizio progetto: **2008**

DIPARTIMENTO ONCOLOGICO  
UNITA' OPERATIVA DI BIOLOGIA MOLECOLARE

# O.R.I.A.

Osservatorio Ricerca e Innovazione Aziendale

## *Razionale*

 La diagnosi dei tumori della tiroide è basata **ESCLUSIVAMENTE** su criteri morfologici, in quanto non si conoscono marcatori molecolari che correlino con l'aumento dell'aggressività del tumore

 Caratterizzare i meccanismi molecolari, che regolano l'invasione e la metastatizzazione dei tumori ben differenziati della tiroide, è necessario per identificare marcatori molecolari da applicare alla diagnosi dei pazienti

 Questo approccio potrebbe identificare inoltre nuovi target per lo sviluppo di approcci terapeutici alternativi.

DIPARTIMENTO ONCOLOGICO  
UNITA' OPERATIVA DI BIOLOGIA MOLECOLARE

# O.R.I.A.

Osservatorio Ricerca e Innovazione Aziendale

## ***Stato dell'arte: Esperimenti svolti e risultati ottenuti*** ***Analisi in vivo***

 Abbiamo analizzato, mediante immunohistochimica l'espressione del fattore di trascrizione Id1 in 56 tumori della tiroide. Abbiamo osservato che l'espressione di Id1 non correla con il grado di differenziamento del tumore ma è più frequente in lesioni non-anaplastiche che hanno sviluppato metastasi aggressive in 3 anni dalla lesione primaria.

 Inoltre, le cellule positive per Id1 tendono a localizzarsi nelle regioni di invasione del tumore.

# O.R.I.A.

Osservatorio Ricerca e Innovazione Aziendale

## ***Esperimenti in vitro:***

 Abbiamo ingegnerizzato una linea cellulare di tumore tiroideo ben differenziato per esprimere alti livelli di Id1

 Abbiamo dimostrato che elevati livelli di Id1:

1) non aumentano la velocità di proliferazione

2) aumentano la migrazione e l'invasività

3) conferiscono alle cellule la capacità di crescere in assenza di ancoraggio (necessario per la colonizzazione del sito di metastasi)

 Mediante la tecnica dei MICROARRAY abbiamo identificato 444 geni controllati da Id1. Fra loro geni che regolano: migrazione, citoscheletro, trascrizione e resistenza ai chemioterapici. Molti di questi geni sono già descritti come marcatori di malignità in altri tumori

 I risultati di questa fase del progetto sono stati descritti in un manoscritto sottomesso per la pubblicazione alla rivista *Journal of Cell Science*

# O.R.I.A.

Osservatorio Ricerca e Innovazione Aziendale

## ***Fase II: Caratterizzazione dei meccanismi molecolari attraverso i quali Id1 regola l'invasività dei tumori ben differenziati della tiroide***

 I risultati della fase I suggeriscono che Id1 induca la transdifferenziazione in senso mesenchimale delle cellule di tumore tiroideo. Questo processo è chiamato Epthelial-Mesenchymal Transition (EMT) ed è un processo reversibile che è necessario per consentire alla cellula tumorale di inavadere i tessuti adiacenti o le pareti dei vasi.

 Utilizzeremo diversi approcci in vitro per dimostrare che Id1 induce EMT nei tumori della tiroide

 Analizzeremo le modalità mediante le quali Id1 regola l'espressione di alcuni dei geni bersaglio identificati. In particolare ci concentreremo sul gene Runx2, per la sua novità e per il ruolo che potrebbe svolgere nella progressione dei tumori tiroidei.

 Analizzeremo in vivo l'espressione di alcuni dei geni bersaglio di id1 identificati nella fase I, per identificare una signature di geni in grado di predire l'elevata malignità dei tumori ben differenziati della tiroide.

# O.R.I.A.

Osservatorio Ricerca e Innovazione Aziendale  
Seduta del 3 Febbraio 2010

 **PROGETTI 2010**

## **1) MicroRNA e Malattie III Linea IRCCS: Complessità Biologica**

DIPARTIMENTO ONCOLOGICO  
UNITA' OPERATIVA DI BIOLOGIA MOLECOLARE

# Caratteristiche dei MicroRNA

-  Piccoli dsRNA non codificanti di ~ 22 nt
-  Raggruppati in sottofamiglie sulla base dell'omologia di sequenza
-  Profili di espressione specifici per tessuto o stadio di sviluppo
-  Trovati in animali, piante, virus
-  > 900 identificati nell'uomo (si ipotizzano circa 1000 miRNA)
-  Fino al 3-5% del genoma
-  Altamente conservati nell'evoluzione
-  Regolano l'espressione genica attraverso il legame alla regione 3'-UTR di specifici mRNA target
-  Un microRNA → molti geni (200 geni target)
-  Un mRNA → molti microRNA
-  Si stima che i microRNA possano regolare fino al 30%-50% dei geni umani
-  Regolatori chiave di sviluppo, proliferazione e morte cellulare, differenziamento, metabolismo, infezione virale, tumorigenesi

# **IPOTESI DI LAVORO**

**(definire il disegno sperimentale ed elaborare il protocollo)**

-  **Definire le ipotesi e la fattibilità dello studio (conoscitiva, strutturale ed economica)**
-  **Identificare le popolazione da inserire nello studio (tumore, infiammazione-vasculiti, patologia vascolare- trombotica, fibrosi polmonare)**
-  **Tipologia di indagine: eziologica(eseempio vasculiti, vascolare), diagnostica/ prognostica (tumori, vasculiti), suscettibilità genetica (fibrosi)**
-  **Metodologia di laboratorio: differente a secondo del tipo di studio ( MicroRNA: global expression, validazione con qPCR, studio in sito e di target genetico)**
-  **SNPs**

# O.R.I.A.

Osservatorio Ricerca e Innovazione Aziendale  
Seduta del 3 Febbraio 2010

## **PROGETTI 2010**

**2) Valutazione dei Polimorfismi P53 (Arg/Pro)  
codone 72 e MDM2 309(T/G) nei tumori della  
tiroide e loro funzionalità biologica**

DIPARTIMENTO ONCOLOGICO  
UNITA' OPERATIVA DI BIOLOGIA MOLECOLARE

# Obiettivi dello studio

 Valutare mediante uno studio di associazione caso-controllo il ruolo dei polimorfismi di p53(Arg/Pro) e di MDM2 309 nella suscettibilità e nella prognosi del tumore della tiroide.

 Determinare la funzione biologica dei polimorfismi 72Arg/Pro-p53 e 309 MDM2 nelle cellule di tumore tiroideo

# O.R.I.A.

Osservatorio Ricerca e Innovazione Aziendale  
Seduta del 3 Febbraio 2010

 **PROGETTI 2010**

## **3) Valutazione dei Polimorfismi P53 (Arg/Pro) codone 72 e MDM2 309(T/G) nei GIST**

**Valutare mediante uno studio di associazione caso-controllo il ruolo dei polimorfismi di p53(Arg/Pro) e di MDM2 309 nella suscettibilità e nella prognosi del GIST**

DIPARTIMENTO ONCOLOGICO  
UNITA' OPERATIVA DI BIOLOGIA MOLECOLARE

# O.R.I.A.

Osservatorio Ricerca e Innovazione Aziendale  
Seduta del 3 Febbraio 2010

 **PROGETTI 2010**

## **4) Applicazione di nanoimpulsi ad alto voltaggio per l'induzione di apoptosi in modelli sperimentali di linfoma cutaneo**

**Collaborazione tra: Lab.Biologia Molecolare  
Ematologia  
Dip. Ingegneria dell'Informazione  
(Univ. Di Parma)**

A new pulsed electric field therapy for melanoma disrupts the tumor's blood supply and causes complete remission without recurrence. *Richard Int. J. Cancer*: 125, 438–445 (2009)

**DIPARTIMENTO ONCOLOGICO  
UNITA' OPERATIVA DI BIOLOGIA MOLECOLARE**

# O.R.I.A.

Osservatorio Ricerca e Innovazione Aziendale  
Seduta del .....

## **Studio di proteine rilevanti nella risposta alla chemio- e radioterapia del linfoma di Hodgkin**

 L'attività di ricerca svolta sino ad ora riguarda la biologia del linfoma di Hodgkin, una neoplasia del sistema linfatico. Vengono utilizzate linee cellulari derivate da linfoma di Hodgkin per caratterizzare alcune proteine coinvolte nella risposta delle cellule tumorali a diversi stimoli, inclusa la chemio- e la radioterapia. Gli esperimenti hanno riguardato lo studio della risposta cellulare al trattamento con la citochina interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), con il chemoterapico doxorubicina e con radiazioni ionizzanti (raggi x). IFN- $\gamma$  è infatti una citochina rilevante nella patologia di tale tumore, mentre doxorubicina fa parte della prima linea di terapia per il linfoma di Hodgkin (ABVD). I raggi x, infine, vengono anch'essi utilizzati nella terapia del linfoma di Hodgkin.

DIPARTIMENTO DI ONCOLOGIA

UNITA' OPERATIVA DI EMATOLOGIA e BIOLOGIA MOLECOLARE

# O.R.I.A.

Osservatorio Ricerca e Innovazione Aziendale

**Gli esperimenti, svolti presso il Laboratorio di Biologia Molecolare, comprendono un ampio utilizzo delle seguenti tecniche:**

-  Colture cellulari
-  Estrazione e quantificazione di proteine, Western blotting e densitometria
-  Saggi di attività enzimatica ed utilizzo di inibitori per la misurazione dell'attività intracellulare di specifici enzimi (quali ad esempio la caspasi-3) e lo studio delle interazioni di tali enzimi con proteine regolative del processo di apoptosi o di sopravvivenza cellulare.
-  Citofluorimetria per il monitoraggio della cinetica di ingresso del farmaco doxorubicina all'interno delle cellule.
-  Saggi di valutazione dell'apoptosi mediante analisi citofluorimetrica di cellule marcate con Annessina V/Ioduro di Propidio.

DIPARTIMENTO DI ONCOLOGIA

UNITA' OPERATIVA DI EMATOLOGIA e BIOLOGIA MOLECOLARE

# O.R.I.A.

Osservatorio Ricerca e Innovazione Aziendale

**I risultati ottenuti sino ad ora hanno portato alla presentazione di due posters in occasione di Congressi internazionali:**

## **Clusterin/XIP8 is a stress inducible protein in Hodgkin lymphoma cell lines**

Frazzi R<sup>1,2</sup>, Casali B<sup>2</sup>, Iori M<sup>3</sup>, Paiusco M<sup>3</sup> and Merli F<sup>1</sup>

*<sup>1</sup>Hematology Division, <sup>2</sup>Molecular Biology Laboratory and <sup>3</sup>Medical Physics Division, Azienda Ospedaliera S.Maria Nuova, Reggio Emilia, Italy*

14th World Congress on Advances in Oncology. 15-17 October 2009, Loutraki, Greece.

## **Chemo- and radiotherapy induce common apoptotic mediators in Hodgkin's lymphoma**

Frazzi R<sup>1,2</sup>, Nicoli D<sup>2</sup>, Iori M<sup>3</sup>, and Merli F<sup>1</sup>

*<sup>1</sup>Hematology Division, <sup>2</sup>Molecular Biology Laboratory and <sup>3</sup>Medical Physics Division, Azienda Ospedaliera S.Maria Nuova, Reggio Emilia, Italy*

51st annual meeting of the American Society of Hematology, 5-8 December 2009, New Orleans, Louisiana.

# O.R.I.A.

Osservatorio Ricerca e Innovazione Aziendale

## Tissue bank dei linfomi

-  A partire dal 2009, grazie all'iniziativa del dott. Francesco Merli, è attiva una banca dei tessuti dei linfomi la quale prevede la criopreservazione di tessuto bioptico fresco
-  Questo progetto aziendale viene svolto presso la Biologia Molecolare in collaborazione con l'Anatomia Patologica

### *Scopi*

Una biobanca (Tissue bank) ha come scopo la conservazione di cellule, tessuti ed organi ai fini di ricerca. La sistematica archiviazione di tali materiali biologici e la loro integrazione con le informazioni cliniche ad essi correlate svolge un ruolo centrale nella ricerca traslazionale e negli studi di efficacia sui farmaci.

-  Parte dei tessuti bioptici, previa firma del modulo di consenso informato, vengono destinati al laboratorio di Biologia Molecolare dove vengono conservati per scopi di ricerca oncoematologica
-  Sono stati criopreservati a tutt'oggi 25 campioni

DIPARTIMENTO DI ONCOLOGIA

UNITA' OPERATIVA DI EMATOLOGIA e BIOLOGIA MOLECOLARE

# O.R.I.A.

Osservatorio Ricerca e Innovazione Aziendale

## Attività antitumorale di Resveratrolo nei linfomi

-  Resveratrolo è un composto fitochimico polifenolico presente in molti vegetali e purificato dalla buccia dell'acino d'uva
-  Resveratrolo ha dimostrato, tra le molte proprietà, anche una attività antitumora nei confronti di diversi modelli quali linee cellulari del cancro del colon e mieloma
-  Il limite principale all'utilizzo di Resveratrolo è rappresentato dalla sua bassa biodisponibilità metabolica (l'organismo umano espelle in brevissimo tempo il resveratrolo somministrato anche a dosi massicce) e si ha una scarsa conoscenza degli effetti collaterali della somministrazione
-  Ne consegue che sono auspicabili esperimenti volti a caratterizzare l'attività antineoplastica di Resveratrolo e dei suoi derivati nelle malattie linfoproliferative.