



Ministero della Salute – Direzione Generale della Ricerca e dell’Innovazione in Sanità

Fondi 5 per mille ANNO 2021  
Abstract ed elenco pubblicazioni scientifiche

Ente della Ricerca Sanitaria

Denominazione Ente: Fondazione IRCCS Casa Sollievo della Sofferenza

Codice fiscale: 00138660717

Sede legale: Viale Cappuccini, 71013 San Giovanni Rotondo

Indirizzo di posta elettronica dell'ente: [segreteria.scientifica@operapadrepio.it](mailto:segreteria.scientifica@operapadrepio.it)

Dati del rappresentante legale: Michele Giuliani

**Titolo del progetto:** Sviluppo di prodotti diagnostici e terapeutici in vivo innovativi in oncologia

**Abstract dei risultati ottenuti:**

Si riportano di seguito i principali risultati raggiunti nel 2021:

1) Nell’ambito di studio del cancro al colon (CRC), linee stabili di cellule staminali tumorali (CSCs) sono state isolate da tessuti di pazienti affetti da neoplasia al colon e successivamente alla fase di caratterizzazione funzionale e molecolare sono state utilizzate per creare un innovativo modello murino iniettando CRC stem-like cells isolate da pazienti portatori della mutazione nel gene BRAFV600E realizzando così un nuovo modello murino di questo sottotipo di CRC. In questo modo è possibile ricreare anche per questa neoplasia un modello di studio fedele alla patologia di origine del paziente. Avvantaggiandoci di questo modello sperimentale abbiamo altresì scoperto che i modelli animali xenograft portatori della mutazione BRAFV600E sono caratterizzati da un profilo microbico distintivo rispetto al modello CRC wild type. I nostri dati hanno infatti messo in risalto la presenza di biomarcatori microbici a livello intestinale che possano fungere da fattori predittivi e discriminanti dello stato BRAF non solo utili per una diagnosi non invasiva ma anche perché aprono la strada a nuovi interventi terapeutici personalizzati ed ottimizzati.

2) Nell’ambito di studio del tumore al pancreas abbiamo generato un modello animale utilizzato anche per indagare l’effetto del protocollo terapeutico gemcitabina in combinazione con l’abraxane sul profilo del microbiota intestinale. Quest’ultimo è risultato ampiamente modificato dai trattamenti chemioterapici. La reintegrazione di una miscela di probiotici multiceppo, atta a ripristinare l’eubiosi del microbiota intestinale, ha dimostrato come è possibile attenuare gli effetti collaterali della chemioterapia in un modello in vivo di cancro del pancreas.

I nostri recenti dati hanno dimostrato un’efficacia della miscela di probiotici multiceppo nell’inibire la proliferazione delle cellule tumorali di pancreas in vitro. A seguito dei nostri trattamenti con probiotici e chemioterapici abbiamo osservato un rimarchevole aumento di

microorganismi produttori di butirato che è un acido grasso a corta catena con provata azione antiproliferativa, antiinvasiva e antiinfiammatoria in modelli in vivo di cancro del pancreas.

A tal proposito abbiamo utilizzato i topi con il seguente schema:

- xenograft Pancreatic cancer mice
- xenograft Pancreatic cancer mice + Gemcitabina+ Abraxane
- xenograft Pancreatic cancer mice + miscela protici multiceppo
- xenograft Pancreatic cancer mice + miscela protici multiceppo + Gemcitabina+ Abraxane

Al fine di comprenderne i meccanismi attraverso i quali i microorganismi presenti nel microbiota intestinale espletano la loro funzione benefica abbiamo altresì intrapreso esperimenti di metabolomica sui sieri degli animali. Gli esperimenti attualmente in corso evidenziano come i metaboliti prodotti dai ceppi contenuti nella miscela siano presenti nel siero murino.

3) Con l'intento di generare e ottimizzare recettori CAR e immunoterapie più efficienti per l'eliminazione di popolazioni tumorali resistenti ai trattamenti terapeutici convenzionali, abbiamo identificato nuovi target cellulari espressi in pazienti affetti da malattia minima residua (MRD) nelle leucemie linfoblastiche acute (LLA) a cellule T, attraverso tecniche di sequenziamento a singola cellula in combinazione a saggi immunofenotipici (Ab-seq). Questo approccio sperimentale ha consentito di caratterizzare la variabilità cellulare delle LLA a cellule T prima/dopo il trattamento chemioterapeutico convenzionale, evidenziando popolazioni linfocitarie particolarmente aggressive e arricchite con cellule staminali leucemiche (CSL). Stiamo quindi procedendo a convalidare questi dati in vivo attraverso xenotrapianti in topi immunocompromessi (NSG). Nello specifico, le popolazioni cellulari leucemiche, esprimenti i marcatori cellulari di superficie identificati attraverso il saggio di Ab-Seq, sono state isolate da campioni di sangue periferico/midollo spinale, provenienti direttamente dai pazienti e senza nessuna espansione in vivo/vitro, alla diagnosi e dopo un mese dal primo trattamento terapeutico. I dati preliminari confermano l'arricchimento di cellule CSL nelle popolazioni studiate ed evidenziano il coinvolgimento dei marcatori extracellulari identificati, con un possibile uso clinico compatibile con la terapia CAR. Cellule CAR-T contro i marcatori cellulari già identificati nella prima fase di questo studio sono infatti in fase di produzione e la loro efficacia sarà a breve valutata in vitro e in vivo in combinazione con i farmaci antitumorali attuali.

Prodotti della Ricerca (correlati al progetto):

**Elenco pubblicazioni su riviste indicizzate:**

1) Trivieri N, Pracella R, Cariglia MG, Panebianco C, Parrella P, Visioli A, Giani F, Soriano AA, Barile C, Canistro G, Latiano TP, Dimitri L, Bazzocchi F, Cassano D, Vescovi AL, Paziienza V, Binda E. BRAFV600E mutation impinges on gut microbial markers defining novel biomarkers for serrated colorectal cancer effective therapies. *J Exp Clin Cancer Res.* 2020 Dec 14;39(1):285. doi: 10.1186/s13046-020-01801-w.

2) Panebianco C, Pisati F, Ulaszewska M, Andolfo A, Villani A, Federici F, Laura M, Rizzi E, Potenza A, Latiano TP, Perri F, Tripodo C, Paziienza V. Tuning gut microbiota through a probiotic blend in gemcitabine-treated pancreatic cancer xenografted mice. *Clin Transl Med.* 2021 Nov;11(11):e580. doi: 10.1002/ctm2.580.

3) Panebianco C, Trivieri N, Villani A, Terracciano F, Latiano TP, Potenza A, Perri F, Binda E, Paziienza V. Improving Gemcitabine Sensitivity in Pancreatic Cancer Cells by Restoring miRNA-217 Levels. *Biomolecules.* 2021 Apr 26;11(5):639. doi: 10.3390/biom11050639.

4) "Log reduction of leukemic cells and minimal residual disease by flow cytometry represent effective predictors of clinical outcome in elderly patients with acute myeloid leukemia. " Rossi G, Giambra V, de Waure C, Giacchetta I, Minervini MM, Abbenante MC, Spadano R, La Torre A, Scalzulli PR, Cascavilla N. Cytometry B Clin Cytom. 2021 May 13. doi: 10.1002/cyto.b.22010. Online ahead of print. PMID: 33983682

5) "Protein Tyrosine Kinases: Their Roles and Their Targeting in Leukemia. "K Bhanumathy K, Balagopal A, Vizeacoumar FS, Vizeacoumar FJ, Freywald A, Giambra V. Cancers (Basel). 2021 Jan 7;13(2):184. doi: 10.3390/cancers13020184. PMID: 33430292

6) "Targeting Leukemia-Initiating Cells in Acute Lymphoblastic Leukemia." Tamiro F, Weng AP, Giambra V. Cancer Res. 2021 Jan 7. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-20-2571. Online ahead of print. PMID: 33414170

Data 29/03/2022

Il Responsabile del Progetto  
Dott.ssa Elena Binda

Il Legale Rappresentante  
Dott. Michele Giuliani

Si autorizza al trattamento dei dati ai sensi del d.lgs. 196/2003

Il Legale Rappresentante  
Dott. Michele Giuliani