

## Linee di ricerca

L'attività di ricerca del Laboratorio di Oncologia si esplica in tre aree principali:

- a) neuroblastoma ed altri tumori di derivazione neuroectodermica
- b) leucemie e linfomi con particolare riferimento alle malattie linfoproliferative dei linfociti B
- c) cellule staminali mesenchimali e tumorali

a) Gli studi sul **neuroblastoma** assorbono oltre la metà delle risorse di personale ed economiche del Laboratorio. Tale concentrazione di forze su questo tumore è giustificata dal fatto che il Gaslini è il Centro di Riferimento nazionale per la cura del neuroblastoma e presso l'Istituto esiste una situazione ottimale per la ricerca (banca integrata di tessuto e materiale biologico, data base, ecc...).

Le ricerche attualmente in corso presso il Laboratorio di Oncologia riguardano: 1) studio dei meccanismi di "evasione" utilizzati dalle cellule tumorali per sfuggire al controllo del sistema immunitario e lo sviluppo di nuove strategie di immunoterapia capaci di aggirare gli stratagemmi posti in opera dal tumore; 2) studio dei meccanismi di angiogenesi tumorale e sviluppo di nuove modalità di "targeting" dei vasi tumorali usando liposomi caricati con diversi tipi di farmaci anti-neoplastici e indirizzati ai vasi del tumore mediante legame con piccole molecole che riconoscono ligandi specifici; 3) usando una strategia simile, sono stati sviluppati liposomi trasportatori di farmaci a cui è stato legato un anticorpo che riconosce specificamente il ganglioside GD2 espresso sulla superficie delle cellule tumorali; 4) analisi delle interazioni cellulari che si verificano nel microambiente del tumore con particolare riferimento alla caratterizzazione di popolazioni di cellule immunosoppressive, come linfociti T regolatori e cellule mieloidi soppressive, che favoriscono la crescita neoplastica deprimendo la risposta immune anti-tumore; 5) studio della malattia residua minima nel midollo osseo e nel sangue periferico di pazienti con neuroblastoma in diversi stadi di malattia; 6) produzione di anticorpi monoclonali anti-tumore da parte di linfociti B memoria isolati dal sangue periferico dei pazienti al fine di identificare nuovi antigeni tumore-associati e sviluppare nuovi agenti immunoterapeutici; 7) studio dei meccanismi di invasività delle cellule tumorali con particolare riferimento a chemochine e loro recettori; 8) studi di CGH (comparative genomic hybridization) array per identificare nuovi marcatori prognostici in un piccolo gruppo di pazienti affetti da tumori localizzati (solitamente a buona prognosi) che recidivano localmente o metastatizzano; 9) studio della "signature" tumorale nel midollo osseo infiltrato di pazienti con malattia metastatica mediante array di espressione; 10) studi di silenziamento di geni cruciali per la crescita tumorale mediante trasfezione di piccole molecole di RNA (siRNA).

Gli esperimenti vengono condotti in vitro ed in vivo, utilizzando modelli animali che mimano le modalità di sviluppo e crescita del tumore umano. La collaborazione con diverse strutture interne ed esterne al Gaslini è essenziale per il successo di queste ricerche. Tra le prime vanno ricordate il Laboratorio di Anatomia Patologica ed il Dipartimento di Ematologia ed Oncologia Pediatrica, tra le seconde il Servizio di Sperimentazione Animale dell'IST di Genova.

La ricerca su **leucemia e linfomi** verte sullo analisi di espressione e funzione di recettori per citochine e chemochine sulle cellule neoplastiche. La filosofia alla base di questi studi

si fonda sulla comparazione delle caratteristiche delle cellule tumorali e delle loro controparti normali al fine di svelare differenze che possano essere sfruttate dal punto di vista terapeutico.

L'IL-12 è una citochina nota per la capacità di attivare risposte immuni anti-tumore e di inibire l'angiogenesi tumorale. Abbiamo identificato un terzo meccanismo d'azione dell'IL-12, cioè il legame diretto al proprio recettore sulla superficie di alcune cellule tumorali derivanti dai linfociti B e la conseguente inibizione della crescita delle cellule maligne. Attualmente questi studi sono estesi ad altri tumori ematologici come la leucemia mieloide acuta pediatrica.

Le chemochine giocano un ruolo chiave nella mobilitazione delle cellule normali e neoplastiche; nel caso di queste ultime, alcune chemochine possono facilitarne la disseminazione metastatica. Stiamo studiando attualmente il ruolo della chemochina CX<sub>3</sub>CL1 e del suo recettore CX<sub>3</sub>CR1 nella migrazione dei linfociti B umani normali e delle loro controparti tumorali.

Le **cellule staminali** sono dotate di due proprietà fondamentali, auto rinnovamento e capacità di differenziare. Esiste solida evidenza che la crescita di un tumore sia sostenuta da un numero limitato di cellule staminali tumorali: la sfida è colpire selettivamente tali cellule per bloccare irreversibilmente la progressione del tumore. Studi recenti del Laboratorio hanno dimostrato che una quota di vasi che irrorano il tumore (neuroblastoma) derivano direttamente dalle cellule tumorali attraverso meccanismi ignoti. L'ipotesi più probabile è che le cellule staminali del tumore, in risposta a stimoli provenienti dal loro microambiente, acquisiscano la capacità di trans differenziare in cellule endoteliali. Studi in corso nel Laboratorio hanno portato all'identificazione preliminare di una putativa cellula staminale tumorale coinvolta in questo processo.

Le cellule staminali mesenchimali possiedono la capacità di differenziare in adipociti, condrociti ed osteoblasti. Sono inoltre dotate di complesse attività immunoregatorie che costituiscono la base razionale per il loro impiego nel trattamento di patologie autoimmuni. Il Laboratorio ha contribuito significativamente a caratterizzare i bersagli cellulari ed i meccanismi della immunoregolazione mediata dalle cellule staminali mesenchimali e continua a lavorare in questa direzione. Per quanto riguarda i loro rapporti con i tumori è stato accertato in diversi modelli sperimentali che le cellule staminali mesenchimali migrano con elevata selettività nella sede della lesione tumorale dove contribuiscono alla formazione del microambiente locale spesso facilitando la crescita o la metastatizzazione del tumore. Studi in corso mirano a comprendere la funzione di queste cellule in relazione al neuroblastoma eventualmente sfruttandone la capacità di targeting a fini terapeutici.

Oltre a portare avanti queste linee principali di ricerca, il Laboratorio è coinvolto in numerosi studi collaborativi nei seguenti settori: 1) patogenesi delle aplasie midollari su base immunologica (in collaborazione con il Dr. Carlo Dufour, Dipartimento di Ematologia e Oncologia Pediatrica, Gaslini); 2) ruolo dei linfociti B nell'artrite giovanile (in collaborazione con il Dr. Marco Gattorno ed il Prof. Alberto Martini, Divisione di Pediatria ad indirizzo endocrinologico e reumatologico); 3) caratterizzazione immunologica e genetica di medulloblastoma ed ependimoma pediatrici (in collaborazione con la Dr.ssa Maria Luisa Garrè ed il Dr. Armando Cama, Divisione di Neurochirurgia).

Il Laboratorio di Oncologia è impegnato in alcune prestazioni assistenziali intramurali che riguardano la caratterizzazione immunologica a) degli organi linfoidi di pazienti pediatrici con linfoma o sospetto linfoma (in collaborazione con il Laboratorio di Anatomia Patologica e b) di campioni biologici di pazienti pediatrici affetti da sospetta immunodeficienza (in collaborazione con il Laboratorio di Analisi Cliniche ed il Servizio Immunotrasfusionale).

Infine il Laboratorio di Oncologia partecipa all'attività della BITE detiene un deposito di campioni congelati di sospensioni cellulari di linfociti da pazienti con malattie linfoproliferative e immunodeficienze