



Rapporti

ISTISAN

11/1



PROGRAMMA STRAORDINARIO ONCOLOGIA 2006
Art. 3 "Rete nazionale solidale
e collaborazioni internazionali (ISS per ACC)"
Consuntivo dell'attività scientifica
(2009-2010)



ISSN 1123-3117

A cura di
F. Moretti, C. Lombardo, M. Pierotti,
L.G. Spagnoli e F. Belardelli

www.iss.it

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

PROGRAMMA STRAORDINARIO ONCOLOGIA 2006 **Art. 3 “Rete nazionale solidale** **e collaborazioni internazionali (ISS per ACC)”** **Consuntivo dell’attività scientifica** **(2009-2010)**

A cura di

Franca Moretti (a), Claudio Lombardo (b, c), Marco Pierotti (c, d),
Luigi Giusto Spagnoli (c, e) e Filippo Belardelli (a)

(a) Dipartimento di Biologia Cellulare e Neuroscienze, Istituto Superiore di Sanità, Roma

(b) Rapporti Scientifici Internazionali, Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro, Genova

(c) Alleanza Contro il Cancro, Roma

(d) Direzione Scientifica, Fondazione IRCCS, Istituto Nazionale dei Tumori, Milano

(e) Dipartimento di Biopatologia e Diagnostica per Immagini, Università di Tor Vergata, Roma

ISSN 1123-3117

Rapporti ISTISAN

11/1

Istituto Superiore di Sanità

Programma Straordinario Oncologia 2006. Art. 3 “Rete nazionale solidale e collaborazioni internazionali (ISS per ACC)”. Consuntivo dell’attività scientifica (2009-2010).

A cura di Franca Moretti, Claudio Lombardo, Marco Pierotti, Luigi Giusto Spagnoli e Filippo Belardelli
2011, xi, 229 p. Rapporti ISTISAN 11/1

Con il DM 21 luglio 2006, il Ministero della Salute ha lanciato il “Programma Straordinario Oncologia 2006” e, tramite l’art. 3 (“Rete nazionale solidale e collaborazioni internazionali”), sono state tracciate le linee di un intervento globale per favorire una nuova strategia di collaborazione tra i membri di Alleanza contro in cancro (ACC) attraverso lo sviluppo di progetti coordinati per l’oncologia. L’art. 3 ha stabilito, infatti, l’assegnazione all’Istituto Superiore di Sanità (ISS) di 30 milioni di euro per attuare quattro programmi oncologici con finalità diverse ma complementari. Il programma ha permesso di promuovere nuove sinergie attraverso la condivisione delle migliori competenze, conoscenze e capacità in diversi campi dell’oncologia. Questo volume contiene il consuntivo di tre anni dell’attività scientifica relativa all’art. 3 del programma (presentate al convegno tenutosi a Roma il 10 e 11 febbraio 2011 che è stato riconosciuto dall’Unione Internazionale per il Controllo del Cancro nell’ambito degli eventi del World Cancer Day) e testimonia sia l’ampiezza delle iniziative intraprese a livello nazionale e internazionale, sia la qualità e rilevanza dei risultati ottenuti nell’ambito dei diversi progetti di ricerca.

Parole chiave: Neoplasie; Ricerca biomedica; Programmi sanitari nazionali

Istituto Superiore di Sanità

2006 Extraordinary Oncology Programme. Art. 3 “National Support Network and International Cooperation (ISS for ACC)”. 2009-2010 Report on Scientific Activity.

Edited by Franca Moretti, Claudio Lombardo, Marco Pierotti, Luigi Giusto Spagnoli and Filippo Belardelli
2011, xi, 229 p. Rapporti ISTISAN 11/1 (in Italian)

On July 21st, 2006, the Ministry of the Health issued a ministerial decree launching a national initiative called the “2006 Extraordinary Oncology Programme”. In particular, the article 3 of the decree (“National Support Network and International Cooperation”) established a national agenda to favour a new strategy of collaboration between the members of ACC. Moreover, the article 3 granted an allocation of 30 million euro to the Istituto Superiore di Sanità (ISS, the National Institute of Health in Italy) to implement four oncology programmes with various but complementary purposes. The initiative has allowed to promote new synergies through the sharing of best skills, knowledge and competence in various fields of oncology. This volume reports the main results of the scientific activities carried out during a 3-year period (presented during a conference, included in the events of the World Cancer Day by UICC, held in Rome on 10 and 11 February 2011) and testifies the quality of the scientific level and the scope of the initiatives at national and international level.

Key words: Neoplasms; Biomedical research; National Health Programs

Si ringrazia Angela Guderzo per la sua preziosa collaborazione nell’elaborazione del presente volume.

Per informazioni su questo documento scrivere a: franca.moretti@iss.it

Il rapporto è accessibile online dal sito di questo Istituto: www.iss.it.

Citare questo documento come segue:

Moretti F, Lombardo C, Pierotti M, Spagnoli LG, Belardelli F (Ed.). *Programma Straordinario Oncologia 2006. Art. 3 “Rete nazionale solidale e collaborazioni internazionali (ISS per ACC)”. Consuntivo dell’attività scientifica (2009-2010)*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2011. (Rapporti ISTISAN 11/1).

Presidente dell’Istituto Superiore di Sanità e Direttore responsabile: *Enrico Garaci*
Registro della Stampa - Tribunale di Roma n. 131/88 del 1° marzo 1988

Redazione: *Paola De Castro, Sara Modigliani e Sandra Salinetti*
La responsabilità dei dati scientifici e tecnici è dei singoli autori.



INDICE

Lista delle abbreviazioni	v
Presentazione	vii

PROGRAMMA 1

Riduzione delle disparità nell'accesso dei pazienti ai mezzi diagnostici e alle terapie

Articolazione del programma	3
Qualità di vita e ICF in pazienti oncologici <i>Giuseppina Majani</i>	4
Metastasi ossee: miglioramento della qualità di vita e di assistenza <i>Stefano Liverani</i>	8
Modelli interdisciplinari d'intervento per la cura dei pazienti oncologici in età geriatrica <i>Umberto Tirelli</i>	11
Database clinico e biobanca per lo studio di pazienti oncologici anziani e delle patologie età-correlate <i>Fiorella Guadagni, Francesco Schittulli</i>	16
Approccio socio-assistenziale alle problematiche del paziente oncologico anziano <i>Stefano Vella, Loredana Falzano</i>	21
Comunicazione e strutture informative in oncologia <i>Stefano Vella, Francesco De Lorenzo</i>	26
Basi scientifiche per la definizione di linee guida in oncologia <i>Rosella Silvestrini</i>	31
Portale di Alleanza Contro il Cancro <i>Paolo Roazzi</i>	34

PROGRAMMA 2

Integrazione delle attività di ricerca attraverso la costruzione di strutture e reti di collaborazione interistituzionali

Articolazione del programma	39
Rete nazionale biobanche per l'oncologia <i>Angelo Paradiso, Giovanni Migliaccio</i>	40
Rete nazionale per studi clinici e di strutture GMP per le bioterapie dei tumori <i>Giorgio Parmiani, Enrico Proietti</i>	46
Rete nazionale "Progetto START": stato dell'arte in oncologia <i>Lisa Licitra, Ruggero De Maria</i>	51
Rete nazionale dei registri tumori: indicatori e controllo del cancro in Italia <i>Riccardo Capocaccia, Marina Vercelli, Eugenio Paci, Piero Picci</i>	55
Rete nazionale su modelli sperimentali e facilities animali <i>Gennaro Citro, Stefano Fais</i>	58

Network nazionale italiano Tumori Eredo-Famigliari (InTEF) <i>Paolo Radice, Liliana Varesco, Franca Podo, Margherita Bignami</i>	68
Rete Nazionale di Bioinformatica Oncologica (RNBIO) <i>Paolo Romano, Marco Crescenzi</i>	74
Rete nazionale telepatologia (TESEO) <i>Antonino Carbone</i>	84
Rete nazionale per la cura e la ricerca dei sarcomi muscoloscheletrici <i>Piero Picci</i>	88

PROGRAMMA 3

Trasferimento delle conoscenze allo sviluppo di interventi volti a prevenire, diagnosticare e trattare il cancro: presentazione dei progetti

Articolazione del programma	95
Nuove molecole dell'infiammazione: trasferimento dal laboratorio al letto del paziente <i>Alberto Mantovani</i>	96
Base molecolare delle malattie mieloproliferative croniche e sviluppo di nuove terapie <i>Mario Cazzola</i>	106
Immunoterapia con il peptide EGFRvII nel Glioblastoma multiforme e in altri tumori solidi <i>Gaetano Finocchiaro</i>	113
Sviluppo vaccini idiotipici per studi di fase I-II di immunoterapia "subset specifica" per pazienti con disordini linfoproliferativi a cellule B <i>Riccardo Dolcetti</i>	116
Applicazione della chemioterapia alla rimodulazione della risposta immune antitumorale: studio dei meccanismi e <i>proof-of-concept</i> nell'uomo <i>Enrico Proietti</i>	126
Identificazione di marcatori per la predizione della risposta a nuovi farmaci antitumorali (inibitori di HDAC, tirosino chinasi e pompe ioniche) <i>Pier Giuseppe Pelicci</i>	131
Il microambiente tumorale come bersaglio terapeutico <i>Alessandro Gianni</i>	139
Sviluppo di nuovi farmaci capaci di alterare il microambiente tumorale e ripristinare la risposta immune anti-tumorale <i>Vincenzo Bronte</i>	146
Recettori per chemochine come marcatori biologici e molecolari di risposta clinica e target diagnostico terapeutico <i>Stefania Scala</i>	155
Sviluppo di nuove terapie nei sarcomi muscoloscheletrici: immunoterapia e target terapia a confronto <i>Piero Picci</i>	160
Terapie biologiche combinate e personalizzate nei tumori solidi: Studi di fase I-II <i>Giorgio Parmiani</i>	165
Nuove molecole e peptidi quali farmaci regolatori del ciclo cellulare e della risposta a chemioterapici nei tumori epiteliali e cutanei <i>Gerry Melino</i>	169

PROGRAMMA 4

Promozione della collaborazione internazionale con particolare riferimento a quella europea

Introduzione <i>Claudio Lombardo, Filippo Belardelli</i>	179
Articolazione del programma	183
TRAIN - Training through Research Application Italian iNitiative <i>Claudio Lombardo, Sergio Bottero, Francesca d'Alessandro, Mauro Giacomini, Germana Giaquinto, Angela Guderzo, Franca Moretti, Nadia Nasso, Giorgia Pesce, Luigi Giusto Spagnoli, Filippo Belardelli</i>	184
TRANSCAN: ERA-NET on Translational Cancer Research <i>Maria Ferrantini, Massimo Casciello, Claudio Lombardo, Maria Romero, Filippo Belardelli</i>	188
Ruolo di Alleanza Contro il Cancro (ACC) nella partecipazione italiana all'infrastruttura europea Bio-Banking and Biomolecular Resources Research Infrastructure (BBMRI) <i>Elena Bravo, Filippo Belardelli, Giuliano D'Agnolo, Maria Grazia Daidone, Claudio Lombardo, Franca Moretti, Paolo Roazzi, Barbara Parodi, Carlo Petrini, Luigi Giusto Spagnoli, Angelo Paradiso</i>	195
Partecipazione a ECRIN - European Clinical Research Infrastructures Network <i>Flavia Pricci, Filippo Belardelli, Silvio Garattini, Giancarlo Palmieri, Maria Romero, Armando Santoro, Marika Villa, Claudio Lombardo</i>	203
European Advanced Translational Research InfraStructure in Medicine (EATRIS) <i>Filippo Belardelli, Gemma Calamandrei, Cintia Carella, Gianluigi Condorelli, Marco Crescenzi, Maria Grazia Daidone, Francesca D'Alessandro, Maria Ferrantini, Maria C. Galli, Mauro Giacomini, Annarita Meneguz, Cristina Messa, Giovanni Migliaccio, Franca Moretti, Carlo Petrini, Maria Picchio, Franca Podo, Paola Rizza, Maria Romero, Mario Salmona, Ugo Visconti, Claudio Lombardo</i>	208
EUROCARE-5: Cancer registry based project on survival and care of cancer patients in Europe <i>Milena Sant, Riccardo Capocaccia, Claudia Allemani, Claudio Lombardo, Franco Berrino</i>	214
Sopravvivenza per cancro nel mondo: il progetto CONCORD <i>Gemma Gatta, Riccardo Capocaccia, Milena Sant, Claudia Alemanni, Franco Berrino, Claudio Lombardo, Michel P Coleman</i>	220
European Partnership for Action Against Cancer <i>Riccardo Capocaccia, Franco Berrino, Roberta De Angelis, Maria Ferrantini, Gemma Gatta, Claudio Lombardo, Andrea Micheli, Giovanni Nicoletti, Luigi G. Spagnoli, Marina Vercelli, Milena Sant</i>	223
Contributo italiano al progetto europeo EUROCANCERCOMS <i>Francesco De Lorenzo, Patrizia Gnagnarella, Gordon McVie, Laura Del Campo, Rosa Oricchio</i>	227

LISTA DELLE ABBREVIAZIONI

ACC	Alleanza contro il Cancro
AIFA	Agenzia Italiana del Farmaco
AIMaC	Associazione Italiana Malati di Cancro, parenti e amici
AIRT	Associazione Italiana Registri Tumori
Besta	Fondazione IRCCS Istituto Neurologico “Carlo Besta”
CNR	Consiglio Nazionale delle Ricerche
CRO	Centro di Riferimento Oncologico, Aviano
FAVO	Federazione italiana delle Associazioni di Volontariato in Oncologia
HSR	Istituto Scientifico Fondazione Centro San Raffaele del Monte Tabor
Humanitas	IRCCS Istituto Clinico Humanitas
IDI	Istituto Dermopatico dell’Immacolata
IEO	Istituto Europeo di Oncologia
INT	Fondazione IRCCS “Istituto Nazionale Tumori” Milano
IOR	Istituti Ortopedici Rizzoli
IOV	Istituto Oncologico Veneto (IRCCS)
IRCCS	Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico
IRE	Istituto Nazionale Tumori Regina Elena
IRST	Istituto Romagnolo Scientifico per lo Studio e la Cura dei Tumori
ISO	Istituto Superiore di Oncologia
ISS	Istituto Superiore di Sanità
ISTGE	Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro Genova
ITB	Istituto Tumori Giovanni Paolo II Bari
LILT	Lega Italiana per la Lotta contro i Tumori
Maugeri	Fondazione Salvatore Maugeri IRCCS
Pascale	Istituto Tumori di Napoli Fondazione G. Pascale
S. Matteo	Fondazione IRCCS Policlinico S. Matteo di Pavia
S. Giovanni Rotondo	IRCCS Casa Sollievo della Sofferenza - San Giovanni Rotondo
UO	Unità Operativa

PRESENTAZIONE

La costruzione e lo sviluppo di reti finalizzate all'ottimizzazione e al coordinamento delle risorse destinate alla ricerca biomedica e agli interventi di sanità pubblica rappresenta oggi un processo emergente nello scenario internazionale, ampiamente incoraggiato dai governi nazionali. Questa tendenza è infatti fortemente motivata dalla necessità, sempre più crescente in un contesto di risorse economiche limitate, di evitare inutili duplicazioni e favorire al massimo il sinergismo tra tutti i principali attori della ricerca stessa. In particolare, un'attenzione specifica è oggi concentrata sull'importanza di sviluppare reti finalizzate alla promozione della ricerca traslazionale, intesa come sviluppo di strategie idonee a tradurre i rapidi progressi delle conoscenze in applicazioni cliniche che soddisfino le aspettative dei pazienti e della società. La ricerca traslazionale in biomedicina mira infatti a trasferire le scoperte scientifiche dal laboratorio alla pratica clinica, trasformandole in nuovi strumenti preventivi, diagnostici e terapeutici e migliorando l'arsenale degli strumenti disponibili per la lotta contro le malattie. Il problema principale è costituito dai tempi lunghi, circa dieci anni, che il processo di trasferimento richiede, troppo lunghi per quei pazienti con patologie con brevi aspettative di vita, o con malattie per le quali non sono stati ancora individuati trattamenti efficaci.

Alleanza contro il Cancro (ACC) ha rappresentato il primo esempio di rete monotematica degli istituti di ricerca del Servizio Sanitario Nazionale. ACC rappresenta un modello di iniziativa nazionale indicata come esempio anche in consuntivi di importanti progetti europei (es. EUROCAN+PLUS). L'interesse nazionale e internazionale verso ACC è cresciuto in questi ultimi anni anche grazie agli sviluppi nazionali in tema di politiche e interventi di ricerca che hanno assegnato all'Istituto Superiore di Sanità (ISS) il compito di sostenere lo sviluppo di progetti funzionali all'implementazione di attività tipiche di ACC stessa. In particolare, tramite l'art. 3 del DM 21 luglio 2006, decreto con il quale il Ministero della Salute ha lanciato il "Programma Straordinario Oncologia 2006", sono state delineate le linee e i contenuti di un piano di intervento globale che potesse favorire la collaborazione tra ACC e ISS per lo sviluppo armonioso della ricerca oncologica italiana. L'art. 3 intitolato "Rete nazionale solidale e collaborazioni internazionali" stabiliva, infatti, l'assegnazione all'ISS di 30 milioni di euro per attuare quattro programmi oncologici con finalità diverse ma complementari.

I progetti finanziati hanno terminato il terzo anno di attività nell'ottobre 2010 ed è già possibile tracciare un primo bilancio positivo dell'insieme delle ricerche e attività complessive lanciate con l'avvio dei 4 programmi.

Grazie al sostegno organizzativo dell'ISS, ACC ha già organizzato quattro convegni di presentazione dei progetti approvati nell'ambito dell'art 3 del DM 21 luglio 2006 ("ISS per ACC").

Il convegno, che si terrà a Roma presso l'ISS il 10 e 11 febbraio 2011 e che è stato riconosciuto dall'Unione Internazionale per il Controllo del Cancro nell'ambito degli eventi del World Cancer Day, ha una duplice finalità:

- continuare una riflessione generale sull'importanza delle reti monotematiche degli IRCCS alla luce dell'evoluzione del panorama nazionale e internazionale della ricerca biomedica e della recente esperienza di ACC;
- presentare e monitorare i progressi delle varie attività recentemente intraprese nell'ambito del terzo anno di finanziamento promosso con l'art. 3 del DM 21 luglio 2006 ("ISS per ACC"), con un'attenzione critica ai risultati raggiunti ed alle nuove sfide in ambito nazionale ed internazionale.

Il convegno di quest'anno è preceduto da un workshop organizzato da ISS e ACC, in collaborazione con il Ministero della Salute, dedicato in modo specifico alle infrastrutture di ricerca ("Infrastrutture di ricerca quali acceleratori di competitività nello sviluppo socio-economico del Paese", 10 febbraio 2011).

Si registra oggi, infatti, un crescente interesse dei governi e della comunità scientifica allo sviluppo di infrastrutture di ricerca strumentali alla promozione della ricerca biomedica traslazionale e allo sviluppo di nuovi farmaci e strategie di prevenzione, diagnosi e terapia delle malattie. Si ritiene in particolare che la creazione di determinate infrastrutture di ricerca sia un obiettivo di primaria importanza per il rilancio della competitività della ricerca nazionale ed europea e dello sviluppo socio-economico, in un contesto di limitate risorse economiche e di crescente potenzialità delle nuove biotecnologie e conoscenze molecolari. Nell'ambito del progetto "ISS per ACC" sono state sviluppate le partecipazioni del Paese ad importanti infrastrutture europee, quali quella per le biobanche (BBMRI), per la medicina traslazionale (EATRIS) e per gli studi clinici e le bioterapie (ECRIN). Inoltre, il Ministro della Salute ha di recente confermato l'incarico all'ISS di coordinare i nodi nazionali per la partecipazione a tali infrastrutture di ricerca nella fase di transizione tra il progetto europeo finalizzato agli studi di fattibilità all'applicazione verso la formazione del consorzio di ricerca europeo (ERIC) tra i paesi partecipanti.

Essendo il focus principale di tali infrastrutture di ricerca sulle patologie umane di maggiore impatto socio-economico, è chiaro che la loro realizzazione acquista particolare interesse e rilevanza per la comunità scientifica oncologica, essendo il "problema cancro" una priorità sanitaria evidente a livello sia nazionale che globale.

Se la creazione di tali infrastrutture di ricerca ha forti ricadute per i membri di ACC (sia come potenziali partecipanti che come utenti), è senz'altro motivo di prestigio per ACC stessa che, per la prima volta nel Paese, grazie ad un programma di internazionalizzazione sviluppato sotto il progetto generale "ISS per ACC", sia stato avviato positivamente un nuovo percorso di partecipazione nazionale a questi grandi progetti per le infrastrutture di ricerca (EATRIS, ECRIN, BBMRI) che offrono ricadute potenziali in tutto il settore della ricerca biomedica.

Nel complesso, il consuntivo scientifico del terzo anno di attività, le iniziative promosse ed i risultati ottenuti raccolti nel presente volume mostrano una ricchezza di risultati scientifici rilevanti e di azioni miranti a promuovere la cooperazione e l'interazione tra gli IRCCS e l'impatto delle iniziative di ACC a livello nazionale e internazionale. L'analisi dei risultati ottenuti evidenzia elementi di successo, ma anche alcuni aspetti critici relativi all'interazione tra le parti interessate e al controllo e valutazione delle attività svolte. Il successo di alcuni progetti ed iniziative è evidenziato non solo dal numero e dalla qualità delle pubblicazioni scientifiche, ma anche dalla realizzazione di attività di informazione per il cittadino e il paziente, siti web sui progetti di rete, corsi di formazione, creazione di servizi ed infrastrutture importanti per lo sviluppo della ricerca oncologica nazionale ed europea. Inoltre, grazie allo sviluppo di progetti di rete e al supporto dell'ISS sugli aspetti regolatori per la sperimentazione clinica sui nuovi farmaci, si registra già oggi una nuova capacità degli IRCCS di sviluppare protocolli clinici per trials di fase I disegnati sulla base di risultati e brevetti prodotti dagli enti stessi. Tutto ciò dimostra un processo di sviluppo della ricerca traslazionale degli IRCCS, evidenziando i benefici di una nuova strategia di cooperazione tra varie istituzioni e tra i vari attori della ricerca, nell'interesse ultimo dei pazienti e del Servizio Sanitario Nazionale. Occorre sottolineare che iniziative importanti anche in ambito europeo, quali il coordinamento dell'ERA-NET per la ricerca oncologica traslazionale (TRANSCAN) e l'avvio del progetto di formazione sull'oncologia traslazionale stessa mediante il lancio di borse co-finanziate dalla Commissione Europea (TRAIN-2), si sono sviluppate grazie al programma "ISS per ACC", promuovendo un ruolo internazionale di ACC e aprendo nuovi scenari di crescente interesse per

gli IRCCS e la ricerca oncologica nazionale in generale. È necessario che le attività più rilevanti sviluppate in questi tre anni trovino la possibilità di essere sostenute e sviluppate, permettendo un sempre maggior impatto sanitario e sociale della ricerca oncologica nazionale ed una sempre più qualificata ed autorevole partecipazione ed integrazione nelle nuove iniziative europee per la lotta contro il cancro. Questo convegno, a 3 anni dall'avvio del progetto "ISS per ACC", rappresenta pertanto un'ottima occasione per un primo bilancio globale, che trova un elemento di indubbia positività già nella spinta nuova a condividere risorse e sviluppare positivamente progetti comuni tra i membri di ACC, come testimoniato dai risultati raggiunti nei resoconti dei progetti qui di seguito riportati. Occorre quindi ora un impegno collettivo, con il sostegno del Ministero della Salute e di altri potenziali stakeholders, per fare tesoro di ciò che è stato raggiunto in termini di reti specifiche e di nuova attitudine alla cooperazione, sviluppando le esperienze e i sinergismi migliori tra gli attori principali della ricerca oncologica nazionale, finalizzando tutte le attività all'interesse dei pazienti e del cittadino.

Enrico Garaci

*Presidente dell'Istituto Superiore di Sanità
e Presidente di Alleanza Contro il Cancro*

PROGRAMMA 1
**Riduzione delle disparità nell'accesso dei pazienti
ai mezzi diagnostici e alle terapie**

Coordinatori
Luigi G. Spagnoli, Stefano Vella

ARTICOLAZIONE DEL PROGRAMMA

Il Programma 1, “Riduzione delle disparità nell’accesso dei pazienti ai mezzi diagnostici e alle terapie”, coordinato da L.G. Spagnoli (ACC), S. Vella (ISS), si prefigge di predisporre gli strumenti necessari per migliorare la qualità della vita dei pazienti mediante il coinvolgimento di competenze epidemiologiche, cliniche e assistenziali, attuare modelli organizzativi più adatti di quelli attuali alla gestione del paziente oncologico anziano e migliorare la comunicazione tra ricercatori, medici oncologi, pazienti e società in generale con riferimento particolare alle terapie sperimentali. I sette *Work Package* (WP) (alcuni dei quali hanno subito un’ulteriore articolazione) necessari a raggiungere gli obiettivi (generali e specifici) sono indicati nella Tabella 1.

Tabella 1. Articolazione del Programma 1 (Finanziamento: 4.000.000 €)

Titolo dei WP		Coordinatori (ente di appartenenza)
WP1	Coordinamento	Luigi Giusto Spagnoli (ACC)
WP2	Qualità di vita e ICF in pazienti oncologici	Giuseppina Majani (Maugeri)
	Metastasi ossee: miglioramento della qualità di vita e di assistenza	Stefano Liverani (IOR)
WP3	Modelli interdisciplinari di intervento per la cura dei pazienti oncologici in età geriatrica	Umberto Tirelli (CRO)
	Database clinico e biobanca per lo studio di pazienti oncologici anziani e delle patologie età-correlate	Fiorella Guadagni (LILT)
WP4	Approccio socio-assistenziale alle problematiche del paziente oncologico anziano	Stefano Vella (ISS)
WP5	Comunicazione e strutture informative in oncologia	Stefano Vella (ISS), Francesco De Lorenzo (AIMaC), Ivana Truccolo (CRO), Stefano Michelini (IEO)
WP6	Studio e attività di comunicazione sulle basi scientifiche per la definizione di linee guida in ambito clinico per le diverse patologie oncologiche	Luigi Giusto Spagnoli (ACC), Rossella Silvestrini (INT)
WP7	Sistema informativo e portale ACC	Paolo Roazzi (ISS)

QUALITÀ DI VITA E ICF IN PAZIENTI ONCOLOGICI

Giuseppina Majani

Servizio di Psicologia, Fondazione S. Maugeri IRCCS, Istituto Scientifico di Montescano (PV)

Riassunto del Progetto

L'ICF (International Classification of Functioning Disability and Health dell'OMS - 2001) ha sancito l'importanza di una visione ad ampio spettro della vita di una persona.

All'interno del modello, ogni condizione di salute (quindi di malattia) si configura come leggibile a livello non solo delle funzioni e delle strutture corporee, ma anche nell'ambito dell'attività e della partecipazione sociale. È su questo continuum dimensionale che fattori contestuali (ambientali e personali) incidono come facilitatori o come barriere, secondo una logica di interazione e non solo di causalità diretta.

In ambito oncologico, la letteratura recente individua nell'ICF le potenzialità di una lettura multicomponentiale della condizione del paziente, con particolare riferimento all'impatto di malattia e terapie sulla vita quotidiana e sulla partecipazione sociale, domini in cui la ricerca deve ancora crescere.

Lo scopo prioritario dello studio è quello di verificare l'applicabilità del modello ICF in ambito oncologico e il suo valore aggiunto rispetto alle tradizionali valutazioni di Qualità della Vita.

In secondo luogo si propone di evidenziare aree di benessere e fonti di problematicità con particolare riferimento alle componenti dell'ICF "Attività e Partecipazione" che costituiscono una importante e innovativa svolta nel panorama delle valutazioni funzionali del paziente.

Si tratta di uno studio osservazionale, che prevede le seguenti fasi:

- Formazione del personale dedicato alla raccolta dei dati;
- Raccolti dati sulle casistiche;
- Inserimento dati nel database dedicato ed elaborazione dei dati.

Si prevede il reclutamento di pazienti con malattia oncologica affluenti alle diverse Unità Operative coinvolte alle quali è lasciata discrezionalità in merito a:

- tipologia di malattia oncologica;
- fase della malattia in cui effettuare la valutazione;
- caratteristiche anagrafiche dei pazienti;
- numero di pazienti da reclutare.

Si considerano comuni per tutte le Unità Operative i seguenti criteri di inclusione.

- disponibilità a partecipare allo studio (consenso informato scritto);
- assenza di patologie psichiatriche interferenti con l'attendibilità del self report;
- assenza di deficit cognitivi interferenti con l'attendibilità del self report;
- età superiore ai 18 anni;
- sufficiente conoscenza della lingua italiana;
- assenza di importanti comorbidità.

Lo studio prevede la somministrazione concomitante di:

- Checklist ICF nella versione italiana (Edizioni Erickson, Trento);
- SF 12;
- EuroQol-VAS;
- Apposita scheda di registrazione dei dati socioanagrafici e clinici del paziente.

Dopo l'input dei dati in database appositamente approntato, verranno effettuate analisi descrittive dei diversi campioni e successivamente si procederà all'elaborazione finalizzata a mettere in luce quanto descritto negli obiettivi.

Ci si attende che lo studio consenta una verifica dell'applicabilità del modello ICF e dell'ICF Checklist sui pazienti oncologici evidenziando in particolare potenzialità e limiti del modello.

Ci si attende anche di ottenere una lettura ad ampio raggio delle aree di benessere e di problematicità del paziente oncologico nella vita quotidiana.

Infine, lo studio potrebbe fornire una stima della misura in cui i modelli assistenziali osservati già soddisfano i bisogni connessi alla tutela della qualità della vita, al di là dei criteri di funzionalità fisica e psicologica.

Stato generale di sviluppo del progetto e conseguimento dei risultati

Nel corso del terzo anno di attività è proseguito il reclutamento dei pazienti: attualmente sono stati reclutati in tutto 461 pazienti, i cui protocolli sono stati considerati validi a seguito di una verifica di qualità e completezza dei dati. Si tratta di pazienti oncologici in regime di ricovero (sia ordinario che day hospital) o ambulatoriale, o assistiti a domicilio, con quadri clinici di differenti livelli di gravità: da pazienti sottoposte a trattamento chirurgico del carcinoma della mammella al momento libere da malattia, a pazienti ricoverati in cure palliative.

Inoltre, sono stati elaborati i dati relativi ai livelli di burnout dei 57 degli operatori sanitari valutati, grazie alla collaborazione delle seguenti Unità Operative: Istituto Dermatologico dell'Immacolata, Federazione italiana delle Associazioni di Volontariato in Oncologia (FAVO), Fondazione S. Maugeri - Servizi di Psicologia di Pavia e Montescano (PV), Unità Operativa di Cure Palliative di Mede (PV).

La Tabella 1 riporta i punteggi relativi ai livelli di burnout rilevati con la scala Link Burnout Questionnaire (LBQ).

Tabella 1. Distribuzione di frequenza del campione alle diverse classi di stanine per le quattro scale dell'LBQ

Scala LBQ	Classi di stanine	Frequenza (%)
Esaurimento psicofisico	Stanine 1-2	11(19,3)
	Stanine 3-7	42 (73,7)
	Stanine 8-9	4 (7,1)
Deterioramento della relazione	Stanine 1-2	3 (5,3)
	Stanine 3-7	50 (85,9)
	Stanine 8-9	5 (8,8)
Inefficacia professionale	Stanine 1-2	11 (19,3)
	Stanine 3-7	45 (79,0)
	Stanine 8-9	1 (1,8)
Disillusione	Stanine 1-2	10(17,5)
	Stanine 3-7	42 (73,7)
	Stanine 8-9	5 (8,8)

Per quanto attiene alle criticità incontrate nella somministrazione dell'ICF, si conferma la necessità di somministrazione da parte di un operatore appositamente addestrato, così da ridurre i rischi di ridotta concordanza interoperatore.

Tra le aree critiche evidenziate segnaliamo:

- la non totale ripetibilità interoperatore della valutazione in relazione all'attribuzione dei qualificatori;
- le concettualizzazioni diverse di alcuni qualificatori da parte di operatori con back-ground culturali diversi (vedi differenza fra medici, psicologi, ecc.);
- problemi di interrelazione con i pazienti legati alla complessità di definizione di alcune categorie;
- difficoltà di far rientrare all'interno della pratica clinica quotidiana la checklist ICF per motivi pratici legati al tempo di somministrazione;
- difficoltà nel valutare alcuni codici delle componenti attività e partecipazione, e i fattori ambientali che sembrano rappresentare domini molto vasti o fra loro parzialmente in sovrapposizione;
- difficoltà nel descrivere la "fatigue" tipica dei pazienti oncologici tramite i codici ICF.

Si sono registrati rarissimi casi di rifiuto della valutazione da parte dei pazienti. Nella grande maggioranza dei casi, nonostante la lunghezza dell'intervista ICF, i pazienti hanno attivamente collaborato, verbalizzando apprezzamento per l'attenzione prestata ad ambiti di vita non sempre presi in considerazione da abituali procedure di assessment cliniche.

L'analisi dei dati di tutti i Centri coinvolti permetterà di capire meglio le reali potenzialità dell'ICF rispetto ai tradizionali questionari sulla QdV e di rispondere agli obiettivi secondari che lo studio si è proposto.

Articolazione del progetto

L'articolazione del WP2 è descritta nella Tabella 2.

Tabella 1. Articolazione del WP2 - Qualità di vita e iCF in pazienti oncologici

Proponente <i>(Responsabile scientifico del WP)</i>	Ente di appartenenza dell'Unità Operativa	Responsabile scientifico dell'Unità Operativa
Maugeri <i>(Giuseppina Majani)</i>	IOR	Stefano Ferrari
	Humanitas	Armando Santoro
	IDI	Damiano Abeni
	Azienda Sanitaria Locale Pavia	Pietro Perotti
	Fondazione Santa Lucia	Carlo Caltagirone
	Maugeri	Ines Giorgi
	Maugeri	Daniilo Miotti
	Maugeri	Pietro Preti
	Maugeri	Giuseppina Majani
	ISS	Raffaella Bucciardini
FAVO	Elisabetta Iannelli	

Pubblicazioni conseguite nell'ambito del progetto

Il progetto ha prodotto le seguenti pubblicazioni:

1. Giardini A, Ferrari P, Majani G, Negri EM, Rossi S, Magnani C, Preti P. What does the International Classification of Functioning Disability and Health (ICF) add to the traditional assessment tools in palliative care patients at end of life? *Palliative Medicine* 2010;24:S5:S52-S53.
2. Giardini A, Ferrari P, Majani G, Negri EM, Rossi S, Magnani C, Preti P. International Classification of Functioning, Disability and Health (ICF) e Qualità della Vita nel paziente oncologico in fase avanzata di malattia. *Giornale Italiano di Medicina del Lavoro ed Ergonomia* 2010;32:B29-B36.
3. Liano D, Perotti P, Verri A, Ponzio M, Niutta L, Panzarasa A, Riggi E, Majani G, Prevedini A, Fornaroli P, Iannello G, Mariani S. Progetto della ricerca "Qualità di vita e ICF in pazienti oncologici: risultati preliminari dell'ASL di Pavia". In: *Atti V Congresso Nazionale della SISMEC (Società Italiana di Statistica Medica ed Epidemiologia Clinica), Pavia, Italia, 16-19 settembre 2009*. p. 139.

METASTASI OSSEE: MIGLIORAMENTO DELLA QUALITÀ DI VITA E DI ASSISTENZA

Stefano Liverani

Direzione Sanitaria, IRCCS Istituti Ortopedici Rizzoli, Bologna

Riassunto del Progetto

Le metastasi ossee da carcinoma rappresentano una patologia estremamente invalidante e ad elevato impatto sociale. Inoltre, sono in continuo aumento, dovuto al prolungamento della vita per i sempre più efficaci trattamenti delle neoplasie sia localizzate che già avanzate. Non esistono registri dedicati, e l'incidenza è variabile sulla prevalenza delle diverse neoplasie.

Le modalità di presentazione possono essere le più varie, e questo fa sì che i primi ad intervenire possano essere specialisti delle diverse branche spesso in assenza di collegamenti tra di loro.

Inoltre, la molteplicità delle modalità di presentazione rende il loro trattamento assai complicato e spesso multidisciplinare, con necessità di un coordinamento tra le diverse specialità che attualmente è carente.

Gli obiettivi primari riguardano:

- il miglioramento dell'appropriatezza dell'iter diagnostico;
- la riduzione della variabilità dei comportamenti attraverso la pianificazione e la condivisione di linee guida e protocolli;
- l'utilizzo di trattamenti mini-invasivi innovativi;
- l'integrazione tra strutture ospedaliere ed organizzazioni per l'assistenza domiciliare.

Gli obiettivi secondari riguardano:

- la prevenzione e riduzione delle complicanze;
- la riduzione dell'ospedalizzazione e del consumo inappropriato di risorse sanitarie;
- l'identificazione di temi prioritari per ricerche innovative;
- l'effettuazione di studi epidemiologici mediante registri dedicati, in collaborazione con i registri di popolazione;
- l'attività formativa per specialisti e medici di medicina generale.

Stato generale di sviluppo del progetto e conseguimento dei risultati

Dopo la costituzione del gruppo di lavoro interno all'Istituto Ortopedico Rizzoli, che comprende 4 ortopedici afferenti alle 2 divisioni che sono maggiormente coinvolte nella patologia oncologica ortopedica, e sotto la diretta supervisione dei direttori delle stesse due divisioni e del Direttore Sanitario, è stato avviato l'ambulatorio multidisciplinare specifico per la malattia metastatica nella seconda metà del 2009 cadenza quindicinale, prenotazione CUP e con attività alternata dei medici delle due unità operative coinvolte. L'ambulatorio si avvale della collaborazione delle strutture oncologiche e radioterapiche regionali.

È stata avviata la rete oncologica regionale hub and spoke che per ora prevede:

- AUSL di Piacenza: attività ambulatoriale e chirurgica 1 volta al mese con nostri specialisti in attività insieme agli ortopedici piacentini;
- AUSL di Forlì: attività ambulatoriale e chirurgica, tramite convenzione confermata per il 2011;
- AUSL di Ravenna: attività di consulenza su richiesta.

È previsto, inoltre, l'avvio da gennaio di attività ambulatoriali per l'Area Vasta Romagna presso l'IRST di Meldola, mentre è in discussione l'attività chirurgica per l'AVR presso l'ospedale di Forlì

Grazie a queste attività, nel 2009 c'è stato un incremento del numero di pazienti trattati per metastasi ossee pari al 60% (103 casi nel 2008, contro 160 nel 2009). Il dato è confermato dall'attività 2010, con 134 casi trattati fino a novembre.

Contestualmente all'apertura dell'ambulatorio, sono stati attivati i percorsi diagnostici e terapeutici concordati, anche con la collaborazione di organizzazioni di assistenza domiciliare.

Particolare attenzione è stata dedicata alla parte diagnostica, con il potenziamento dell'attività di radiologia interventistica per biopsie sotto controllo TC. Sempre nell'ambito della radiologia interventistica un altro importante settore riguarda il trattamento con embolizzazione delle lesioni profonde (bacino/rachide).

Per le lesioni più superficiali (arti), dopo le necessarie sperimentazioni precliniche, è stata attivata la sperimentazione clinica dell'elettroporazione.

In ambito diagnostico istopatologico, si avuto un importante aumento dei casi, anche in consultazione con un incremento dalle 119 diagnosi del 2008, alle 188 diagnosi del 2009. Sino ad ora, nel 2010, sono state effettuate 156 diagnosi. Grazie all'utilizzo di panel immunoistochimici codificati, si stanno valutando le correlazioni diagnostiche con il tumore primitivo, al fine di ridurre l'incidenza di metastasi da primitivo ignoto.

In ambito preclinico, si stanno effettuando test di validazione con analisi IHC e western blotting, nonché analisi genetiche e molecolari per verificare l'impatto delle alterazioni del profilo genetico sul profilo proteomico.

Pubblicazioni conseguite nell'ambito del progetto

Il progetto ha prodotto le seguenti pubblicazioni:

1. Rimondi E, Rossi G, Bartalena T, Ciminari R, Alberghini M, Ruggieri P, Errani C, Angelini A, Calabrò T, Abati CN, Balladelli A, Tranfaglia C, Mavrogenis AF, Vanel D, Mercuri M. Percutaneous CT-guided biopsy of the musculoskeletal system: Results of 2027 cases. *Eur J Radiol* 2010 Sep 8 (online prima della stampa)
2. Rimondi E, Staals EL, Errani C, Bianchi G, Casadei R, Alberghini M, Malaguti MC, Rossi G, Durante S, Mercuri M. Percutaneous CT-guided biopsy of the spine: results of 430 biopsies. *Eur Spine J* 2008;17:975-81.
3. Rossi G, Rimondi E, Bartalena T, Gerardi A, Alberghini M, Staals EL, Errani C, Bianchi G, Toscano A, Mercuri M, Vanel D. Selective arterial embolization of 36 aneurysmal bone cysts of the skeleton with N-2-butyl cyanoacrylate. *Skeletal Radiol* 2010;39:161-7.
4. Ruggieri P, Mavrogenis AF, Casadei R, Errani C, Angelini A, Calabrò T, Pala E, Mercuri M. Protocol of surgical treatment of long bone pathological fractures. *Injury* 2010;41:1161-7.
5. Vanel D, Ruggieri P, Ferrari S, Picci P, Gambarotti M, Staals E, Alberghini M. The incidental skeletal lesion: ignore or explore? *Cancer Imaging* 2009;2:9 Spec No A:S38-43.

Presentazioni a Meeting nazionali e/o internazionali:

1. Calabrò T, Drago G, Mavrogenis AF, Romantini M, Ussia G, Ruggieri P, Mercuri M. Il trattamento chirurgico nelle metastasi del femore: inchiodamento e ricostruzione protesica a confronto. Analisi degli impianti e sopravvivenza oncologica. In: *95° Congresso Nazionale della Società Italiana di Ortopedia e Traumatologia (SIOT)*, Roma, 20-24 novembre 2010.
2. Casadei R, Fabbri N, De Paolis M, Bianchi G, Mercuri M. Proposta di un nuovo sistema di valutazione del rischio di frattura patologica nei pazienti con metastasi ossee delle estremità. In: *95° Congresso Nazionale della Società Italiana di Ortopedia e Traumatologia (SIOT)*, Roma, 20-24 novembre 2010.
3. Casadei R, Ruggieri P, Campanacci L, Bianchi G, Mercuri M. Compressione midollare nelle metastasi vertebrali: indicazioni al trattamento. In: *95° Congresso Nazionale della Società Italiana di Ortopedia e Traumatologia (SIOT)*, Roma, 20-24 novembre 2010.
4. Chiechi A, Espina V, Novello C, Magagnoli G, Picci P, Petricoin EF, Liotta LA, Benassi M. Bone metastasis protein signaling pathway mapping in different primary tumor types via reverse phase protein microarrays. In: *16th annual meeting of the Connective Tissue Oncology Society*, Parigi, 11-13 novembre 2010.
5. Colangeli S, Gasbarrini A, Bandiera S, Boriani L, Corghi A, Pilla F, Boriani S. Il trattamento delle metastasi del rachide cervicale. Risultati clinici e oncologici. In: *95° Congresso Nazionale della Società Italiana di Ortopedia e Traumatologia (SIOT)*, Roma, 20-24 novembre 2010.
6. Mercuri M, Angelini A, Casadei R, Errani C, Fabbri N, Valencia JD, Rossi G, Calabrò T, Guerra G, Ruggieri P. Il trattamento chirurgico delle lesioni metastatiche del bacino. In: *95° Congresso Nazionale della Società Italiana di Ortopedia e Traumatologia (SIOT)*, Roma, 20-24 novembre 2010.

MODELLI INTERDISCIPLINARI D'INTERVENTO PER LA CURA DEI PAZIENTI ONCOLOGICI IN ETÀ GERIATRICA

Umberto Tirelli

Dipartimento di Oncologia Medica, Centro di Riferimento Oncologico, Aviano

Riassunto del progetto

L'approccio diagnostico terapeutico tradizionale non può più essere considerato sufficiente per garantire al paziente anziano l'accesso ai mezzi diagnostici e alle terapie oncologiche più innovative in grado di garantire equità di trattamento.

L'IRCCS Centro di Riferimento Oncologico di Aviano ha, sin dalla fine degli anni '80, promosso l'integrazione delle metodologie proprie della geriatria con quelle più innovative della diagnosi e cura in campo oncologico per la realizzazione di programmi terapeutici nell'ambito dell'oncologia geriatrica. In particolare, è stato creato un gruppo di studio multicentrico collaborativo che ha realizzato e validato uno strumento di Valutazione Geriatrica Multidimensionale (VGM) in oncologia. La VGM è considerata un processo diagnostico interdisciplinare che ha l'intento di individuare le condizioni mediche, psicosociali, funzionali di tutti i pazienti anziani fragili permettendo uno screening indispensabile per l'organizzazione del programma di cure e per l'ingresso in protocolli specificamente studiati per l'anziano anche fragile e vulnerabile e per il monitoraggio delle modificazioni cliniche nel tempo sottraendo la cura dell'anziano con cancro da un pericoloso empirismo che spesso si risolve in un sovra o sottotrattamento.

Il numero di persone anziane arruolate in protocolli clinici di ricerca, fonte necessaria per l'*evidence based medicine*, non sono rappresentative della reale popolazione anziana considerati i dati demografici attuali. I dati disponibili attualmente dalla letteratura internazionale sembrano suggerire che se da un lato solo persone anziane particolarmente selezionate possono avere accesso alle terapie più innovative, dall'altra gli eventi avversi correlati alla terapia aumentano con l'aumentare dell'età e non sono correlabili a variabili note.

Non sono attualmente disponibili dati conclusivi per definire Linee Guida Nazionali di terapia per le più diffuse neoplasie della persona anziana. Attraverso l'inclusione in protocolli di ricerca clinica di pazienti anziani in un numero che ne garantisca la rappresentatività, il progetto intende contribuire a:

- definire l'età biologica dell'anziano e individuare fattori predittivi delle tossicità e di risposta alla terapia farmacologica;
- identificare le aree di criticità che impediscono ai pazienti anziani con cancro il pieno accesso ad efficaci ed efficienti procedure di diagnosi, cura e assistenza;
- standardizzare percorsi diagnostici e terapeutici;
- ottimizzare il rapporto rischio/beneficio della chemioterapia, con miglioramento dell'outcome e riduzione delle tossicità;

Stato generale di sviluppo del progetto e conseguimento dei risultati

Per quanto riguarda le attività previste nei primi tre anni di attività si sono raggiunti i seguenti risultati:

1. Attivazione di una Unità di Valutazione Geriatrica (UVG) e screening di tutti i pazienti eleggibili attraverso valutazione clinico funzionale secondo i parametri della Valutazione Geriatrica Multidisciplinare (VGM)

Si tratta di un team multidisciplinare, nel cui ambito le singole figure professionali interagiscono – ciascuno con la propria competenza – per delineare il profilo clinico funzionale della persona anziana. L'UVG è formata da un medico esperto in oncogeriatrica, un infermiere di ricerca e uno psicologo. L'UVG si riunisce presso l'ambulatorio dedicato di Oncologia Geriatrica.

La valutazione prevede: accoglimento del paziente e del/i *caregiver*; intestazione di cartella geriatrica; prelievi ematochimici per lo studio delle anemie, delle patologie croniche associate, delle riserve d'organo e per la creazione di una banca di materiale biologico; colloquio psicologico-clinico; valutazione infermieristica; valutazione clinico-strumentale cardiologica; somministrazione dei test; scale di performance.

Per quanto riguarda lo strumento di *assessment*, il *Comprehensive Geriatric Assessment* (CGA) viene considerato lo strumento *gold standard* per lo studio delle diversità nella popolazione anziana. Il principale limite della CGA è legato al tempo necessario per la sua somministrazione. La VES-13 (Saliba *et al.*, 2001) invece ha evidenziato un buon valore predittivo nella popolazione anziana generale, ma non è ancora stata confrontata rispetto al *gold standard* CGA nell'ambito della popolazione oncologica.

Nell'ambito del Progetto l'UO dell'Istituto Oncologico Veneto coordinato da Silvio Monfardini si è occupata di valutare sensibilità, specificità, valore predittivo della VES-13, rispetto allo strumento CGA considerato *gold standard* nell'identificare i pazienti anziani oncologici vulnerabili o fragili.

Nel corso dei primi tre anni di sviluppo del Progetto, sino a ottobre 2010 sono stati arruolati 126 pazienti, l'età mediana era di 76 anni, le femmine in maggioranza (82%). Le sedi primitive di tumore più frequenti sono stati carcinoma della mammella (73%) e carcinomi gastro-intestinali (13%).

79 pazienti (60.2%) sono stati capaci di completare la VES-13 autonomamente, 11(8.7%) pazienti hanno chiesto aiuto per alcune domande mentre in 35 casi (27.8%) il questionario è stato compilato completamente dall'infermiera di ricerca.

Secondo la VGM, 53 pazienti (57%) sono risultati Fit, e 40 Vulnerabili/Fragili (43%). La sensibilità e specificità di rilevare Vulnerabilità/Fragilità in confronto con la VGM sono state rispettivamente il 62% e il 71%. Il valore predittivo positivo e negativo sono state per entrambe il 67% (Tabella 1).

Tabella 1. Risultati comparativi dell'analisi mediante VES-13 e CGA

VES-13	CGA			Totale
	Buone condizioni	Vulnerabili	Fragili	
Favorevole (Score ≥ 3)	46 (71%)	17 (55%)	6 (20%)	69 (55%)
Sfavorevole (Score ≤ 3)	19 (29%)	14 (45%)	24 (80%)	57 (45%)
Totale	65 (100%)	31 (100%)	30 (100%)	126 (100%)

Si è potuto, inoltre, notare che la VES-13 riduce in maniera significativa il tempo della valutazione geriatrica ma un terzo circa dei pazienti anziani ha avuto problemi significativi nel compilare il questionario, sembrerebbe inoltre sino ad ora che la VES-13 abbia la sensibilità e una specificità non del tutto soddisfacente.

2. *Arruolamento nuovi casi*

Dal febbraio 2007, data di attivazione dell'UVG, a ottobre 2010 sono stati valutati 428 pazienti anziani presso il CRO di Aviano e 126 presso l'UO dello IOV di Padova per un totale di 554 pazienti anziani affetti da tumore come indicato:

- a. Carcinoma mammella (233);
- b. NHL - MM (91);
- c. Carcinoma polmone (96);
- d. Carcinoma rene (36);
- e. Altre patologie (98);

3. *Attivazione di percorsi terapeutici*

Abbiamo provveduto a pianificare programmi terapeutici diversificati in base a patologia, determinazione molecolare, fattori prognostici e quindi ad avviare specifici modulato in base alla VGM e a appartenenza a gruppo di rischio determinato al fine di promuovere l'inclusione dei pazienti anziani in protocolli sperimentali di ricerca clinica e facilitare l'accesso alle cure anche degli anziani fragili rappresentativi della popolazione anziana sono 7 diversificati per patologie come riassunto di seguito:

- a. Pianificazione terapeutica con CHOP/CEOP/CVP/CEO e Rituximab sulla base della valutazione della funzionalità (ADL-IADL);
- b. Esperienza di trapianto autologo in pazienti anziani affetti da linfoma non hodgkin, Linfoma di Hodgkin e Mieloma Multiplo in base a VGM;
- c. "Sorafenib in RCC elderly cancer patients (ECP): A mono - institutional experience". Studio di fase II di trattamento con sorafenib di pazienti anziani affetti da cancro del rene metastatico selezionati con valutazione geriatrica multidimensionale (VGM);
- d. "Multidimensional Geriatric Assessment (MGA) guided Front line Treatment of Elderly patients with stage III IV Non Small Cell Lung Cancer: Optimizing survival and tolerability with Pemetrexed monotherapy";
- e. "Indicatori funzionali e strumentali cardiologici predittivi di tossicità in pazienti anziani affetti da cancro in trattamento sistemico (ormonale, chemioterapico, farmaci biologici). Studio monoistituzionale";
- f. "Piper Fatigue Scale-r versione italiana: Studio di validazione di una scala della fatigue nella popolazione anziana affetta da cancro";
- g. "Chemotherapy Adjuvant Study for Women at Advanced Age (Protocollo CASA)" Coordinating Group: IBCSG.

4. *Creazione di una scheda informatica per la raccolta e gestione dei dati a cura dell'Unità di biostatistica del CRO per la raccolta di dati e messa a punto di un database.*

In collaborazione con l'Unità di Biostatistica si è creato una scheda informatica per la raccolta ed elaborazioni dati dell'attività del progetto. Tutto il programma di oncologia geriatrica è supportato ora da una cartella informatica estesa a tutte le UO coinvolte nel progetto. Il supporto informatico è un progetto originale dell'Istituto ideato specificamente con la finalità di creare un data base per l'anziano oncologico.

5. *Raccolta di dati e messa a punto di una banca di materiale biologico (cellule, DNA, siero, plasma)*

Sono stati create due biobanche parallele presso la SOS di Microbiologia e presso la SOS di Patologia Clinica per lo studio di biomarkers associati a tumori nell'anziano. Attualmente le due sieroteche conservano materiale congelato di tutti i pazienti entrati in studio. Sono in corso le prime valutazioni sulla quota di pazienti trattati con farmaci biologici a bersaglio molecolare. Sono ora in corso di elaborazione i dati relativi a determinanti metabolici predittivi di tossicità.

6. *Congresso Nazionale del Gruppo Italiano di Oncologia Geriatrica:*

A novembre 2010 si è tenuto presso il centro di Riferimento Oncologico di Aviano il IV Congresso Nazionale del Gruppo Italiano di Oncologia Geriatrica con l'obiettivo principale di fornire un aggiornamento completo del trattamento del paziente oncologico anziano con particolare riferimento alle terapie innovative.

Articolazione del progetto

L'articolazione del WP3 è descritta nella Tabella 1.

Tabella 1. Articolazione del WP3 - Modelli interdisciplinari d'intervento per la cura dei pazienti oncologici in età geriatrica

Proponente (Responsabile scientifico del WP)	Ente di appartenenza dell'Unità Operativa	Responsabile scientifico dell'Unità Operativa
CRO (Umberto Tirelli)	IOV	Silvio Monfardini
	CRO	Lucia Fratino
	CRO	Diana Crivellari

Pubblicazioni conseguite nell'ambito del progetto

Il progetto ha prodotto le seguenti pubblicazioni:

1. Annunziata MA, Muzzatti B, Mella S, Narciso D, Giacalone A, Fratino L, Tirelli U. The revised piper fatigue scale (pfs-r) for italian cancer patients: a validation study. *Tumori* 2010;96:276-81.
2. Bearz A, Berretta M, Cappellani A, Lleshi A, Berto E, Fratino L, Tirelli U. Biomarkers in lung cancer. *Front Biosci* 2010;2:1099-104.
3. Crivellari D, Fratino L. Special populations: elderly patients. *Cancer Treat Res* 2009;151:299-315.
4. Crivellari D, Spazzapan S, Puglisi F, Fratino L, Scalone S, Veronesi A. Hormone therapy in elderly breast cancer patients with comorbidities. *Crit Rev Oncol Hematol* 2010;73:92-8.
5. Crivellari D, Sun Z, Coates AS, et al. Letrozole compared with tamoxifen in elderly patients with endocrine-responsive early breast cancer: the Big 1-98 trial. *J Clin Oncol* 2008;26(12):1972-9.
6. Fratino L, Bearz A, Simonelli C, et al. Targeted agents in the treatment of elderly cancer patients (ECP) according to Comprehensive Geriatric Evaluation: a mono-institutional experience. *Ann Oncol* 2008;19(Suppl. 8):viii209.
7. Fratino L, Bearz A, Simonelli C, et al. Use of targeted agents in elderly cancer patients according to the CGA. 44th Annual Meeting, Chicago. *J Clin Oncol* 2008;26(15):20619.

8. Fratino L, Crivellari D, Giacalone A, *et al.* Comprehensive Geriatric Assessment (CGA) at the Centro di Riferimento Oncologico, Aviano - National Cancer Institute - in treatment planning for senior adults with cancer: preliminary results. *Crit Rev Oncol/Hematol* 2009;72(1):S28.
9. Fratino L, Simonelli C, Bearz A, *et al.* Targeted agents (TA) in the treatment of elderly cancer patients (ECP) according to Comprehensive Geriatric Assessment (CGA): a mono-institutional experience. *Ann Oncol* 2008;19(Suppl. 9):ix121.
10. Fratino L, Simonelli C, Giacalone A, *et al.* Use of Sorafenib in elderly patients affected by metastatic renal cell carcinoma according to the use of CGA. 9th SIOG Meeting, Montreal. *Crit Rev Oncol/Hematol* 2008;68(2):S46.
11. Giacalone A, *et al.* Assessing cancer-related fatigue: The psychometric properties of the Revised Piper Fatigue Scale in Italian cancer inpatients. *Support Care Cancer* 2009 Sep 26 (online prima della stampa).
12. Giacalone A, *et al.* Can the caregiver replace his/her elderly cancer patient in the physician-patientline of communication? *Support Care Cancer* 2008;16(10):1157-62.
13. Giacalone A, *et al.* Cancer in the elderly: The caregivers' perception of senior patients' informational needs. *Arch Gerontol Geriatr* 2009;49(2):e121-5.
14. Giacalone A, Fratino L, Polesel J, *et al.* The family burden of elderly cancer patient. Preliminary results. 10th SIOG Meeting, Montreal. *Crit Rev Oncol/Hematol* 2009;72(1):S54.
15. Giacalone A, Fratino L, Polesel J, *et al.* Depression risk in elderly cancer patients. 10th SIOG Meeting, Montreal. *Crit Rev Oncol/Hematol* 2009;72(1):S55.
16. Simonelli C, Fratino L, Giacalone A, *et al.* Comprehensive geriatric assessment a screening tool for target-therapy treatment decision in elderly patients affected by metastatic renal cell cancer: a prospective study. *Ann Oncol* 2008;19(Suppl. 8):viii210.
17. Tirelli U, Balzarotti M, Uziel L, *et al.* Comprehensive geriatric assessment-adapted chemotherapy in elderly patients (> 70 years) with diffuse large B-cell non-Hodgkin's lymphoma (DLBCL). *Ann Oncol* 2008;19(Suppl. 4):iv148.

DATABASE CLINICO E BIOBANCA PER LO STUDIO DI PAZIENTI ONCOLOGICI ANZIANI E DELLE PATOLOGIE ETÀ-CORRELATE

Fiorella Guadagni (a), Francesco Schittulli (b)

(a) Dipartimento di Medicina di Laboratorio e Biotecnologie Avanzate, San Raffaele della Pisana, Roma

(b) Lega Italiana per la lotta contro i Tumori, Roma

Riassunto del progetto

Considerato il drammatico cambiamento demografico oggi in atto nei paesi industrializzati, la comunità medica, ed in particolare gli oncologi ed i geriatri, sono sempre più coinvolti nella crescente problematica della gestione del paziente anziano oncologico. La costituzione di un database clinico comune che includa le informazioni cliniche di casistiche rilevanti di pazienti oncologici anziani affetti, e non, da patologie associate all'età, rappresenta uno strumento essenziale per studi basati sull'evidenza clinico-scientifica ed efficace per la valutazione dei bisogni reali di salute di una popolazione di pazienti sempre più in aumento.

I legami molecolari tra invecchiamento e patologie correlate all'età sono suggeriti da numerose evidenze sperimentali. Attraverso la costituzione di una Biobanca Inter-Istituzionale e la strutturazione di una piattaforma informatica in grado di gestire non solo la storia clinica ma anche le informazioni biomolecolari di tali pazienti, si ritiene di poter aggiungere informazioni di rilievo alla programmazione di interventi socio-assistenziali rivolti alla prevenzione di patologie neoplastiche in individui con predisposizione ereditaria multi-fattoriale. Tutto ciò non può che determinare un vantaggio per il SSN e per la qualità di vita del paziente anziano attraverso la standardizzazione di percorsi terapeutici differenziati. Ulteriore vantaggio è rappresentato dalla possibilità di poter meglio definire e sviluppare criteri di classificazione clinica che permettano un inquadramento più accurato delle caratteristiche biologiche di ogni paziente.

In tale contesto, il nostro progetto si è prefisso quale obiettivo primario l'attivazione ed implementazione di un database clinico e biobanca per lo studio di pazienti oncologici anziani e delle patologie età-correlate. Al momento attuale è attiva presso l'IRCCS San Raffaele Pisana la BioBanca Interistituzionale Multidisciplinare (BioBIM), completamente integrata con 1) il settore diagnostico tramite una piattaforma informatica (LabOnLine) che integra il sistema di gestione informatica del laboratorio ed il sistema Accelerator e FE500 (TECAN) e con 2) una piattaforma informatica in grado di gestire non solo la storia clinica ma soprattutto la terapia e gli outcomes dei pazienti. La BioBIM è strutturata con strumentazioni che permettono l'automazione dei processi di aliquotazione dei campioni su larga scala ed applicazioni ad alto rendimento per l'estrazione, purificazione, amplificazione, retroscrittura e preparazione delle reazioni di sequenza o taglio con enzimi di restrizione di acidi nucleici. La BioBIM opera con gli obiettivi di 1) collezionare ed analizzare campioni biologici di alta qualità ottenuti da tutte le Unità che partecipano al progetto, in modo efficiente, organizzato e facilmente accessibile grazie all'uso di tecnologie d'avanguardia; 2) facilitare le interconnessioni tra le varie professionalità operanti presso i dipartimenti ospedalieri tradizionali ed i servizi di laboratorio al fine di fornire una struttura di ricerca multidisciplinare correttamente inserita nel contesto etico e legale Europeo; 3) facilitare la ricerca traslazionale e favorire l'applicazione di metodiche di

biomarker discovery a protocolli di outcome clinico e/o di ricerca di nuovi obiettivi terapeutici. Tutto questo rappresenta un momento di sicura innovazione per la valutazione diagnostica e/o prognostica di pazienti oncologici anziani affetti, e non, da patologie associate all'età e potrebbe potenziare lo svolgimento di studi di diagnostica molecolare auspicabile nella cosiddetta era "postgenomica".

Stato generale di sviluppo del progetto e conseguimento dei risultati

Gli obiettivi previsti dal progetto, prevedevano l'attivazione ed implementazione di una BioBanca Interistituzionale Multidisciplinare (BioBIM) presso l'IRCCS San Raffaele Pisana, il reclutamento della casistica e relativo campionamento biologico e l'esecuzione di indagini di diagnostica molecolare e studi di modificazioni post traduzionali mediante indagini di proteomica al fine di identificare possibili biomarcatori molecolari utilizzabili non solo nella determinazione, diagnosi e prevenzione del rischio neoplastico in pazienti diabetici, ma anche come indici predittivi di responsività e/o tossicità alla terapia. Al momento attuale sono presenti nella BioBIM dell'IRCCS San Raffaele Pisana campioni biologici di pazienti reclutati presso le strutture sanitarie ed ambulatoriali dell'Associazione Italiana dei Cavalieri Italiani del Sovrano Militare Ordine di Malta (ACISMOM), l'UOSD di Oncologia Medica del Policlinico Universitario di Tor Vergata (PTV) ed i reparti clinici dell'IRCCS San Raffaele Pisana - Roma. Sono stati criopreservati campioni biologici ottenuti da oltre 3500 soggetti, inclusi pazienti affetti da carcinoma della mammella, del tratto gastrointestinale, dell'apparato genito-urinario, del polmone, del pancreas e di altri istotipi a più bassa frequenza (oltre 500 sono attualmente seguiti in follow-up), nonché soggetti sani e pazienti affetti da diabete mellito di tipo 2 (T2DM). La BioBIM dell'IRCCS San Raffaele Pisana, grazie alla gestione in un unico ciclo della raccolta, processazione e criopreservazione dei campioni afferenti, raccolti attraverso procedure strutturate in base a procedure operative standardizzate e diversificate a seconda dei campioni che vengono analizzati, è in grado di fornire un servizio per lo sviluppo di linee di ricerca interdisciplinari e scambi tra diversi gruppi di lavoro. Tutti i dati sono trattati per via informatica in modo conforme alle normative in vigore, sia per quanto riguarda la sicurezza che la tutela dei dati personali, sia per quanto riguarda requisiti tecnici relativi alle modalità di conservazione. A garanzia di ciò, la BioBIM dell'IRCCS San Raffaele ha intrapreso un percorso di Certificazione di Qualità secondo lo standard Internazionale UNI EN ISO 9001:2000 culminato nel luglio del 2009 con l'emissione del relativo certificato con esplicitazione nello scopo e campo di certificazione delle attività relative come unità individuale ed autonoma.

Per quanto riguarda la metodologia scientifica, è stata messa a punto una metodica di proteomica completamente automatizzata in grado di garantire l'armonizzazione e la standardizzazione del processo nelle fasi pre-analitica ed analitica da utilizzare nell'identificazione e caratterizzazione di alcune proteine a basso peso molecolare e/o di profili proteici (1, 2). Analogamente, sono state standardizzate le condizioni pre-analitiche da attuare per studi di diagnostica molecolare (11). I dati ottenuti sono stati presentati al 3° Simposio Annuale del Biospecimen Research Network (BRN) tenutosi a marzo 2010 a Bethesda, USA (Presentazione 3, 4), dove l'abstract del progetto è stato selezionato per presentare alla comunità internazionale l'esperienza della BioBIM (<http://biospecimens.cancer.gov/meeting/brnsymposium/2010/docs/Guadagni%20%20BRN%202010%20Bethesda%20final%20approved%20for%20posting.pdf>). Nel maggio 2010, inoltre, il progetto della BioBIM è stato oggetto di una relazione su invito al Congresso Annuale della International Society for

Biological and Environmental Repositories (ISBER) (Presentazione 2), tenutosi a Rotterdam e nel cui ambito sono state anche presentate le procedure operative standardizzate (Presentazione 5, 1). Ad ulteriore implementazione delle SOP delle fasi pre-analitica ed analitica, è stato condotto uno studio sul VEGF, un biomarcatore di angiogenesi membro di una classe di molecole presenti nei granuli endopiastrinici e, pertanto, suscettibile di notevoli fluttuazioni in relazione alla scelta ed alla processazione del campione da analizzare. I dati pubblicati dimostrano che la misurazione di tale biomarcatore su campioni di plasma citratato è rappresentativa dei suoi livelli fisiologici *in vivo*, mentre la determinazione dello stesso su campioni di siero è rappresentativa del contenuto ematico totale (4, 8).

Infine, a proseguimento delle indagini già avviate nel corso degli anni precedenti, sono stati effettuati alcuni studi specifici al fine di individuare patterns biomolecolari correlabili allo sviluppo di neoplasia o alla predittività della risposta al trattamento, sono state eseguite: 1) analisi di associazione tra il gene BHD e la predisposizione al cancro (14); 2) studi sull'instabilità dei microsatelliti nell'iniziazione e progressione del cancro (9, 10); 3) analisi mutazionale del gene K-ras, con la dimostrazione sperimentale della possibilità di mutazioni concomitanti negli esoni 1 e 2 dell'oncogene; 4) analisi del ruolo dei polimorfismi della regione 5' UTR del promoter del VEGF nella predittività della risposta al trattamento con bevacizumab, un anticorpo monoclonale umanizzato anti-VEGF, in pazienti con carcinoma coloretale metastatico. I risultati ottenuti in questo ultimo studio sono di particolare interesse, in quanto rappresentano la prima dimostrazione sperimentale che il genotipo -1154 GG configura un rischio di progressione di malattia circa 4 volte superiore rispetto ai genotipi GA+AA, probabilmente dovuto ad un'aumentata attività del promoter e conseguente iperproduzione di VEGF in pazienti con carcinoma coloretale metastatico (5). Infine, è stata analizzata l'associazione tra livelli di espressione di CEA mRNA e sE-selettina (molecola di adesione coinvolta nella metastatizzazione). I risultati ottenuti hanno dimostrato che livelli pre-chirurgici elevati di sE-selettina in presenza di positività per il CEA mRNA si associano ad una riduzione della sopravvivenza a 5 anni libera da recidiva, indicando come l'analisi combinata di tali biomarcatori sia in grado di fornire utili informazioni prognostiche in pazienti con CRC (3).

Articolazione del progetto

L'articolazione del WP3 è descritta nella Tabella 1.

Tabella 1. Articolazione del WP3 - Database clinico e biobanca per lo studio di pazienti oncologici anziani e delle patologie età-correlate

Proponente (Responsabile scientifico del WP)	Ente di appartenenza dell'Unità Operativa	Responsabile scientifico dell'Unità Operativa
LILT (Fiorella Guadagni)	ACISMOM	Luciano Caprino
	LILT	Fiorella Guadagni
	Università di Roma "Tor Vergata"	Mario Roselli

Pubblicazioni conseguite nell'ambito del progetto

Il progetto ha prodotto le seguenti pubblicazioni:

1. Di Girolamo F, Alessandrini J, Somma P, Guadagni F. Pre-analytical operating procedures for serum Low Molecular Weight protein profiling. *J Proteomics* 2010;73:667-77.

2. Di Girolamo F, Ponzi M, Crescenzi M, Alessandrini J, Guadagni F. A simple and effective method to analyze membrane proteins by SDS-PAGE and MALDI Mass Spectrometry. *Anticancer Res* 2010;30:1121-9.
3. Ferroni P, Roselli M, Spila A, D'Alessandro R, Portarena I, Mariotti S, Palmirota R, Buonomo O, Petrella G, Guadagni F. Serum sE-selectin levels and carcinoembryonic antigen mRNA-expressing cells in peripheral blood as prognostic factors in colorectal cancer patients. *Cancer* 2010;116:2913-21.
4. Ferroni P, Spila A, D'Alessandro R, Martini F, Iacovone F, Ettore GM, Vennarecci G, Santoro R, Puoti C, Guadagni F. Platelet activation and vascular endothelial growth factor release in hepatocellular cancer. *Clin Chim Acta* 2011;412(5-6):450-4.
5. Formica V, Palmirota R, Del Monte G, Savonarola A, Ludovici G, De Marchis ML, Grenga I, Schirru M, Guadagni F, Roselli M. VEGF polymorphism as predictor of bevacizumab efficacy in metastatic colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis* 2010, Dec 29 (online prima della stampa).
6. Guadagni F, Roselli M, Martini F, Spila A, Riondino S, D'Alessandro R, Del Monte G, Formica V, Laudisi A, Portarena I, Palmirota R, Ferroni P. Prognostic significance of serum adipokine levels in colorectal cancer patients. *Anticancer Res* 2009;29:3321-7.
7. Guadagni F, Roselli M, Spila A, D'Alessandro R, Lucci I, Polce L, Formica V, Laudisi A, Portarena I, Palmirota R, Ferroni P. Serum leptin levels in colorectal cancer patients. *Anticancer Res* 2008;28(5C):3304.
8. Palmirota R, Ferroni P, Ludovici G, Martini F, Savonarola A, D'Alessandro R, Raparelli V, Proietti M, Scarno A, Riondino S, Basili S, Guadagni F. Vascular endothelial growth factor gene promoter polymorphisms and microvascular complications in patients with essential hypertension. *Clin Biochem* 2010;43:1090-1095.
9. Palmirota R, Guadagni F, Savonarola A, Ludovici G, De Marchis ML, Palli D, Falchetti M, Ottini L. PRKCSH GAG trinucleotide repeat is a mutational target in gastric carcinomas with high-level microsatellite instability. *Clin Genet* 2010 (in corso di stampa).
10. Palmirota R, Guadagni F, Savonarola A, Ludovici G, Nesi G, Palli D, Falchetti M, Ottini L. PAI-1 4G/5G repeat is a target in gastric carcinomas with microsatellite instability. *Digest Liver Dis* 2011 Jan 7 (online prima della stampa)
11. Palmirota R, Ludovici G, De Marchis ML, Savonarola A, Leone B, Spila A, De Angelis F, Della-Morte D, Ferroni P, Guadagni F. Pre-Analytical Procedures for DNA Studies: The Experience of the Interinstitutional Multidisciplinary Biobank (BioBIM) and review of the literature. *Biopreservation & Biobanking* 2010 (in corso di stampa).
12. Palmirota R, Savonarola A, Formica V, Ludovici G, Del Monte G, Roselli M, Guadagni F. A novel K-ras mutation in colorectal cancer. A case report and literature review. *Anticancer Res* 2009;29:3369-74.
13. Palmirota R, Savonarola A, Ludovici G, De Marchis ML, Covello R, Ettore GM, Ialongo C, Guadagni F. Concurrent Mutation in Exons 1 and 2 of K-ras. *Oncogene in Colorectal Cancer* (inviato per la pubblicazione).
14. Palmirota R, Savonarola A, Ludovici G, Donati P, Cavaliere F, De Marchis ML, Ferroni P, Guadagni F. Association between Birt Hogg Dubé Syndrome and cancer predisposition. *Anticancer Res* 2010;30:751-7.

Presentazioni a Meeting nazionali e/o internazionali:

1. Di Girolamo F, Alessandrini J, Somma P, Semeraro M, Iacovone F, Guadagni F. Standard Operating Pre-Analytical Procedures for Serum Low Molecular Weight Protein Profiling. In: *International Society for Biological and Environmental Repositories (ISBER), 2010 Annual Meeting*, Rotterdam (The Netherlands), 11-14 maggio. *Biopreservation & Biobanking* 2010;7:180.

2. Guadagni F, Albertini G, Barbanti P, Volterrani M, Palma E, Lancia A, Valente MG, Gianferro R, Ettorre GM, Santoro R, Vennarecci G, Cavaliere F, Costarelli L, Andrich R, Mariotti S, Spagnoli L, Roselli M. Foundation and Organization of a High-Throughput Technology-Based Multidisciplinary and InterInstitutional Biobank at the IRCCS San Raffaele Pisana. In: *International Society for Biological and Environmental Repositories (ISBER), 2010 Annual Meeting*, Rotterdam (The Netherlands), 11-14 maggio. *Biopreservation & Biobanking* 2010;7:201.
3. Guadagni F, Ferroni P, Spila A, Palmirota R, Albertini G, Barbanti P, Volterrani M, Lancia A, Valente MG, Ettorre G, Santoro R, Cavaliere F, Costarelli L, Nanni U, Spagnoli L, Roselli M. The InterInstitutional Multidisciplinary Biobank (BioBIM): foundation, organization and experience. In: *3rd Annual Biospecimen Research Network (BRN) Symposium: Advancing Cancer Research Through Biospecimen Science*, Bethesda, MD (USA), 24-25 marzo 2010.
4. Palmirota R, Di Girolamo F, Spila A, Alessandroni A, Semeraro M, Iacovone F, Savonarola A, Ludovici G, De Marchis ML, Leone B, Somma P, Perrone P, De Angelis F, Ferroni F, Guadagni F. Standard Operating Pre-Analytical Procedures for Protein Profiling and DNA Studies: the Experience of the Interinstitutional Multidisciplinary BioBank (BioBIM). In: *3rd Annual Biospecimen Research Network (BRN) Symposium: Advancing Cancer Research Through Biospecimen Science*, Bethesda, MD (USA), 24-25 marzo 2010.
5. Palmirota R, Savonarola A, Ludovici G, De Marchis ML, Leone B, Perrone V, De Angelis F, Spila A, Guadagni F. Pre-Analytical Procedures for DNA Studies: the Experience of the Interinstitutional Multidisciplinary BioBank (BioBIM). In: *International Society for Biological and Environmental Repositories (ISBER) 2010 Annual Meeting*, Rotterdam (The Netherlands), 11-14 maggio. *Biopreservation & Biobanking* 2010;7:178.

Brevetti conseguiti nell'ambito del progetto

Guadagni F, Di Girolamo F: “Nuova metodica finalizzata al recupero e all’analisi selettiva di proteine sieriche a basso peso molecolare e bassa prevalenza mediante spettrometria di massa MALDI “. In corso di deposito.

APPROCCIO SOCIO-ASSISTENZIALE ALLE PROBLEMATICHE DEL PAZIENTE ONCOLOGICO ANZIANO

Stefano Vella, Loredana Falzano
Dipartimento del Farmaco, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Riassunto del progetto

Dati demografici indicano che oltre il 15% della popolazione europea supera i 65 anni di età e, come è noto, l'invecchiamento della popolazione è correlato ad un aumento della prevalenza di patologie oncologiche.

L'età rappresenta infatti un importante fattore di rischio per la malattia neoplastica e il suo impatto è particolarmente evidente quando si considerano alcuni specifici tumori. In contraddizione con il fatto che il rischio di cancro aumenta con l'età, vi è uno scarso interesse clinico al problema dimostrato sia dall'elevata percentuale di casi non studiati, sia dalla frequente esclusione dei pazienti oncologici anziani dagli studi clinici. Non va dimenticato che la scelta diagnostico-terapeutica nel paziente anziano è complicata dall'estrema eterogeneità di questa popolazione, dal frequente riscontro di patologie associate, da problemi cognitivi e di perdita dell'autosufficienza; tutti questi aspetti possono condizionare la spettanza di vita e la mortalità più del tumore stesso. Per queste ragioni, l'approccio diagnostico terapeutico tradizionale non può essere considerato sufficiente per garantire al paziente anziano l'accesso ai mezzi diagnostici e alle terapie oncologiche più innovative in grado di garantire equità di trattamento.

È necessaria quindi una programmazione e uno sviluppo di interventi ad hoc a favore dei pazienti oncologici anziani al fine di rendere più razionale e più efficace la presa in carico di questo tipo di pazienti.

Il progetto "Approccio socio-assistenziale alle problematiche del paziente oncologico anziano" è articolato in 5 sottoprogetti ognuno dei quali presenta un particolare punto di vista per osservare e valutare i bisogni del paziente anziano.

- 1. Approcci innovativi alla gestione socio-assistenziale del paziente oncologico anziano*
Il sottoprogetto intende mettere a punto di un piano di cura e di assistenza personalizzato per migliorare la gestione del paziente oncologico anziano sia dal punto di vista clinico che socio-assistenziale.
- 2. Sperimentazione di un modello di gestione assistenziale integrata del paziente oncologico anziano*
Con questo studio si intende sperimentare una modalità di gestione del paziente secondo un nuovo modello organizzativo di tipo integrato. Questo modello ha al centro la valutazione globale del paziente oncologico anziano attraverso l'analisi dei bisogni non solo clinici ma anche socio-assistenziali e prevede la stesura di un percorso personalizzato e l'integrazione dell'assistenza nelle sue diverse formulazioni: ospedaliera e territoriale.
- 3. Studio prospettico sulla gestione integrata socio-assistenziale del soggetto oncologico, in pazienti di età superiore ai 70 anni, al fine di elaborare un nuovo modello organizzativo per l'integrazione tra assistenza ospedaliera ed extra-ospedaliera*
Questo studio intende aggiungere alle conoscenze già disponibili:

- informazioni sulla tipologia socio-assistenziale dell'accesso di pazienti anziani oncologici ai servizi specialistici ospedalieri e grado di soddisfazione rispetto all'assistenza ;
 - informazioni sulla capacità di integrazione delle singole Unità Operative (UO) ad interagire fra loro e con le strutture territoriali;
 - validazione di supporti informatici che permettano un continuo contatto tra tutti i partecipanti;
 - stesura e validazione operativa di un modello organizzativo integrato tra assistenza ospedaliera ed extra-ospedaliera.
4. *Identificazione e quantificazione dei problemi legati all'invecchiamento ed elaborazione di un piano di cura e assistenza personalizzato*
Questo sottoprogetto intende raggiungere i seguenti obiettivi:
- inclusione dei pazienti anziani in protocolli sperimentali di ricerca clinica;
 - studio dei fattori predittivi di tossicità correlata al trattamento;
 - studio dei fattori predittivi biomolecolari di tossicità correlata al trattamento;
 - raccolta di dati e messa a punto di un database e di una banca di materiale biologico;
 - integrazione dell'assistenza e cura fornita in regime di ricovero con l'assistenza domiciliare e i servizi territoriali;
 - accesso alle cure delle persone non autosufficienti.
5. *Bisogni assistenziali in adulti senior. Le variabili confondenti nella relazione paziente/caregiver*
Lo studio proposto si prefigge di misurare il grado di soddisfazione del paziente rispetto all'assistenza ricevuta, attraverso un'attenta valutazione delle condizioni globali dell'anziano e di alcuni aspetti del funzionamento (*coping*) del familiare *caregiver* e della loro relazione (inclusa la gestione dell'informazione clinica), al fine di una migliore programmazione ed efficacia, degli interventi socio-assistenziali a lui destinati.

Stato generale di sviluppo del progetto e conseguimento dei risultati

Nel corso del terzo anno di attività, tutte le Unità Operative coinvolte hanno continuato a svolgere la loro attività di ricerca in linea con gli obiettivi previsti dal Progetto. I risultati ottenuti da ogni sottoprogetto sono descritti di seguito:

1. *Approcci innovativi alla gestione socio-assistenziale del paziente oncologico anziano*
Il sottoprogetto 1 si propone di sperimentare un programma di assistenza innovativo agli anziani oncologici che valuti globalmente i bisogni assistenziali del paziente e che sia in grado di dare una risposta ai suoi bisogni basandosi su una razionalizzazione delle risorse già esistenti.
Questa ricerca viene condotta seguendo la medicina narrativa che consente di integrare l'approccio tradizionale del clinico (il processo evolutivo della malattia) con un approccio che mette al centro il paziente e il suo mondo vitale (il suo vissuto quotidiano, la sua idea di salute e malattia, le sue relazioni sociali). Lo scopo della ricerca è quello di valutare, mediante interviste semi-strutturate a pazienti ricoverati e dimessi dall'ospedale, la possibilità di integrare e implementare un programma di Valutazione Multidimensionale Geriatrica (VMG) con l'approccio tradizionale fatto di ricovero in UO di Medicina e follow-up del medico di medicina generale.

Utilizzando questo approccio si intende evidenziare i bisogni e le preferenze del paziente oncologico anziano e comprendere in modo più completo il vissuto di malattia del paziente. Questo studio permetterà di individuare le aree critiche su cui eventualmente progettare studi futuri e strategie per il miglioramento della qualità dell'assistenza.

Durante il terzo anno di attività sono stati arruolati 40 pazienti con le seguenti caratteristiche:

- età superiore ai 65 anni;
- durata del ricovero ospedaliero di almeno 2 giorni;
- diagnosi di patologia oncologica;

I 40 pazienti arruolati in questo anno di attività si sono aggiunti a quelli dell'anno precedente, raggiungendo così il numero di previsto dallo studio.

I dati raccolti sono attualmente in fase di valutazione ed elaborazione.

2. *Sperimentazione di un modello di gestione assistenziale integrata del paziente oncologico anziano*

Il sottoprogetto 2 nasce dalla necessità di identificare modelli organizzativi specifici per il paziente anziano che presenta caratteristiche del tutto peculiari, a partire dall'analisi dei bisogni socio-assistenziali fino ai percorsi di diagnosi e cura personalizzati.

Durante il terzo anno l'attività progettuale è continuata secondo lo schema previsto.

In particolare sono stati valutati i seguenti aspetti inerenti la gestione organizzativa e assistenziale del paziente oncologico anziano:

- la presa in carico globale del paziente finalizzata alla comprensione delle patologie oncologiche (e non) e delle disabilità di tipo funzionale, psicologico e psico-sociale
- la ricognizione dei bisogni che la disabilità genera nel paziente e l'identificazione degli operatori interessati al trattamento delle problematiche
- la realizzazione della continuità assistenziale fra struttura ospedaliera e il territorio

Gli strumenti di lavoro scelti si sono mostrati affidabili e riproducibili; sono infatti rimasti in dotazione all'UO in maniera definitiva.

Gli strumenti utilizzati sono:

- la cartella clinica dotata di apposita sezione per gli indicatori di outcome distrettuali e generali (Karnosky Burchenal, ECOG, indice di Barthel, misure di particolarità, altri indicatori più specifici per il singolo problema) (es. deglutizione, gestione della stomia, ecc.)
- la cartella infermieristica con particolare riguardo agli indici di autonomia nelle ADL e nelle IADL, la identificazione del caregiver
- la cartella psico-oncologica scritta dallo specialista psicologo con possibilità di collaborazione con assistente sociale
- la scheda del fisioterapista con progetto e programma riabilitativi individuali
- il documento di dimissione condiviso con il medico di medicina generale per la deospedalizzazione e l'avvio dell'assistenza sul territorio

Inoltre, è stato istituito un team di supporto con il personale infermieristico, lo psicologo e i fisioterapisti per i familiari e i caregiver che seguono il malato.

3. *Studio prospettico sulla gestione integrata socio-assistenziale del soggetto oncologico, in pazienti di età superiore ai 70 anni, al fine di elaborare un nuovo modello organizzativo per l'integrazione tra assistenza ospedaliera ed extra-ospedaliera*

Dai risultati ottenuti nelle prime fasi del progetto e dal contatto diretto con i pazienti e i rispettivi caregivers, è emerso un forte bisogno psicologico in due tipologie di utenti. In particolare, si è rilevato come il carico emotivo ed il distress sperimentato dal paziente anziano affetto da patologia neoplastica e dal suo caregiver, condizionerebbero

significativamente non solo l'approccio alla malattia ma anche la capacità di gestione e organizzazione della vita quotidiana, a causa dei continui e spesso repentini cambiamenti imposti dall'iter della malattia, in modo particolare nella fase avanzata.

Si è quindi deciso di realizzare uno studio centrato su un intervento domiciliare di tipo psicologico, destinato sia al paziente che al suo caregiver, con l'intento di pianificare un supporto di informazione e formazione sulla malattia e di sostegno psicologico per entrambi gli utenti. Il carattere altamente innovativo apportato da questa fase dello studio consiste nel fornire un sostegno psicologico fortemente personalizzato ad entrambi gli utenti coinvolti dalla malattia neoplastica (paziente e caregiver), per di più in un ambito domiciliare, con gli obiettivi di far emergere la molteplicità di bisogni che si manifestano nel corso di tale malattia e di valutare l'efficacia del supporto fornito.

Si vuole inoltre valutare se tale intervento possa provvedere a una maggiore capacità di gestione e di contenimento del distress e del carico emotivo.

Il protocollo di indagine, dopo essere stato concordato e definito dal gruppo di ricerca tramite ripetute riunioni, è stato sottoposto alla approvazione del Comitato Etico dell'Azienda Ospedaliera di Padova. Successivamente la proposta di studio è stata sottoposta alla Direzione Sanitaria dell'USLL 16 di Padova, titolare della assistenza sul territorio, che ha espresso parere favorevole alla sua attuazione. Il successivo passaggio è stato informare i Direttori dei Distretti socio-sanitari del territorio con lo scopo di creare un coordinamento e una cooperazione con le figure socio-sanitarie che operano a domicilio e coinvolte nell'assistenza del paziente e della sua famiglia. Sono state inoltre predisposte delle lettere informative per i Medici di Medicina Generale che hanno in cura i pazienti che daranno la loro adesione allo studio.

Attualmente si stanno reclutando i primi soggetti partecipanti a questa fase del progetto.

4. *Identificazione e quantificazione dei problemi legati all'invecchiamento ed elaborazione di un piano di cura e assistenza personalizzato*

Nell'ambito del progetto, l'unità operativa del INT di Aviano si è occupata di selezionare gruppi di pazienti anziani a rischio affetti da cancro e identificare programmi diversificati di trattamento.

Dal febbraio 2007, data di attivazione dell'UVG, a ottobre 2010 sono stati valutati 428 pazienti anziani affetti da diverse patologie tumorali. Sono stati pianificati programmi terapeutici diversificati in base alla patologia, alla determinazione molecolare, ai fattori prognostici al fine di promuovere l'inclusione dei pazienti anziani in protocolli sperimentali di ricerca clinica e facilitare l'accesso alle cure anche degli anziani più fragili.

In collaborazione con l'Unità di Biostatistica si è creato una scheda informatica per la raccolta e le elaborazioni dati dell'attività del progetto. Tutto il programma di oncologia geriatrica è supportato ora da una cartella informatica estesa a tutte le UO coinvolte nel progetto.

Inoltre, sono state create due biobanche parallele presso la SOS di Microbiologia e presso la SOS di Patologia Clinica per lo studio di bio markers associati a tumori nell'anziano. Le due sieroteche conservano materiale congelato di tutti i pazienti entrati nello studio.

Attualmente sono in corso le prime valutazioni sulla percentuale di pazienti trattati con farmaci biologici a bersaglio molecolare. Inoltre, sono in corso di elaborazione i dati relativi a determinanti metabolici predittivi di tossicità.

5. *Bisogni assistenziali in adulti senior. Le variabili confondenti nella relazione paziente/caregiver*

Le Unità Operative coinvolte nel progetto proseguono nella raccolta delle informazioni relative alle condizioni globali del paziente oncologico anziano e ai bisogni specifici

non solo del paziente ma anche del suo caregiver non professionale, con l'obiettivo di fornire un primo supporto per scelte di tipo socio-economico-assistenziale per questa parte di pazienti neoplastici.

Per il raggiungimento degli obiettivi stabiliti sono stati proposti diversi interventi miranti al monitoraggio delle necessità espresse dal paziente oncologico anziano e dal caregiver, tra cui:

- un questionario per analizzare le difficoltà relative alla funzione di accudimento che questo particolare tipo di paziente richiede e si è configurato come uno strumento per la raccolta di informazioni capaci di orientare strategie facilitatorie per il caregiver;
- l'organizzazione di attività di focus-group con i pazienti per far emergere le reali necessità ed esigenze informative;
- la strutturazione di colloqui di accoglienza per il caregiver.

È emersa, inoltre, la necessità di elaborare uno strumento cartaceo, "un libretto dedicato all'anziano" che possa essere utilizzato dal paziente e dal familiare.

L'analisi definitiva è prevista dopo il completamento del reclutamento da parte di tutti i centri.

Articolazione del progetto

L'articolazione del WP4 è descritta nella Tabella 1.

Tabella 1. Articolazione del WP4 - Approccio socio-assistenziale alle problematiche del paziente oncologico anziano

Proponente <i>(Responsabile scientifico del WP)</i>	Titolo del sottoprogetto	Ente di appartenenza <i>(responsabile scientifico dei sottoprogetti)</i>
ISS <i>(Stefano Vella, coordinatore)</i>	1. Approcci innovativi alla gestione socio-assistenziale del paziente oncologico anziano	ISS <i>(Loredana Falzano)</i>
	2. Sperimentazione di un modello di gestione assistenziale integrata del paziente oncologico anziano	Maugeri <i>(Maria Rosa Strada)</i>
	3. Studio prospettico sulla gestione integrata socio-assistenziale del soggetto oncologico, in pazienti di età superiore ai 70 anni, al fine di elaborare un nuovo modello organizzativo per l'integrazione tra assistenza ospedaliera ed extra-ospedaliera	IOV <i>(Oreste Terranova)</i>
	4. Identificazione e quantificazione dei problemi legati all'invecchiamento ed elaborazione di un piano di cura e assistenza personalizzato	CRO <i>(Lucia Fratino)</i>
	5. Bisogni assistenziali in adulti senior. Le variabili confondenti nella relazione paziente/caregiver	INT <i>(Patrizia Olmi)</i>

COMUNICAZIONE E STRUTTURE INFORMATIVE IN ONCOLOGIA

Stefano Vella (a), Francesco De Lorenzo (b)

(a) Dipartimento del Farmaco, Istituto Superiore di Sanità, Roma

(b) Associazione Italiana Malati di Cancro, parenti e amici, Roma

Riassunto del progetto

Per i malati di cancro l'informazione rappresenta molto spesso *la prima medicina* per affrontare in modo adeguato la malattia. La diffusione sempre più ampia dei mezzi di comunicazione di massa ha accresciuto i bisogni di informazione sia da parte dei malati che dei loro familiari. Inoltre, con l'introduzione del *consenso informato*, si è di fatto rivoluzionato il rapporto medico/paziente, mettendo il malato di fronte alla responsabilità di conoscere la propria malattia per partecipare alle decisioni. La questione dell'informazione va collocata in un modello di assistenza globale al malato oncologico e ai suoi familiari, all'interno dei processi di relazione terapeutica e nel percorso che collega la prevenzione, l'informazione preventiva, l'orientamento alle cure, la gestione della malattia nella fase acuta, la riabilitazione e la continuità assistenziale. In tutti questi settori, un ruolo centrale deve essere assegnato alla qualità della vita del paziente e al soddisfacimento dei propri bisogni basilari, che vanno dalla dignità, alla consapevolezza, alla qualità degli interventi, alla integrazione sociale.

In Italia si evidenzia ancora una carenza di strutture di comunicazione adeguate in grado di rispondere in modo efficace al bisogno di informazione dei cittadini in generale e dei pazienti in particolare. Per queste ragioni è di fondamentale importanza promuovere un miglioramento della comunicazione tra addetti alla ricerca, medici oncologi, pazienti e pubblico in generale.

Per rispondere a queste esigenze, l'ACC ha finanziato il Progetto *"Istituzione di un Servizio Nazionale di Accoglienza e Informazione in Oncologia"* con l'obiettivo di fornire un servizio che metta in rete le principali strutture oncologiche, le associazioni di volontariato e i servizi territoriali, per la realizzazione di un modello interdisciplinare capace di rispondere alle complesse esigenze di coloro che affrontano il cancro. Questo Servizio si raffigura come una rete nazionale di Punti Informativi (PI) in oncologia, secondo un modello unitario diffuso su tutto il territorio nazionale con un Coordinamento organizzativo centrale. Il Servizio Nazionale rappresenta una fonte di informazione autorevole sul cancro, capace di interagire con i cittadini, con gli operatori sanitari e con i media per fornire loro una documentazione tempestiva e pertinente per ogni tematica di interesse oncologico.

L'attività progettuale finora svolta ha risposto a diversi problemi: dalla realizzazione di documenti sugli aspetti etici della sperimentazione, al censimento, alla valutazione e all'aggiornamento del materiale informativo disponibile in Italia. Il lavoro dei gruppi di ricerca ha portato inoltre alla realizzazione di materiale informativo destinato alle donne immigrate, alla valutazione dello stile comunicativo, al censimento e alla formazione degli infermieri nella ricerca clinica negli IRCCS oncologici e alla valutazione della consapevolezza di malattia, alla percezione dell'informazione e al soddisfacimento per le cure dai pazienti oncologici.

Stato generale di sviluppo del progetto e conseguimento dei risultati

Il lavoro svolto nel terzo anno di attività si è concentrato sul proseguimento delle attività previste dal progetto nell'ambito dei tre gruppi di lavoro.

Gruppo di lavoro 1: Informazione

L'attività di questo gruppo consiste nella raccolta e nel censimento del materiale informativo in oncologia disponibile sul territorio nazionale, nella valutazione etica, nell'integrazione ed elaborazione del materiale, e anche nell'aggiornamento e valutazione di qualità del materiale informativo.

Attività svolta:

1. *Valutazione delle risorse e dello stile comunicativo del materiale informativo in oncologia*
Sono proseguite le attività di censimento, valutazione e aggiornamento del materiale informativo disponibile in Italia. Inoltre, numerosi documenti sono stati valutati utilizzando una specifica Scheda di Valutazione dello Stile Comunicativo, che rileva la buona qualità comunicativa del materiale informativo.
2. *Sviluppo del sito web <http://www.cignoweb.it>*
In questa fase è continuata l'attività di sviluppo del sito web pubblico <http://www.cignoweb.it> creato per catalogare materiale informativo divulgativo sulle patologie oncologiche e per la raccolta dell'intero sistema informativo del MeSH multilingua. La struttura del sito comprende una parte pubblica per la divulgazione agli utenti esterni e una parte ad accesso controllato e certificato per l'immissione del materiale informativo.
3. *Miglioramento delle attività dei PI e valutazione del grado di soddisfazione degli utenti*
Nel periodo in esame gli obiettivi perseguiti sono stati il consolidamento delle attività dei PI e l'individuazione di nuove aree di bisogno informativo per facilitare il percorso di cura. Inoltre, è stata ampliata l'attività di supporto al malato e ai familiari attraverso varie modalità d'intervento psicologico, come colloqui individuali di supporto o percorsi di psicoterapia individuale.
È stato predisposto anche un questionario per la valutazione del gradimento da parte degli utenti dei PI, in relazione all'accoglienza e al materiale fornito. L'indagine è stata già avviata ed è ancora in corso.
4. *Studio multicentrico osservazionale*
Si è concluso uno studio multicentrico osservazionale per valutare la consapevolezza di malattia e la percezione della qualità delle cure ricevute in Ospedale dai pazienti oncologici
È prevista una giornata di presentazione il 1 aprile 2011 presso l'Azienda Ospedaliera Sant'Andrea di Roma e una pubblicazione nei prossimi mesi.
5. *Informazione ed orientamento delle donne immigrate sulla prevenzione, diagnosi e terapia dei tumori femminili e sulle modalità di accesso alle stesse*
È stato preparato un volume informativo in lingua italiana sulla prevenzione dei tumori femminili che verrà tradotto in 5 lingue (albanese, francese, inglese, cinese, rumeno). Nei prossimi mesi verrà reclutato del personale ad hoc di madre lingua che si occuperà della traduzione del volume informativo nelle lingue previste. Prima della sua diffusione, il volume verrà valutato da un gruppo campione di donne migranti, per verificarne la completezza e la chiarezza.

Inoltre, sono stati realizzati volantini multilingue (italiano, inglese, francese ed albanese) di “Consigli di salute per le donne: esami di routine per prevenire il cancro” che sono stati presentati e distribuiti durante il Congresso “La cooperazione sanitaria internazionale: Progetto Donna”, organizzato a Bari il 24-25 settembre 2010

6. *Definizione di un format “internet” per mettere a disposizione dei pazienti le informazioni relative alle sperimentazioni cliniche condotte dalle strutture sanitarie nazionali.*

Ad oggi sono state portate a termine le seguenti attività:

- Realizzazione del Data Base che raccoglie tutte le informazioni disponibili su ogni singola sperimentazione clinica. Queste informazioni vengono aggiornate mensilmente.
- Apertura di una nuova sezione dedicata alle Sperimentazione Cliniche sul Sito Internet. La nuova sezione è al momento pubblicata in un’area protetta visibile solo dagli addetti ai lavori.

7. *Preparazione di due pubblicazioni riguardanti la sperimentazione clinica in oncologia.*
Sono stati pubblicati due testi, il primo è indirizzato ai medici e ai ricercatori che eseguono sperimentazioni, mentre il secondo è rivolto ai membri dei comitati etici che valutano sperimentazioni cliniche in oncologia.

Gruppo di lavoro 2: Formazione

L’attività prevista è rivolta ai medici, infermieri e operatori dei PI afferenti al Servizio Nazionale di Accoglienza e Informazione.

Attività svolta:

1. *Corso di Formazione degli Operatori dei PI*

Il Programma di Formazione degli Operatori dei PI è stato rimodulato e perfezionato nei contenuti e nelle modalità didattiche tenendo conto anche dei Questionari di gradimento compilati dai partecipanti del primo corso (Roma, 11-13 dicembre 2008). Il nuovo Corso di Formazione per i Volontari del Progetto “Informa Cancro” 2010 si è tenuto in tre successivi eventi a cui hanno partecipato i volontari del Nord, del Centro e del Sud Italia.

2. *Corso “La Sperimentazione in Oncologia e il Nursing Avanzato”*

La 2^a e 3^a edizione del Corso “La Sperimentazione in Oncologia e il Nursing Avanzato” è stata presentata all’Istituto Oncologico Veneto. La 2^a edizione si è conclusa nel maggio 2010 mentre la 3^a a novembre 2010. L’ultima edizione del corso è in programmazione per gennaio/febbraio 2011.

A conclusione del progetto, verrà redatto un documento finale che definisce i requisiti formativi e professionali per standardizzare le responsabilità dell’infermiere nella ricerca clinica.

3. *“Studio dell’impatto di un programma formativo sugli skills comunicativi dei medici nel ridurre il distress dei pazienti”*

Nel mese di settembre 2010 si è concluso lo “Studio dell’impatto di un programma formativo sugli skills comunicativi dei medici nel ridurre il distress dei pazienti”. Lo studio ha come obiettivo quello indagare l’impatto di un corso teorico-esperienziale inerente le tecniche di comunicazione in oncologia su un campione randomizzato di medici oncologi, che hanno avuto una precedente formazione alla comunicazione in ambito psico-oncologico.

Gruppo di lavoro 3: Organizzazione e messa in rete dei risultati

L’attività prevista consiste nell’individuazione e diffusione di un modello di costituzione della Rete dei Punti di Informazione sul territorio nazionale, soprattutto per quanto riguarda

la definizione della loro operatività e attività (strategie comuni, direttive, linee guida, strumenti condivisi, ecc.).

Attività svolta:

Nel corso del terzo anno di attività progettuale è stato migliorato il sistema informativo di rilevazione dati “DAISY” di cui è stato dotato ogni PI attivato presso le strutture che progressivamente hanno aderito alla Rete del Servizio Nazionale di Accoglienza e Informazione in Oncologia.

Inoltre è stato migliorato il documento “Procedure Standard Operative e di Qualificazione di un Punto Informativo e di Accoglienza” orientato a delineare una sorta di linea guida per la realizzazione di un “Servizio in rete” e a fornire tutte le indicazioni e raccomandazioni necessarie alla sua messa a punto organizzativo-gestionale.

È in preparazione un libro/manuale che verrà pubblicato dal ISS col titolo: “Il Servizio Nazionale di Accoglienza e Informazione in Oncologia. Come fare informazione e comunicazione: il manuale”.

La pubblicazione di questo testo è prevista per il 2011.

Articolazione del progetto

L’articolazione del WP5 è descritta nella Tabella 1.

Tabella 1. Articolazione del WP5 - Comunicazione e strutture informative in oncologia

Proponente <i>(Responsabile scientifico del WP)</i>	Titolo del sottoprogetto <i>(finanziamento)</i>	Ente di appartenenza <i>(responsabile scientifico dei sottoprogetti)</i>
ISS <i>(Stefano Vella, coordinatore)</i>	Servizio Nazionale di Informazione in Oncologia	ISS <i>(Stefano Vella)</i> AIMaC <i>(Francesco De Lorenzo)</i> INT <i>(Rosaria Bufalino)</i> CRO <i>(Ivana Truccolo, Maria Antonietta Annunziata)</i> IEO <i>(Flavio Nascè)</i> FAVO <i>(Francesco De Lorenzo)</i>
	Studio dell’impatto di un programma formativo sugli skill comunicativi dei medici nel ridurre il distress dei pazienti	IRE <i>(Anita Caruso)</i>
	Prevenzione oncologica primaria e secondaria: azioni educative e d’intervento	ITB <i>(Francesco Schittulli)</i>
	Ruolo degli infermieri nella ricerca clinica negli IRCCS oncologici: censimento e progetto di formazione	Pascale <i>(Franco Perrone)</i>
	Rispondere all’esigenza di informazione del paziente oncologico e dei <i>caregiver</i>	S.Giovanni Rotondo <i>(Evaristo Maiello)</i>
L’umanizzazione in oncologia: un modello che collega gli aspetti strutturali organizzativi e relazionali in gioco	HSR <i>(Gianna Zoppi)</i>	

Pubblicazioni conseguite nell'ambito del progetto

Il progetto ha prodotto le seguenti pubblicazioni:

1. Cicerone M, Minacori R, Spagnolo AG, Petrini C (Ed). *La sperimentazione clinica in oncologia. 2: elementi per la valutazione da parte dei comitati di etica*. Roma: Istituto Superiore di Sanità 2009. (Rapporti ISTISAN 09/37).
2. Gainotti S, Galeotti F, Raschetti R, Petrini C (Ed). *La sperimentazione clinica in oncologia. 1: aspetti di etica nella preparazione dei protocolli di ricerca*. Roma: Istituto Superiore di Sanità 2009. (Rapporti ISTISAN 09/30).
3. Truccolo I, Bogliolo A, Ricci R, Giacomini M, Pivetti S, Russell-Edu W, De Lorenzo F, Della Seta M, Colombo C, Bocchini G, Bufalino R, Pierotti M, Lombardo C, De Paoli P. *Tumori 2010* (in corso di stampa).

Nel 2010 sono stati prodotti volantini multilingue (italiano, inglese, francese ed albanese) dal titolo "Consigli di salute per le donne: esami di routine per prevenire il cancro".

BASI SCIENTIFICHE PER LA DEFINIZIONE DI LINEE GUIDA IN ONCOLOGIA

Rosella Silvestrini
Fondazione IRCCS Istituto Nazionale Tumori, Milano

Riassunto del progetto

L'obiettivo principale del Progetto è la produzione di testi sulle basi scientifiche per la definizione di linee guida in ambito clinico per le diverse patologie oncologiche. In particolare, l'iniziativa si è proposta di trattare *ex novo* patologie mai precedentemente considerate o di aggiornare, laddove ritenuto opportuno considerati i progressi scientifici e tecnologici registrati negli ultimi tempi, patologie in passato già trattate nell'ambito dei Progetti Finalizzati e Strategici, sponsorizzati dal Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR). La realizzazione dei testi viene curata da 2 o, in alcuni casi, 3 coordinatori e la stesura è affidata a gruppi di studio, composti dai più importanti esperti nazionali degli specifici settori disciplinari per le specifiche patologie oncologiche.

I volumi riportano i dati più aggiornati della letteratura nei vari settori dall'epidemiologia e fattori di rischio alla diagnostica di laboratorio e strumentale fino alle diverse strategie terapeutiche, chirurgiche, mediche e radioterapiche. Per quasi tutte le patologie è inoltre presentato un ultimo capitolo sulle direttive future, quale momento di riflessione e base di partenza per sviluppi di ricerca.

Il testo, esteso dal gruppo di studio, è successivamente sottoposto al giudizio di un gruppo di consenso, anch'esso composto da esperti degli specifici settori interdisciplinari, afferenti e rappresentativi delle più importanti strutture oncologiche nazionali, per la definitiva validazione.

I volumi prodotti sono di facile ed interessante consultazione da parte della comunità clinico-scientifica, dei medici di medicina generale ed anche degli operatori sanitari.

Durante i tre anni di attività (2008-10), condotta sotto l'egida di ACC, sono stati stampati 6 volumi, 3 dei quali relativi alla trattazione di patologie mai precedentemente considerate (carcinoma renale, tumori neuroendocrini e tumori del pancreas) e 3 che rappresentano un aggiornamento delle conoscenze per patologie precedentemente trattate nell'ambito dell'iniziativa del CNR (tumori dell'età pediatrica, carcinoma del colon-retto ed ano e terapie loco-regionali integrate).

I testi, stampati in alcune migliaia di copie, vengono distribuiti ai più importanti eventi congressuali, inviati presso le scuole di specialità in oncologia dove sono utilizzati dagli specializzandi come testi di studio e sono tutti accessibili sul sito di ACC (www.alleanzacontroilcancro.it). L'interesse suscitato presso la vasta comunità clinico-scientifica è testimoniato dagli accessi ai testi on-line che ammontano ad oltre 3.200.000 all'anno.

Stato generale di sviluppo del progetto e conseguimento dei risultati

In linea con gli obiettivi previsti per il terzo anno di attività, sono stati portati a termine e pubblicati i testi relativi alle basi scientifiche per i tumori del pancreas e alle basi scientifiche e tecnologiche per le terapie loco-regionali integrate, propedeutiche alla definizione di linee guida:

– *Tumori del Pancreas*

Questa patologia è stata considerata per molti anni come una malattia per la quale qualsiasi strategia terapeutica era del tutto inefficace. La rapida evoluzione delle metodiche diagnostiche e dei protocolli terapeutici ha reso possibile una graduale e progressiva acquisizione di conoscenze in tutte le discipline che contribuiscono alla gestione di questi pazienti. Si è infatti registrato un aumento della sopravvivenza dal 17%, per i pazienti diagnosticati nel quinquennio 1980-84, al 28% per quelli diagnosticati nel 2005 ed è ovviamente auspicabile che tale trend continui nel futuro.

La realizzazione del testo è stata coordinata da Sergio Pedrazzoli e Rosella Silvestrini e la stesura è stata realizzata grazie al contributo di un gruppo di studio composto da 22 membri, tra i più qualificati esperti interdisciplinari del settore, oltre a 16 collaboratori, operanti presso importanti realtà cliniche. Il testo, come da prassi, è stato successivamente sottoposto all'analisi ed approvazione da parte di un gruppo di consenso composto da 12 esperti di alto livello.

Il volume è articolato in 13 capitoli: dall'epidemiologia e fattori di rischio alla diagnostica di laboratorio e strumentale fino alle diverse strategie terapeutiche, chirurgiche, mediche e radioterapiche ed è completato da un ultimo capitolo sulle prospettive future.

Rappresenta un compendio di facile ed interessante consultazione da parte degli specialisti oncologi e dei ricercatori che possono trovare spunti di riflessione a supporto della loro attività, ma anche da parte di medici di medicina generale e degli operatori sanitari.

Del volume, ultimato nel marzo 2010, sono state pubblicate alcune migliaia di copie distribuite a importanti eventi congressuali di oncologia ed in particolare a quelli specifici della materia.

– *Terapie Loco-Regionali Integrate (TLRI) nelle Patologie Oncologiche*

Per terapie Loco-Regionali tradizionalmente si intende una serie di metodiche in grado di portare per via chirurgica o per via radiologica interventistica uno o più farmaci antitumorali, allo scopo di raggiungere la maggior concentrazione nel tessuto tumorale ed evitare tossicità sistemiche all'organismo. Attualmente, nelle terapie loco-regionali è previsto anche l'utilizzo di farmaci biologici, eventualmente in associazione ai classici antitumorali citotossici, o l'impiego di sostanze capaci di rilasciare emissioni radioattive. Sono definite "Integrate" in quanto facenti parte di un unico e complesso trattamento ed attualmente trovano utile ed efficace applicazione in specifiche neoplasie quali tumori secondari epatici, tumori pancreatici avanzati, carcinomi peritoneali, recidive di tumori nel piccolo bacino e tumori avanzati della pleura e del polmone e per quelle neoplasie operabili solo con grossi interventi demolitivi, quali tumori degli arti, consentendo interventi più conservativi.

Il volume, che rappresenta un aggiornamento di quello già pubblicato nel 2005, è stato fortemente sollecitato dalla Società Italiana di Terapie Integrate Loco-Regionali in Oncologia (SITIO), considerati i notevoli progressi tecnologici e gli importanti risultati

ottenuti negli ultimi anni in questo settore, per metterlo a disposizione della comunità clinico-scientifica e di tutti coloro che vogliono cimentarsi con tecniche innovative.

Il testo si articola in 3 parti fondamentali: la prima, relativa agli aspetti di base, per quanto riguarda l'interazione tra agenti terapeutici chimici e fisici e gli aspetti innovativi, relativi all'impiego di farmaci target; la seconda, dedicata ad una dettagliata descrizione di tutte le tecnologie complesse, attualmente utilizzate in clinica; la terza, relativa alle applicazioni cliniche nelle diverse patologie oncologiche candidate a questi trattamenti.

La realizzazione del testo è stata coordinata da Pier Giorgio Cagol (Presidente della SITILO) e Rosella Silvestrini e la stesura realizzata da un gruppo di studio composto da 20 membri, tra i più qualificati esperti interdisciplinari del settore, operanti presso importanti Istituzioni italiane, oltre 17 collaboratori.

La pubblicazione di questi testi è stata resa possibile grazie anche all'indispensabile supporto scientifico, organizzativo ed editoriale di Francesca Mazzetti e Paola Persici e di Luciana Rainaldi facenti parte della Segreteria Scientifica di Rossella Silvestrini.

Publicazioni conseguite nell'ambito del progetto

Il progetto ha prodotto le seguenti pubblicazioni:

1. *Basi scientifiche per la definizione di linee-guida in ambito clinico per i tumori dell'età pediatrica*. Roma: Alleanza contro il Cancro, Istituto Superiore di Sanità; 2008. http://www.iss.it/binary/lgac/cont/TESTO_PEDIATRIA_FINALE.pdf; ultima consultazione 12/1/11.
2. *Basi scientifiche per la definizione di linee-guida in ambito clinico per il carcinoma renale*. Roma: Alleanza contro il Cancro, Istituto Superiore di Sanità; 2008. http://www.iss.it/binary/lgac/cont/2008_Carcinoma_Renale.pdf; ultima consultazione 12/1/11.
3. *Basi scientifiche per la definizione di linee guida in ambito clinico per i tumori neuroendocrini del tratto Gastro-Entero-Pancreatico (GEP)*. Roma: Alleanza contro il Cancro, Istituto Superiore di Sanità; 2009. http://www.iss.it/binary/lgac/cont/2009_Tumori_Neuroendocrini.pdf; ultima consultazione 12/1/11.
4. *Basi scientifiche per la definizione di linee guida in ambito clinico per i tumori del colon-retto e dell'ano*. Roma: Alleanza contro il Cancro, Istituto Superiore di Sanità; 2009. Disponibile all'indirizzo: http://www.iss.it/binary/lgac/cont/2009_Colon_Retto_ed_Ano.pdf; ultima consultazione 12/1/11.
5. *Basi scientifiche per la definizione di linee guida in ambito clinico per i Tumori del Pancreas*. Roma: Alleanza contro il Cancro, Istituto Superiore di Sanità; 2010. Disponibile all'indirizzo: http://www.iss.it/binary/lgac/cont/BSLG_Tumori_del_Pancreas_Prima_parte.pdf; ultima consultazione 12/1/11.
6. *Basi scientifiche per la definizione di linee guida in ambito clinico per le Terapie Loco-Regionali Integrate (TLRI)*. Roma: Alleanza contro il Cancro, Istituto Superiore di Sanità; 2010. Disponibile all'indirizzo: <http://www.iss.it/binary/lgac/cont/TLRI01.pdf>; ultima consultazione 12/1/11.

PORTALE DI ALLEANZA CONTRO IL CANCRO

Paolo Roazzi

Servizio Informatico, Documentazione, Biblioteca ed Attività Editoriali, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Riassunto del Progetto

Scopo principale del portale di ACC è quello di migliorare la comunicazione nell'ambito delle patologie oncologiche e di essere strumento di supporto a tutte le attività di comunicazione dei progetti di ACC. È oggi considerato di primaria importanza promuovere un miglioramento della comunicazione tra ricercatori, medici oncologi, pazienti e cittadini in generale. L'Italia non dispone di canali comunicativi adeguati per rispondere alla domanda di un'informazione efficace e corretta in ambito oncologico, soprattutto per quanto riguarda le nuove terapie sperimentali. La realizzazione di un portale web è quindi strategica per il raggiungimento di tali obiettivi. Il portale vuole rappresentare anche un importante strumento di servizio per tutta la rete nazionale e per le collaborazioni a livello internazionale.

Il Progetto prevede due unità operative: la prima relativa alla progettazione e allo sviluppo del database, ossatura del portale, la seconda impegnata nella realizzazione dell'infrastruttura del portale e nella soluzione dei problemi legati alla sicurezza informatica.

Una caratteristica di cui l'ISS ha tenuto conto nella implementazione del progetto è l'accessibilità.

Internet è il protagonista della società dell'informazione, capace di rendere indipendenti e autonomi anche coloro che fino a pochi anni fa non lo erano, come le persone che vivono isolate, i disabili, gli anziani.

Ma è importante sottolineare che l'accessibilità non si rivolge esclusivamente alle persone disabili, ma migliora la fruizione dei siti Internet a tutti gli utenti della rete che sono molto diversi l'uno dall'altro: ognuno ha il proprio browser, che permette di visualizzare le pagine web, ciascuno ha delle preferenze di visualizzazione specifiche. L'accessibilità permette a tutti gli utenti di avere un'esperienza di navigazione e interazione online soddisfacente e senza discriminazioni.

Il sito è stato suddiviso per aree e per argomenti e si è cercato di ottimizzare le parole chiavi all'interno dei testi: gli utenti devono trovare sul sito web una logica e immediata rappresentazione delle informazioni e devono facilmente e velocemente capire i contenuti che devono essere "contenuti da leggere sul web" e indicizzabili al meglio sui motori.

Stato generale di sviluppo del progetto e conseguimento dei risultati

In questo anno è proseguita l'attività di gestione e manutenzione del sito <http://www.alleanzacontroilcancro.it/> e dei siti dei progetti afferenti ai singoli programmi all'interno di ACC.

È continuato il lavoro di analisi, progetto e sviluppo di nuovi siti in relazione alle specifiche esigenze dei programmi di ricerca.

È stata posta particolare attenzione alla formazione e aggiornamento del personale di ACC incaricato della gestione dei contenuti dei progetti afferenti attraverso l'uso di un content management system (CMS) NetBox.

Per migliorare il servizio di statistiche in merito ai siti dei Progetti è stato predisposto, sottoposto a test, adattato e messo in esercizio un software Free Software ed OpenSource.

Con l'attività delle rilevazioni statistiche sono stati resi disponibili due sistemi di tracciamento ed analisi delle visite: uno erogato da un'azienda (ShinyStat) e limitatamente ai servizi resi da questa nell'ambito degli Account Pro; il secondo erogato direttamente dall'ISS, basato su AWStats, che consente, senza modifiche al codice dei siti, analizzando i log, un livello di granularità maggiore e la possibilità di estendere le statistiche anche ai documenti erogati e non solo alle pagine (X)HTML.

Per migliorare la fruibilità del prodotto, facilitandone l'utilizzo e incrementando le funzionalità si sta studiando lo sviluppo di un CMS che risponda meglio alle esigenze dell'utenza.

Pubblicazioni conseguite nell'ambito del progetto

Il progetto ha prodotto le seguenti pubblicazioni:

1. Roazzi P, Deodati S, Faralli C, Guderzo S, Morassi E, Ferrari M. Progettazione e realizzazione del portale Alleanza Contro il Cancro. *Notiziario dell'Istituto Superiore di Sanità* 2009;22(7/8):3-5.

PROGRAMMA 2
**Integrazione delle attività di ricerca
attraverso la costruzione di strutture
e reti di collaborazione interistituzionali**

Coordinatore
Marco Pierotti

ARTICOLAZIONE DEL PROGRAMMA

Il Programma 2, “Integrazione delle attività di ricerca attraverso la costruzione di strutture e reti di collaborazione interistituzionali”, coordinato da M. Pierotti (INT), ha la finalità di costituire reti nazionali ritenute prioritarie per lo sviluppo della ricerca e la promozione dell’innovazione.

Nell’ambito del Programma 2, sono state considerate prioritarie quelle reti nazionali funzionali a facilitare il lavoro degli Istituti di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico (IRCCS) oncologici e a favorire la realizzazione e l’integrazione di reti regionali e interregionali nel contesto di una progettualità nazionale ispirata al disegno europeo e quindi in sinergia con il Programma 4, il cui obiettivo è quello di promuovere l’internazionalizzazione delle attività di ricerca di ACC. I progetti di rete selezionati per il finanziamento, insieme con l’indicazione dei coordinatori e dei referenti istituzionali corrispondenti sono elencati nella Tabella 1.

Tabella 1. Reti finanziate nell’ambito del Programma 2 (Finanziamento: 5.200.000 €)

Titolo della rete	Coordinatori (ente di appartenenza)
Rete nazionale biobanche per l’oncologia	Giovanni Migliaccio (ISS) Angelo Paradiso (ITB)
Rete nazionale per studi clinici e di strutture GMP per le bioterapie dei tumori	Enrico Proietti (ISS) Giorgio Parmiani (HSR)
Rete nazionale “Progetto START”: stato dell’arte in oncologia	Ruggero De Maria (ISS) Lisa Licitra (INT)
Rete nazionale dei registri tumori: indicatori e controllo del cancro in Italia	Riccardo Capocaccia (ISS) Eugenio Paci (AIRT) Piero Picci (IOR) Marina Vercelli (ISTGE)
Rete nazionale su modelli sperimentali e <i>facilities</i> animali	Stefano Fais (ISS) Gennaro Citro (IRE)
Network nazionale italiano Tumori Eredo-Famigliari (inTEF): creazione di strumenti operativi condivisi per l’assistenza e la ricerca	Franca Podo/Margherita Bignami (ISS) Paolo Radice (INT) Liliana Varesco (ISTGE)
Rete nazionale di Bioinformatica Oncologica (RNBIO)	Mario Crescenzi (ISS) Paolo Romano (ISTGE)
Rete nazionale telepatologia (TESEO)	Antonino Carbone (INT)
Rete nazionale per la cura e la ricerca dei sarcomi muscoloscheletrici	Piero Picci (IOR)

RETE NAZIONALE BIOBANCHE PER L'ONCOLOGIA

Angelo Paradiso (a), Giovanni Migliaccio (b)

(a) *Direzione Scientifica, Istituto Tumori Giovanni Paolo II, Bari*

(b) *Dipartimento di Biologia Cellulare e Neuroscienze, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

Riassunto del progetto

Lo sviluppo di trattamenti personalizzati per il cancro dipende da una migliore conoscenza dei meccanismi molecolari coinvolti nel processo di iniziazione, progressione e sviluppo della resistenza ai farmaci. Il rapido progresso delle tecnologie biomolecolari, ha acuito la necessità del ricercatore di identificare le connessioni fra i fattori genetici ed ambientali, che inducono la patologia e ne modificano la gravità e l'esito.

Questi studi dipendono dalla possibilità di analizzare grandi numeri di campioni.

In quest'ottica le biobanche ricoprono un ruolo fondamentale, permettendo l'analisi di materiale biologico raccolto secondo criteri di alta qualità per correlare la ricerca biologica con i risultati clinici.

Il progetto RIBBO propone la costruzione della Rete Italiana di BioBanche Oncologiche, da collegare con l'infrastruttura virtuale europea "Biobanking and Biomolecular Resources Research Infrastructure" (www.bbmri.eu/) alla cui fase preparatoria partecipano ISS e ACC. La costruzione di RIBBO vuole rispondere alla crescente richiesta di tessuti oncologici umani, sia in campo di ricerca oncologica di base che clinica, realizzando una rete sul territorio nazionale che favorisca la standardizzazione di tutti i procedimenti riguardanti i campioni. Tale processo permetterà anche di armonizzare tutte le procedure che ottemperano alle normative nazionali ed europee di tutela della privacy e alle norme di qualità e di sicurezza per la donazione, l'approvvigionamento, il controllo, la lavorazione, la conservazione, lo stoccaggio e la distribuzione di materiale biologico

RIBBO è il primo progetto che opera sul territorio nazionale che si propone l'integrazione delle strutture già esistenti che collezionano e conservano campioni biologici di natura oncologica. Il progetto RIBBO si propone di:

- sviluppare un piano di integrazione delle biobanche oncologiche italiane;
- redigere un codice di condotta consensuale per il suo funzionamento;
- valutare l'impatto della legislazione corrente sulla raccolta, analisi e messa a disposizione dei dati raccolti a scopo diagnostico;
- armonizzare le procedure tecniche, organizzative, etiche e legali, operanti nelle singole biobanche;
- identificare eventuali bacini di raccolta e le loro potenzialità in termini di patologie, di stili di vita e condizioni ambientali;
- elaborare proposte per un finanziamento sostenibile delle strutture coinvolte;
- inventariare le risorse esistenti in termini di campioni biologici raccolti, delle loro caratteristiche e della loro disponibilità per l'uso da parte di una comunità scientifica allargata;
- integrare i dati dei campioni oncologici già caratterizzati in un database mediante un sistema operativo di raccordo che sia compatibile con un futuro inserimento nel database europeo.

Stato generale di sviluppo del progetto e conseguimento dei risultati

Il lavoro svolto nel terzo anno di attività può essere riassunto come segue:

– *Allargamento della rete*

Il crescente interesse attorno alle attività del RIBBO ha determinato un ulteriore sviluppo della piattaforma cooptando due nuove unità operative che si sono aggiunte al network: il Retinoblastoma Biobank dell'Università di Siena, diretto da Alessandra Renieri e il Centro di Risorse Biologiche dell'IRCCS Humanitas di Rozzano (MI), diretto dalla Dr.ssa Daniela Pistillo.

Pertanto, allo stato attuale, il network RIBBO è formato da 20 UO (vedi Articolazione del Progetto).

– *Attività formative*

Vista la diffusa necessità di fornire alle biobanche del network, insieme a quelle dell'intero territorio nazionale ed europeo, un continuo aggiornamento sulle problematiche e i progressi implicati nella gestione ed utilizzo delle biobanche e allo scopo di consentirne l'allineamento secondo gli standard internazionali, è stato organizzato un corso-convegno, con il patrocinio anche di Alleanza Contro il Cancro, intitolato: ESO-OECI "Biobanking for cancer research: rules and roles" che si è svolto presso l'IRCCS Istituto Tumori Giovanni Paolo II di Bari dal 10 all'11 novembre 2010. Il corso, approvato da ISBER (International Society for Biological and Environmental Repositories), si è svolto sotto gli auspici di EORTC (European Organisation for Research and Treatment of Cancer). Il corso, seguito da più di cento partecipanti, tra cui i rappresentanti di tutte le UO RIBBO ed alcuni provenienti anche da diversi paesi europei e nord africani, si avvalso di una facoltà di portata internazionale che ha consentito un approccio multidisciplinare dei diversi aspetti relativi alle biobanche Disease Oriented e, in particolare, a quelle oncologiche.

Durante l'evento è più volte emersa la mancanza di percorsi didattici specifici per gli operatori delle biobanche, risultando nella proposta di rendere il corso periodico con una cadenza biennale ed organizzato in sedi diverse. Il coinvolgimento nell'iniziativa di biobanche appartenenti ai territori nord africani e dell'est Europa ha premesso di stabilire un'importante via comunicativa al fine di cooptare nelle realtà scientifico-culturali italiane, quelle di questi ed altri paesi a cui verrà allargata la discussione e le cui attività verranno sviluppate da RIBBO all'interno di OECI. A tal proposito, infatti, RIBBO risulta in linea e coinvolto nello sviluppo di progetti collaborativi europei come, ad esempio, quello della recente costituzione dell'European Chapter dell'ISBER, costituitosi come "European, Middle Eastern & African Society for Biopreservation and Biobanking" (<http://www.esbb.org/welcome.html>), nei cui committees sono presenti alcuni responsabili delle UO RIBBO.

Sono di seguito elencate le riunioni e le altre attività formative svolte nell'ambito del progetto:

- Paris Maison de la Mutualité 16/12/2009 "From biobanks to expert centres";
- Roma ISS 21/1/2010 "The development of networks for Cancer research: a national need and a European challenge"- Programma Straordinario Oncologia 2006 - Consuntivo Attività Scientifica 2008-2009;

- Roma ISS 14/4/2010 Workshop: The development of the Italian Network of Research Biobanks (INRB): perspectives for the participation in BBMRI;
 - Bari Istituto Tumori Giovanni Paolo II 9/6/2010 Riunione Operativa Coordinamento;
 - Genova IST 28-29/9/2010 “La Partecipazione italiana all’infrastruttura europea delle Biobanche e delle Risorse Biomolecolari-BBMRI”.
- *Sito web ed entità legale*
- È stata sviluppata e messa in rete la pagina web (<http://www.iss.it/ribo/>) nella quale sono visibili le informazioni relative alla composizione e alle finalità del Progetto, al fine di consentire, oltre alla comunicazione interna tra le UO partecipanti, la visibilità a fruitori esterni interessati all’utilizzo di campioni biologici e relativi dati clinico-patologici, per scopi di ricerca. È stato, successivamente, sviluppato il prototipo del portale RIBBO (<http://www.iss.it/site/ribo/>) nel quale trova collocazione il Database Centralizzato delle risorse biologiche disponibili nelle Biobanche e Centri di Risorse Biologiche delle UO RIBBO, consultabile (<http://www.iss.it/site/ribo/search.aspx>) da parte di ricercatori interessati al loro utilizzo. Il sito web attualmente è in fase di riorganizzazione in seguito ai suggerimenti dei partecipanti al network e per consentire il caricamento nel database di grosse moli di dati.
- In occasione del meeting organizzato a Bari il 9/6/2010 sono emerse diverse considerazioni circa la strutturazione del database e, nello specifico, quella relativa al MDS (Minimum Data Set) a suo tempo validato dai membri del RIBBO. Infatti, durante la fase di prove di caricamento dei dati, si sono verificate incongruenze riguardanti il tipo di dato e, soprattutto, l’eterogeneità classificativa del dato stesso. Ciò ha determinato un notevole rallentamento nella finalizzazione del database e, quindi, del suo utilizzo. Pertanto, si è stabilito di effettuare un censimento delle informazioni cliniche, patologiche e logistiche che ogni UO associa ai campioni biologici conservati nelle proprie biobanche. Pelagio (Bari) e Pistillo (Milano) hanno redatto il modulo del survey e provveduto alla raccolta delle informazioni e alla stesura di un documento riepilogativo che è stato approvato dai centri RIBBO. Inoltre, i patologi Canzonieri (Aviano) Botti (Napoli) e Ciceri (Milano), hanno effettuato una revisione dei sistemi di classificazione patologica utilizzati all’interno del database RIBBO, proponendo le seguenti modifiche:
- sostituire “ETÀ AL PRELIEVO” con “DATA DI NASCITA” perché è un dato che varia nel caso di prelievi multipli fatti a distanza anche di anni (l’età al prelievo, infatti, si può ricavare dalla data di nascita e da quella del prelievo);
 - rendere obbligatorio il “CODICE LOCALE PAZIENTE” per tracciare la storia dei prelievi di ogni paziente;
 - eliminare “TIPO DI SOGGETTO” dato che c’è già la diagnosi;
 - eliminare “PROGETTO DI RICERCA” dato che non si può conoscere a priori;
 - per la codifica della diagnosi istopatologia, utilizzare il sistema ICD-O3 (abbiamo la possibilità di effettuare la transcodifica SNOMED-ICDO3) o, alternativamente, adottare l’utilizzo combinato di ICD-10 + SNOMED.
- In entrambi i casi il codice è da assegnare esclusivamente al campione e non al paziente. È emersa, inoltre, la necessità di individuare una forma organizzativa per il RIBBO che non sia da una parte condizionante per le attività delle singole istituzioni, mentre dall’altra consenta di supportare ACC nel suo cruciale ruolo di governance nell’oncologia italiana al fine di:
- meglio organizzare e curare l’interfaccia tra RIBBO e l’ISS, il quale svolge su mandato ministeriale un ruolo di coordinamento dei nodi nazionali per le infrastrutture Europee ECRIN, EATRIS e BBMRI;

- garantire tutti i supporti tecnici e scientifici maturati in sede RIBBO e meglio strutturare le attività del network.

È stata avanzata, quindi, la proposta di dar luogo ad un protocollo d'intesa in primis tra gli IRCCS oncologici del RIBBO e, comunque, estesa alle altre istituzioni con biobanche cancer related dotate dei necessari requisiti di qualità richiesti da organizzazioni nazionali ed internazionali. Detta ipotesi permetterebbe la continuità nella gestione comune del sito web, del database del RIBBO, nonché la stessa governance del network.

- *Partecipazione alla rete del BBMRI*

A dicembre 2009, BBMRI ha lanciato a ogni Stato Membro, una richiesta di un singolo progetto pilota nazionale, chiamati "prototipi di BBMRI".

La rete RIBBO, unitamente ad altre 5 reti italiane, ha presentato un progetto di prototipo. L'ISS, ha armonizzato tutti i progetti presentati sotto un unico "prototipo italiano" della rete IRBN (*Italian Research Biobanks Networks*), coordinato da Giovanni Migliaccio. Questo prototipo, che include la rete RIBBO ed i suoi obiettivi, è stato accettato come progetto facente parte del prototipo del WP3 di BBMRI, come riportato nel sito <http://www.bbMRI-wp3proto.eu/> che riporta tutti i principali obiettivi raggiunti da questo prototipo europeo.

Nel febbraio 2010, il prototipo del WP3 di BBMRI ha lanciato l'attività "How to Join", cioè la formazione di un catalogo europeo di biorisorse oncologiche. I partner RIBBO che hanno aderito alla infrastruttura BBMRI, si sono interfacciati con l'ISS per il caricamento dei propri campioni.

Nell'ambito della partecipazione di RIBBO al Prototipo BBMRI, il coordinamento ha eseguito una survey sul possesso dei requisiti specifici richiesti per la partecipazione allo stesso e, nello specifico:

- Procedure per lo scambio transnazionale efficace di campioni e dati secondo i requisiti etico-legali vigenti.
- Il prototipo dovrebbe svilupparsi secondo il modello Hub and Spoke di BBMRI.
- Le linee guida OECD per il best practice e le linee guida WHO/IARC per i centri di risorse biologiche dovrebbero servire come basi per lo sviluppo e funzionamento del prototipo.
- È previsto un solo prototipo BBMRI con un numero limitato di Hubs.
- Il possesso di SOP per collaborazioni scientifiche e lo scambio transnazionale compresi MTA, CDA, e regole per l'accesso.
- Lo sviluppo di un portale di accesso comune attraverso il sito web BBMRI.
- Le procedure in uso devono essere opportunamente adeguate per essere integrate nel concetto operative di BBMRI.
- Tutta la documentazione prodotta deve essere resa disponibile per il consorzio del Prototype Project per la costruzione di BBMRI.

Il risultato del survey ha permesso di stabilire un gruppo di UO RIBBO con requisiti idonei per la partecipazione al Prototipo.

Le Biobanche afferenti alla rete RIBBO che hanno partecipato al catalogo europeo di BBMRI e il loro contributo in termini di donatori e campioni è riportato nella Tabella 1.

Nella fase di implementazione del progetto BBMRI a consorzio legalmente riconosciuto BBMRI-ERIC, il prototipo del WP3 di BBMRI potrebbe essere continuato come progetto oncologico di BBMRI, e tutti i campioni oncologici italiani presenti nella rete IRBN potrebbero contribuire al raggiungimento degli obiettivi della infrastruttura BBMRI-ERIC.

Tabella 1. Biobanche afferenti alla rete RIBBO che partecipano a BBMRI

UO della Rete RIBBO	Donatori (n.)	campioni (n.)
Bio banca CRO	59	102
CRB ISTGE	858	4018
CRB-IRST	2307	2391
Pascale	3220	33876
Fondazione ospedale maggiore policlinico, mangiagalli e regina elena	172	268
CRB-ICH	170	998
INT	508	1322
IRE	283	729
ITB	2576	11351
RB BIOBANK	183	294

Articolazione del progetto

Allo stato attuale, il network RIBBO è formato da 20 UO L'articolazione del network è descritta nella Tabella 2.

Tabella 2. Articolazione del progetto Rete nazionale biobanche per l'oncologia

Proponente (<i>Cordinatori della rete</i>)	Ente di appartenenza dell'Unità Operativa	Responsabile scientifico dell'Unità Operativa
ITB (<i>Angelo Paradiso</i>) ISS (<i>Giovanni Migliaccio</i>)	ISS	Paolo Roazzi
	ITB	Giuseppe Pelagio
	IRE	Marcella Mottese
	Pascale	Gerardo Botti
	INT	Maria Grazia Daidone/Marco Pierotti
	CRO	Agostino Steffan/Vincenzo Canzonieri
	ISTGE	Mauro Truini
	IEO	Salvatore Pece
	IOV	Massimo Ruge/Giuseppe Opecher
	IDI	Tullio Faraggiana
	IOR	Marco Alberghini/Piero Picci
	Multimedica	Adriana Albini
	Besta	Gaetano Finocchiaro/Sara Guzzetti
	HSR	Silvano Rossini/Fabio Ciceri
	CRB-IRST	Massimo Guidoboni
	TTB	Donato Nitti/Marco Agostini
	PV-CB-BANK	Laura Salvaneschi/Paola Bergamaschi
	IRCCS-CROB	Pellegrino Musto/Giuseppe Patitucci
	RB BIOBANK	Alessandra Renieri/Mariangela Amenduni
	CRB ICH	Daniela Pistillo

Pubblicazioni conseguite nell'ambito del progetto

Il progetto ha prodotto le seguenti pubblicazioni:

1. Capone F, Lombardini L, Pupella S, Grazzini G, Nanni Costa A, Migliaccio G. Cord blood stem cells banking: a snapshot of the Italian situation. *Transfusion* (inviato per la pubblicazione)
2. Cappelletti V, *et al.* Impact of biospecimens handling on biomarker research in breast cancer. *BMC Cancer* 2009;9:409.
3. Folgiero V, Avetrani P, Bon G, *et al.* Induction of ErbB-3 expression by alpha6b4 integrin contributes to tamoxifen resistance in ERbeta1-negative breast carcinomas. *PLoS ONE* 2008;3:e1592.
4. Mangia A, *et al.* Touch-imprints in tumour tissue bank for confirmation of neoplastic cellularity and DNA extraction. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine* 2008;132:974-8.
5. Paradiso A, Migliaccio G. Rete nazionale biobanche per l'oncologia. In: Moretti F, Guderzo A, Ferrigno A, Belardelli F (Ed). *Programma Straordinario Oncologia 2006. Art 3 "Rete nazionale solidale e collaborazioni internazionali (ISS per ACC)". Consuntivo dell'attività scientifica 2008-2009*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2010. (Rapporti ISTISAN 10/1). p. 43-47.

Presentazioni a Meeting nazionali e/o internazionali:

1. Paradiso A, Pelagio G, Bravo E, Migliaccio G, per conto di Rete Italiana Biobanche Oncologiche (www.ribbo.it). The RIBBO cancer biobank network. In: Parodi B, Visconti P, d'Alessandro F, Ruzzon T, Lombardo C (Ed). *La partecipazione italiana all'infrastruttura europea delle biobanche e delle risorse biomolecolari – BBMRI. Centro Congressi IST, Genova, 28-29 settembre 2010. Libro degli Atti*. p. 56.

RETE NAZIONALE PER STUDI CLINICI E DI STRUTTURE GMP PER LE BIOTERAPIE DEI TUMORI

Giorgio Parmiani (a), Enrico Proietti (b)

(a) *Unità Immuno-Bioterapia Tumori Solidi Fondazione S. Raffaele del Monte Tabor, Milano*

(b) *Dipartimento di Biologia Cellulare e Neuroscienze, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

Riassunto del progetto

Il progetto comprende 5 Work Package (WP) tra loro integrati con la partecipazione di 19 Unità di Ricerca appartenenti a varie istituzioni private e pubbliche italiane interessate alle bioterapie e immunoterapie dei tumori.

Il primo obiettivo era quello della promozione della comunicazione sulle caratteristiche della ricerca traslazionale in campo delle terapie immunobiologiche contro il cancro nel tentativo di aumentare la interazione tra ricercatori di base e ricercatori clinici. Questo obiettivo viene perseguito attraverso l'organizzazione in diverse città italiane (Milano, Genova, Siena, Bari) di workshop e master dedicati. Inoltre si elaboreranno documenti consenso da proporre alla comunità scientifica, alle agenzie regolatorie, alla industria farmaceutica per facilitare e promuovere le terapie immunobiologiche le cui caratteristiche non sempre rientrano in quelle dei farmaci chemioterapici. Il progetto vuole anche favorire l'attivazione di nuovi studi pre-clinici e clinici di *proof-of-concept* promossi dai gruppi coinvolti nel progetto anche in collaborazione con altre reti di gruppi di ricerca quali il NIBIT (Network Italiano di Bioterapie contro il Tumore) e anche network europei come quello tedesco (CIMT) e scandinavo.

Un altro obiettivo è la costruzione di una rete per la standardizzazione di metodiche per il monitoraggio immunobiologico e l'identificazione di bio-marcatori della risposta alla bioterapia dei tumori che ha coinvolto diverse UO nel tentativo di creare una vera rete di laboratori esperti nella valutazione dei meccanismo che sono alla base di risposte o non risposte nei pazienti che ricevono bioterapie. Il progetto valuterà anche il problema dei laboratori GMP necessari nel nostro paese per la terapia biologica cellulare perché molti di questi laboratori devono ancora essere autorizzati e la loro esistenza dipenderà anche dall'incremento delle ricerche cliniche nel settore della immunobioterapia. Infatti l'introduzione della Direttiva europea 2001/20/CE che estende l'obbligatorietà della produzione in GMP anche ai prodotti medicinali sperimentali ha portato ad una riduzione consistente del numero di sperimentazioni basate sulla bioterapia dei tumori. Saranno quindi organizzati, in collaborazione con AIFA, corsi di formazione per giovani operatori e ricercatori coinvolti nella attività di laboratori GMP che comprende anche brevi stage in aziende farmaceutiche/biotecnologiche nazionali ed europee .

Stato generale di sviluppo del progetto e conseguimento dei risultati

Nel terzo anno di attività tutte le UO coinvolte nello sviluppo dei diversi WP hanno contribuito allo sviluppo del progetto e hanno collaborato attivamente alle iniziative di seguito riassunte.

Nel WP1 la UO1 (M. Maio) ha attivato differenti iniziative in collaborazione con altre UO afferenti al Progetto ed al Network Italiano per la Bioterapia dei Tumori (NIBIT): 1) è stato arricchito il sito web del NIBIT (www.nibit.org) attraverso lo sviluppo della versione in lingua inglese; 2) è proseguita la distribuzione a livello nazionale della versione cartacea della Guida "Utilizzo dei vaccini in oncologia" indirizzata ai pazienti affetti da neoplasia ed agli operatori sanitari. La Guida è scaricabile dal sito web del NIBIT; 3) È stato attivato un programma educativo in collaborazione con NIBIT che prevede quattro "Corsi di formazione sulla immunobioterapia dei tumori umani" a valenza regionale, di cui due già tenuti a Milano e Siena, mentre altri due eventi si terranno a Genova e Palermo in dicembre 2010. Insieme alla UO11 (A. Meneguz), la UO12 (P. Ascierto) hanno organizzato a Siena nel giugno 2010 un master con due giornate di lavoro, la prima centrata su anticorpi terapeutici e la seconda sugli aspetti regolatori delle bioterapie.

Dati recenti mostrano come sia indispensabile effettuare un'analisi dei pazienti che ricevono bioterapia per evidenziare quali siano i meccanismi d'azione ed identificare fattori predittivi di risposta clinica. A questo scopo nell'ambito del WP2, la UO3 (G. Parmiani) e UO4 (C. Pintus) è stato organizzato il meeting internazionale su Combined Biotherapy of Cancer a Milano (Istituto San Raffaele) nell'aprile 2010 con la presenza di 135 partecipanti di cui 117 italiani e altri di nazioni europee o USA. Inoltre la UO3 (G. Parmiani) coordinerà il monitoraggio immunologico di studi clinici di terapia con anticorpi immunomodulanti (es. ipilimumab) che vede coinvolti anche altre UO del progetto 2 (UO1, M. Maio; UO5, L. Rivoltini).

Nell'ambito del WP3, si è promossa l'Organizzazione di una Rete Nazionale di centri di eccellenza capaci di monitorare le reattività indotte dal trattamento con bioterapia e/o chemio-immunoterapia in pazienti affetti da melanoma metastatico. Il laboratorio della UO5 (L. Rivoltini) effettuerà la analisi della frequenza e funzione di cellule T regolatorie e mieloidi soppressorie del sangue periferico e del sito tumorale prima ed a diversi tempi del trattamento. Inoltre, insieme alla UO5 (L. Rivoltini), la UO6 (P. Nisticò) ha contribuito a stabilire una rete interistituzionale per definire linee guida per il monitoraggio dei pazienti. Nell'ambito di una migliore analisi funzionale di linfociti, la UO7 (M. Rescigno) ha messo a punto nuove tecniche sia di ristimolazione che di analisi con tetrameri di linfociti circolanti e su cellule T tumore-specifiche in situ su tessuto congelato oltre allo screening di anticorpi per monitoraggio dei pazienti, mentre la UO8 (E. Proietti) ha messo a punto e iniziato ad utilizzare in pazienti con melanoma, trattati con chemio-immunoterapia, un metodo di analisi multiparametrica della risposta immune specifica contro il tumore. L'UO9 (M.P. Protti) ha studiato la natura dell'infiltrato tumorale linfocitario nei pazienti con carcinoma del pancreas con una analisi focalizzata su linfociti CD4Th. Queste analisi condotte da più UO (UO5-UO10) sono integrabili e definiscono un sistema innovativo di monitoraggio dei pazienti in trattamento con immunobioterapie. La UO10 (M. Maio) ha creato una banca biologica con sieri e plasma, prelevati prima del trattamento ed a varie fasi della terapia, di pazienti neoplastici inseriti in diversi protocolli di immunoterapia. Questa seroteca sarà caratterizzata per la presenza ed attività funzionale (*Antibody Dependent Cell mediated Cytotoxicity*, ADCC, *Complement Dependent Cytotoxicity* CDC) di anticorpi circolanti anti-tumore indotti o iper-regolati dal trattamento. È stata effettuata una valutazione iniziale della risposta anticorpale contro antigeni tumorali (*Tumor-Associated Antigen*, TAA) in pazienti con melanoma lungo-sopravvivenenti, sottoposti a immunoterapia, che verrà estesa per definire la potenziale associazione tra risposta umorale anti-TAA e intervallo di sopravvivenza. Sono state attivate le procedure per la messa a punto della tecnologia dei protoarray per valutare la presenza qualitativa e quantitativa di anticorpi circolanti diretti contro circa 9000 proteine umane.

Nell'ambito del WP5 si è continuato a perseguire la realizzazione di una rete di laboratori GMP per la produzione di prodotti medicinali avanzati e la verifica della loro operatività (UO13, G. Migliaccio; e UO14, M.C. Galli). Con la cooperazione delle strutture di riferimento, già identificate nel corso dell'anno precedente, è in corso di valutazione la standardizzazione dei metodi e procedure

di questi laboratori. La UO15 (R. Ridolfi) ha delineato una possibile rete di Cell Factories a livello italiano tenendo conto della distribuzione disomogenea delle strutture sul territorio nazionale. Tale informazione consentirebbe una ottimizzazione dei costi, e una condivisione delle attività di convalida per conferire un requisito di qualità alle strutture stesse. Il modello “Hub and Spoke” potrebbe risultare il sistema di gestione più accettabile. Si prevede di discutere questi dati in una ultima riunione Operativa da organizzare nella primavera del 2011 per giungere ad un disegno conclusivo dell’ipotesi di rete. UO17 (P. Rebulla). Durante il terzo anno si sono valutati tempi e temperature di trasporto di sacche di sangue placentare prelevate presso sale parto in Lombardia e nella provincia di Trento e consegnate alla Milano Cord Blood Bank. I risultati sono di grande utilità pratica e verranno utilizzati per documentare la qualità dei trasporti ed eventualmente migliorare la procedura. La UO18 (R. Maccario) ha definito il programma di controllo qualità per valutare il rischio della trasformazione neoplastica e cioè morfologia e tasso di replicazione, immuno-fenotipo, cariotipo e CGH array, telomerasi. UO19 (C. Rozera) ha studiato l’induzione di apoptosi da UV a diversi tempi di esposizione per valutare sicurezza e qualità della inattivazione fisica di cellule di melanomi umani. Si è potuto così dimostrare che a 48 ore nessuna cellula tumorale sopravvive.

L’insieme delle attività condotte nel terzo anno del progetto dalle diverse UO costituisce un importante crescita delle conoscenze scientifiche e organizzative nell’area delle terapie biologiche dei tumori e pone la ricerca italiana del settore a livello delle altre nazioni europee ed extra-europee.

Articolazione del progetto

L’articolazione del progetto è descritta nella Tabella 1.

Tabella 1. Articolazione della Rete nazionale per studi clinici e di strutture GMP per le bioterapie dei tumori

Proponente (<i>Cordinatori della rete</i>)	Ente di appartenenza dell’Unità Operativa	Responsabile scientifico dell’Unità Operativa
ISS (<i>Enrico Proietti</i>) HSR (<i>Giorgio Parmiani</i>)	UO1 - Azienda Ospedaliera Universitaria Senese, Siena	Michele Maio
	UO2 - ISS	Maria Ferrantini
	UO3 - HSR	Giorgio Parmiani
	UO4 - AIFA	Cristina Pintus
	UO5 - INT	Licia Rivoltini
	UO6 - IRE	Paola Nisticò
	UO7 - IEO	Maria Rescigno
	UO8 - ISS	Enrico Proietti
	UO9 - HSR	Maria Pia Protti
	UO10 - CRO	Michele Maio
	UO11 - ISS	Annarita Meneguz
	UO12 - Pascale	Paolo Ascierio
	UO13 - ISS	Giovanni Migliaccio
	UO14 - ISS	Maria Cristina Galli
	UO15 - IRST	Ruggero Ridolfi
	UO16 - ISTGE	Barbara Parodi
	UO17 - Fondazione IRCCS Ospedale Maggiore Policlinico, Mangiagalli e Regina Elena	Paolo Rebulla
	UO18 - San Matteo	Rita Maccario
	UO19 - ISS	Carmen Rozera

Pubblicazioni conseguite nell'ambito del progetto

Il progetto ha prodotto le seguenti pubblicazioni:

1. Avanzini MA, Bernardo ME, Cometa AM, Perotti C, Zaffaroni N, Novara F, Visai L, Moretta A, Del Fante C, Villa R, Ball LM, Fibbe WE, Maccario R, Locatelli F. Generation of mesenchymal stromal cells in the presence of platelet lysate: a phenotypic and functional comparison of umbilical cord blood-and bone marrow-derived progenitors. *Haematologica* 2009;94:1649-60.
2. Bernardo ME, Zaffaroni N, Novara F, *et al.* Human bone marrow derived mesenchymal stem cells do not undergo transformation after long-term *in vitro* culture and do not exhibit telomere maintenance mechanisms. *Cancer Res* 2007;67:9142.
3. Butterfield L, *et al.* Recommendations from the iSBTc/FDA/NCI Workshop on Immunotherapy Biomarkers. *J Transl Med* (in corso di stampa).
4. Camisaschi C, Casati C, Rini F, *et al.* LAG-3 expression defines a subset of CD4(+)CD25(high)Foxp3(+) regulatory T cells that are expanded at tumor sites. *J Immunol* 2010;184:6545-51.
5. Cappello P, Tomaino B, Chiarle R, *et al.* An integrated humoral and cellular response is elicited in pancreatic cancer by alpha-enolase, a novel pancreatic ductal adenocarcinoma-associated antigen. *Int J Cancer* 2009;125:639-48.
6. Comoli P, Basso S, Zecca M, *et al.* Preemptive therapy of EBV-related lymphoproliferative disease after pediatric haploidentical stem cell transplantation. *Am J Transplant* 2007;7:1648.
7. Daudt L, Maccario R, Locatelli F, *et al.* Interleukin-15 favors the expansion of central memory CD8+ T cells in *ex vivo* generated, antileukemia human cytotoxic T lymphocyte lines. *J Immunother* 2008;31:385.
8. Di Giacomo AM, Danielli R, Guidoboni M, Calabrò L, Carlucci D, Miracco C, Volterrani L, Mazzei MA, Biagioli M, Altomonte M, Maio M. Therapeutic efficacy of ipilimumab, an anti-CTLA-4 monoclonal antibody, in patients with metastatic melanoma unresponsive to prior systemic treatments: clinical and immunological evidence from three patient cases. *Cancer Immunol Immunother* 2009;58:1297-306.
9. Fox BA, Schendel D, Butterfield L, Masucci G, Kawakami Y, Shiku H, Grizzi F, Pawelec G, Characiejus D, Nicolini A, Maccalli C, *et al.* Defining the critical hurdles in cancer immunotherapy. *J Transl Med* (in corso di stampa)
10. Huber V, De Milito A, Harguindey S, *et al.* Proton dynamics in cancer. *J Transl Med* 2010;8:57.
11. Lattanzi L, Rozera C, Marescotti D, *et al.* IFN-alfa boosts epitope cross-presentation by dendritic cells via modulation of proteasome activity. *Immunobiology* 2010 Oct 21 (online prima della stampa)
12. Logozzi M, De Milito A, Lugini L, Maio M, Rivoltini L, Fais S. High levels of exosomes expressing CD63 and caveolin-1 in plasma of melanoma patients. *PLoS One* 2009;4:e5219.
13. Maio M, Fonsatti E, Burigo A, Parmiani G. The Italian Network for Tumor Biotherapy (NIBIT). Sharing visions, goals and efforts at European level. *Tumori* 2008;94:179-81.
14. Maio M, Nicolay HJ, Ascierto PA, Belardelli F, Camerini R, Colombo MP, Queirolo P, Ridolfi R, Russo V, Fonsatti E, Parmiani G; NIBIT. Seventh annual meeting of the Italian Network for Tumor Biotherapy (NIBIT), Siena, 1-3 October 2009. *Cancer Immunol Immunother* 2010;59:1895-901.
15. Maio M, Nicolay HJ, Ascierto PA, Belardelli F, Camerini R, Colombo MP, Queirolo P, Ridolfi R, Russo V, Fonsatti E, Parmiani G; NIBIT. Sixth annual meeting of the Italian network for

- tumor biotherapy (NIBIT), Siena, 16-18 October 2008. *Cancer Immunol Immunother* 2010;59:963-9.
16. Maio M, Nicolay HJM, Ascierto P, Belardelli F, Camerini R, Colombo MP, Queirolo P, Ridolfi R, Russo V, Anzalone L, Fonsatti E, Parmiani G. The Italian Network for Tumor Biotherapy (NIBIT): getting together to push the field forward. *Journal of Translational Medicine* 2008;6:8.
 17. Montagna D, Maccario R, Locatelli F. Expansion of antileukaemia CTL lines and clones for adoptive cell therapy in paediatric patients given allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Int J Immunogenet* 2008;35:389.
 18. Nisticò P, Capone I, Palermo B, *et al.* Chemotherapy enhances vaccine-induced antitumor immunity in melanoma patients. *Int J Cancer* 2009;124:130-9.
 19. Palermo B, Del Bello D, Sottini A, Serana F, Ghidini C, Gualtieri N, Ferraresi V, Catricalà C, Belardelli F, Proietti E, Natali PG, Imberti L, Nisticò P. Dacarbazine treatment before peptide vaccination enlarges T-cell repertoire diversity of melan-a-specific, tumor-reactive CTL in melanoma patients. *Cancer Research* 2010;70:7084-92.
 20. Saccheri F, Pozzi C, Avogadri F, *et al.* Bacteria-induced gap junctions in tumors favor antigen cross-presentation and antitumor immunity. *Sci Transl Med* 2010;2:44ra57.
 21. Serana F, Sottini A, Caimi L, *et al.* Identification of a public CDR3 motif and a biased utilization of T-cell receptor V beta and J beta chains in HLA-A2/Melan-A-specific T-cell clonotypes of melanoma patients. *J Transl Med* 2009;24:7:21.
 22. Tassi E, Gavazzi F, Albarello L, Senyukov V, Longhi R, Dellabona P, Doglioni C, Braga M, Di Carlo V, Protti MP. Carcinoembryonic antigen-specific but not antiviral CD4+ T cell immunity is impaired in pancreatic carcinoma patients. *J Immunology* 2008;181:6595-603.
 23. Tomaino B, Cappello P, Capello M, *et al.* Circulating autoantibodies to Phosphorylated alpha-Enolase are a Hallmark of pancreatic. *Cancer J Proteome Res* 2011;10:105-12.
 24. Turin I, Pedrazzoli P, Tullio C, *et al.* GMP production of anti-tumor cytotoxic T-cell lines for adoptive T-cell therapy in patients with solid neoplasia. *Cytotherapy* 2007;9:499.

RETE NAZIONALE “PROGETTO START”: STATO DELL’ARTE IN ONCOLOGIA

Lisa Licitra (a), Ruggero De Maria (b)

(a) *Struttura semplice Trattamento medico dei tumori della testa e del collo – Oncologia medica 3, Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori, Milano*

(b) *Dipartimento di Ematologia, Oncologia e Medicina Molecolare, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

Riassunto del Progetto

START, acronimo di “STate of the ART oncology in Europe”, è un programma di Alleanza Contro il Cancro per la definizione, diffusione e aggiornamento dello stato dell’arte del trattamento oncologico in una prospettiva europea.

Il prodotto finale conterà di altrettanti capitoli quanti sono i tumori maligni. Questi capitoli sono peraltro da aggiornare sistematicamente, il completamento dell’opera si pone in una prospettiva a lungo termine, ma i capitoli progressivamente posti in linea corrispondono a requisiti di qualità tali da renderli immediatamente utilizzabili.

START è uno strumento “basato sull’evidenza”, cioè formulato in modo da esplicitare la qualità dell’evidenza a supporto delle raccomandazioni cliniche più significative.

START è nato e continua ad essere un progetto incentrato sullo stato dell’arte del trattamento oncologico in una prospettiva europea.

Alla sua realizzazione hanno partecipato finora esperti di tutti i Paesi europei. D’altra parte, la sua struttura organizzativa è sempre stata e continuerà a maggior ragione ad essere basata in Italia, appunto nell’ambito di un programma italiano come Alleanza Contro il Cancro.

Gli *editor* di START si suddividono i capitoli dell’opera, ripartiti per gruppi omogenei di neoplasie o di argomenti. Ciascun *editor*, per i capitoli di propria competenza, ha compiti di coordinamento della produzione degli stessi e di mantenimento dell’aderenza ai requisiti metodologici del Progetto. Per ogni gruppo omogeneo di capitoli si potrà anche individuare un *guest editor*, necessariamente europeo (la quota italiana deve essere commisurata con le altre quote nazionali), con la responsabilità di realizzare il lavoro di contenuto in collaborazione con il rispettivo *editor* interno. L’*editor* interno e il *guest editor* sceglieranno i *contributor* europei (autori e revisori) per la redazione dei contenuti del capitolo.

Il Progetto porrà a loro disposizione delle figure professionali (oncologi, *medical writer*, revisori linguistici, ecc.) per la realizzazione operativa dei capitoli. La realizzazione operativa comprende sia la redazione dei nuovi capitoli, sia l’aggiornamento sistematico (almeno annuale) di quelli già in linea. I capitoli potranno originare anche da eventi di consenso. Agli *editor* potranno affiancarsi *contributor* espressi dalle società medico-scientifiche europee e/o da altri progetti europei che abbiano accettato di collaborare.

Stato generale di sviluppo del progetto e conseguimento dei risultati

In ottemperanza a quanto previsto dal contratto, negli ultimi 12 mesi l’attività del Progetto START si è articolata come mostrato in Tabella 1.

Tabella 1. Articolazione della Rete nazionale “Progetto START” e delle attività negli ultimi 12 mesi

Unità operativa (Responsabile)	Area professionale		Area pubblica
	Capitoli in lingua inglese (nuovi – aggiornati)	Capitoli in lingua italiana (nuovi – aggiornati)	Sezioni Informative (nuove – aggiornate)
UO1 INT (Lisa Licitra)	Medulloblastoma Neuroblastoma Wilm's tumors Cervix Vulva Nutrizione* Tumori ossei rari * Terapia del dolore	Microcitoma Ghiand. salivari Medulloblastoma* Neuroblastoma* Tumore di Wilms * Terapia del dolore	Colangioca Esofago Linfomi Non Hodgkin Istiocitosi Emergenze Metaboliche
	ALL AML Anus Antiemetics Cholangioca CUP Endometr. Esophagus Istiocytosis Metab. emerg NSCLC Ovary Pancreas PCN Saliv. glands	AML Ano Colangioca CUP Esofago Istiocitosi Pancreas Terapia antiem	
UO2 ISS (Ruggero De Maria)	Thyroid*		
UO3 CRO (Umberto Tirelli)	AIDS-related tumours (x2)*		
UO4 ISTGE (Paolo Pronzato)	Hypopharynx Oral cavity		
UO5 IEO (Filippo De Braud)	Bladder Colon Liver Melanoma Prostate Rectus Stomach*	Melanoma Prostata Vescica	Melanoma
		Leuc. Linf. Cron. Linfomi NH(x6)* Tumori cerebrali (x3)*	Linfomi non Hodgkin Malattia di Hodgkin Tumori cerebrali*
UO6 HSR (Andres Ferreri, Michele Reni)	NH lymphomas (x6)* Brain tumors (x3)*	Tumori cerebrali (x3)*	
UO7 IOR (Piero Picci, Stefano Ferrari)	Chondrosa Osteosa Ewing's sa		
UO8 IDI (Giandomenico Russo)	Basal cell* Sezary sindr. B-cell lymph.		

* Capitoli in fase di pubblicazione

Tale attività si è suddivisa in:

- Produzione di nuovi capitoli (Area Professionale).
- Aggiornamento dei capitoli già disponibili on-line (Area Professionale e Area Pubblica).
- Traduzione italiana dei capitoli redatti in lingua inglese (Area Professionale).
- Adattamento dei capitoli, in lingua italiana, per il pubblico (Area Pubblica).

In qualità di capofila e coordinatore del progetto START, l'UO1 si è anche occupata di coordinare tutte le attività di tutti i Contributor (Editor, Autori, Revisori) impegnati nel lavoro di realizzazione e aggiornamento dei capitoli affidati alle 8 UO totali coinvolte nel Progetto, come riportato nella sottostante tabella riassuntiva nella quale sono citati in dettaglio i capitoli realizzati e aggiornati dall'UO START (Tabella 1).

I capitoli di nuova produzione sono stati inviati ad un medical writer per la revisione, successivamente tradotti in italiano e poi semplificati e pubblicati nell'area dedicata al pubblico di non esperti.

Essendo stata pubblicata, nel corso di quest'anno, la nuova versione della classificazione TNM si è provveduto ad individuare i capitoli che hanno subito dei sostanziali cambiamenti e quindi si è dato mandato per aggiornare i capitoli [Ano, Colangiocarcinoma, Vescica, Endometrio, Esofago, Fegato, Stomaco, GIST, Rene, Rinofaringe, Polmone (non microcitoma), Orofaringe, Pene, Prostata, Retto e Tiroide]. Nei primi mesi del prossimo anno verranno messi online.

Si è predisposto il lavoro per il prossimo anno prevedendo di aggiornare tutti i capitoli dei pazienti in modo tale che ci sia un'esatta corrispondenza tra l'area pubblica e l'area professionale.

Come previsto, dopo la pubblicazione online, i capitoli disponibili sono stati inviati a Elsevier per la pubblicazione.

Pubblicazioni conseguite nell'ambito del progetto

Il progetto ha prodotto le seguenti pubblicazioni:

1. Brandes AA, Franceschi E, Tosoni A, Reni M, Gatta G, Vecht C, Kortmann RD. Adult neuroectodermal tumors of posterior fossa (medulloblastoma) and of supratentorial sites (stPNET). *Crit Rev Oncol Hematol* 2009;71:165-79.
2. Brandes AA, Tosoni A, Franceschi E, Reni M, Gatta G, Vecht C. Glioblastoma in adults. *Crit Rev Oncol Hematol* 2008;67:139-52.
3. Catalano V, Labianca R, Beretta GD, Gatta G, de BF, Van CE. Gastric cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 2009;71:127-64.
4. Ferreri AJ, Montalbán C. Primary diffuse large B-cell lymphoma of the stomach. *Crit Rev Oncol Hematol* 2007;63:65-71.
5. Ferreri AJ, Reni M. Primary central nervous system lymphoma. *Crit Rev Oncol Hematol* 2007;63:257-68.
6. Ferreri AJ, Zinzani PL, Govi S, Pileri SA. Enteropathy-associated T-cell lymphoma. *Crit Rev Oncol Hematol* 2010 Jul 22 (online prima della stampa)
7. Ferreri AJ, Zucca E. Marginal-zone lymphoma. *Crit Rev Oncol Hematol* 2007;63:245-56.
8. Ghia P, Ferreri AJ, Caligaris-Cappio F. Chronic lymphocytic leukemia. *Crit Rev Oncol Hematol* 2007;64:234-46.

9. Iannitto E, Ferreri AJ, Minardi V, Tripodo C, Kreipe HH. Angioimmunoblastic T-cell lymphoma. *Crit Rev Oncol Hematol* 2008;68(3):264-71.
10. Marosi C, Hassler M, Roessler K, Reni M, Sant M, Mazza E, *et al.* Meningioma. *Crit Rev Oncol Hematol* 2008;67:153-71.
11. Martelli M, Ferreri AJ, Johnson P. Primary mediastinal large B-cell lymphoma. *Crit Rev Oncol Hematol* 2008;68(3):256-63.
12. Mosconi S, Beretta GD, Labianca R, Zampino MG, Gatta G, Heinemann V. Cholangiocarcinoma. *Crit Rev Oncol Hematol* 2009;69:259-70.
13. Pavlidis N, Fizazi K. Carcinoma of unknown primary (CUP). *Crit Rev Oncol Hematol* 2009;69(3):271-8.
14. Reni M, Gatta G, Mazza E, Vecht C. Ependymoma. *Crit Rev Oncol Hematol* 2007;63:81-9.
15. Ripamonti C, Bandieri E. Pain therapy. *Crit Rev Oncol Hematol* 2009;70:145-59.
16. Savage KJ, Ferreri AJ, Zinzani PL, Pileri SA. Peripheral T-cell lymphoma - Not otherwise specified. *Crit Rev Oncol Hematol* 2010, Aug 10 (online prima della stampa)
17. Stupp R, Reni M, Gatta G, Mazza E, Vecht C. Anaplastic astrocytoma in adults. *Crit Rev Oncol Hematol* 2007;63:72-80.
18. Van den Bent MJ, Reni M, Gatta G, Vecht C. Oligodendroglioma. *Crit Rev Oncol Hematol* 2008;66:262-72.
19. Vitolo U, Ferreri AJ, Montoto S. Follicular lymphomas. *Crit Rev Oncol Hematol* 2008;66:248-61.
20. Vitolo U, Ferreri AJ, Montoto S. Lymphoplasmacytic lymphoma-Waldenstrom's macroglobulinemia. *Crit Rev Oncol Hematol* 2008;67:172-85.
21. Vitolo U, Ferreri AJ, Zucca E. Primary testicular lymphoma. *Crit Rev Oncol Hematol* 2008;65:183-9.
22. Zampino MG, Labianca R, Beretta GD, Magni E, Gatta G, Leonardi MC, *et al.* Rectal cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 2009;70:160-182.
23. Zinzani PL, Ferreri AJ, Cerroni L. Mycosis fungoides. *Crit Rev Oncol Hematol* 2008;65:172-82.

RETE NAZIONALE DEI REGISTRI TUMORI: INDICATORI E CONTROLLO DEL CANCRO IN ITALIA

Riccardo Capocaccia (a), Marina Vercelli (b), Eugenio Paci (c), Piero Picci (d)

(a) *Centro Nazionale di Epidemiologia, Sorveglianza e Promozione della Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(b) *Struttura semplice Epidemiologia Descrittiva, Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro, Genova*

(c) *Associazione Italiana Registri Tumori*

(d) *Dipartimento di Oncologia Muscoloscheletrica, Istituti Ortopedici Rizzoli, Bologna*

Riassunto del Progetto

Il presente progetto ha come scopo principale quello di rafforzare la connessione tra i registri tumori e di favorire la disponibilità e l'uso dei dati dei Registri Tumori (RT) per la valutazione delle attività del Sistema Sanitario Nazionale sul versante diagnostico-terapeutico, dal punto di vista sia dell'efficacia che dell'equità del servizio offerto ai pazienti oncologici. Tale obiettivo può essere suddiviso in cinque punti.

- Rafforzamento dell'integrazione dei diversi registri tumori italiani attraverso l'implementazione di un database nazionale dei dati di incidenza e sopravvivenza su base di popolazione.
- Potenziamento dei dati dei registri tumori attinenti alla diagnosi (procedure diagnostiche, classificazioni biologiche, stadiazione) ed al trattamento; standardizzazione dell'uso delle fonti informative di base (SDO, referti informatizzati di Anatomia patologica, fonti anagrafiche informatizzate, registri di mortalità, altri data-base regionali utili).
- Stima degli indicatori utili a promuovere attività di controllo della patologia oncologica; proiezione a livello nazionale degli indicatori epidemiologici prodotti dai registri tumori; stima degli indicatori oncologici su base di popolazione richiesti dalla Commissione Europea; diffusione degli indicatori attraverso strumenti informativi indirizzati a livello nazionale alla popolazione generale.
- Valutazione dell'ampiezza delle disuguaglianze nella diagnosi e nella cura del cancro a livello territoriale, di gruppi sociali, di fasce di età; individuazione dei determinanti e sorveglianza degli andamenti temporali.
- Integrazione dei registri degli istituti oncologici con i dati dei registri tumori per costruire la base informativa delle reti oncologiche regionali e nazionale.

L'attività vede una stretta collaborazione tra l'Istituto Superiore di Sanità (ISS) e la rete dei Registri Tumori Italiani che si riconosce nell'Associazione Italiana dei Registri Tumori (AIRtum). Il progetto intende inoltre coinvolgere nella rete collaborativa gli Istituti oncologici di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico (IRCCS), le reti oncologiche regionali già avviate (Piemonte, Toscana, Lombardia, ecc.) ed altri progetti in corso a livello internazionale (EUROCARE, EUROPREVAL, EUROCHIP). Il coordinamento nazionale delle attività necessarie per la realizzazione dei cinque obiettivi sopra indicati è suddiviso tra cinque unità operative (UO1-UO5), in corrispondenza dei cinque obiettivi sopra elencati. Il coordinamento generale è affidato all'UO1 (responsabile ISS).

Stato generale di sviluppo del progetto e conseguimento dei risultati

Al completamento del terzo anno di attività, la maggior parte degli obiettivi del progetto sono in fase di raggiungimento.

È stata completata l'infrastruttura informatica della banca dati centralizzata dei dati dei registri tumori. L'effettiva attivazione di questa risorsa sarà regolata da un accordo quadro tra ISS ed AIRTUM che, contestualmente all'impegno dell'ISS nella gestione informatica della banca dati, preveda un suo ruolo attivo nella pianificazione dell'impiego dei dati della rete dei registri per scopi di sanità pubblica. Il testo dell'accordo è in fase avanzata di stesura e condivisione da parte di tutte le istituzioni coinvolte. Ai fini di una soddisfacente soluzione del problema dell'uso dei dati della rete dei registri, sarebbe però importante che fosse finalmente varata una legge che istituisca formalmente i registri tumori e ne regoli l'attività in rapporto alle norme che regolano la tutela dei dati sensibili, consentendo loro di ottenere e gestire dati nominativi individuali e determinando al contempo obblighi e responsabilità nella salvaguardia della riservatezza dei dati stessi.

Sono stati raccolti i dati dello studio campionario volto a valutare la possibilità di estendere la rilevazione dei registri alle variabili di stadio e trattamento dei pazienti oncologici. Tale studio è stato fatto in coordinamento con lo studio "EUROCARE - Pattern of care". Nel complesso, i due progetti hanno raccolto con un medesimo protocollo i dati relativi a 15.400 casi (7.000 tumori della mammella, 4.500 del colon-retto, 2.400 del polmone, 1.000 melanomi e 500 linfomi). Una prima analisi ha mostrato un buon livello di completezza dei dati raccolti. Nei prossimi mesi sarà completata l'analisi dei dati e sarà prodotto un rapporto con indicazioni operative e valutazione di priorità per l'estensione sistematica della raccolta dei dati sul percorso diagnostico-terapeutico dei pazienti oncologici.

Sono state completate le stime regionali e nazionali per i principali tumori e per l'insieme dei tumori maligni. Per il tumore della prostata, si è per la prima volta evidenziato in molte regioni italiane un arresto, ed in qualche caso un'inversione di tendenza, della crescita dell'incidenza dovuta alla diffusione del test PSA. È stata quindi rivista la procedura di stima e sono state corrette al ribasso le proiezioni temporali precedentemente elaborate, soprattutto nelle regioni del centro-nord. La mortalità viene stimata in leggero calo negli anni recenti, mentre le tendenze dell'incidenza sono molto variabili per regione. Il completamento delle stime della prostata ha permesso di elaborare anche quelle per tutti i tumori, che vengono ottenute per somma delle sedi più frequenti. Il nuovo set di stime e proiezioni sarà pubblicato in un numero monografico della rivista "Tumori" e sarà messo in rete nel sito www.tumori.net.

È stata completata l'analisi della sopravvivenza dei pazienti oncologici in relazione alle variabili socio-economiche, la cui associazione è stata studiata sulla base di modelli ecologici sia a livello nazionale che a livello provinciale. Sono stati redatti due articoli che verranno sottomessi a riviste internazionali.

Prosegue la collaborazione con ricercatori degli IRCCS per valutare la possibilità di coordinare ed analizzare congiuntamente i dati delle serie cliniche con quelli dei registri.

Articolazione del progetto

L'articolazione del progetto è descritta nella Tabella 1.

**Tabella 1. Articolazione della Rete nazionale dei registri tumori:
indicatori e controllo del cancro in Italia**

Proponente <i>(Coordinatori della rete)</i>	Ente di appartenenza dell'Unità Operativa	Responsabile scientifico dell'Unità Operativa
ISS (<i>Riccardo Capocaccia</i>)	ISS	Riccardo Capocaccia
ISTGE (<i>Marina Vercelli</i>)	AIRTUM	Massimo Federico
AIRTUM (<i>Eugenio Paci</i>)	INT	Gemma Gatta
IOR (<i>Piero Picci</i>)	ISTGE, Registro Tumori Regione Liguria	Marina Vercelli
	IRST	Fabio Falcini

RETE NAZIONALE SU MODELLI SPERIMENTALI E FACILITIES ANIMALI

Gennaro Citro (a), Stefano Fais (b)

(a) *Stabilimento Allevatore Fornitore Utilizzatore, Istituto Regina Elena, Roma*

(b) *Dipartimento del Farmaco, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

Riassunto del Progetto

Il panorama italiano è spesso caratterizzato dalla frammentazione delle attività di gruppi dedicati alla ricerca preclinica che utilizzano modelli sia *in vitro* che *in vivo*, per testare la efficacia di nuove strategie terapeutiche anti-tumorali. Ciò porta ad un evidente spreco di risorse umane ed economiche, nonché ad una caduta di competitività al livello internazionale. È vero infatti che spesso identici modelli sperimentali sono presenti in più strutture di ricerca. Ciò è particolarmente vero per i modelli animali.

La sperimentazione pre-clinica in ambito oncologico si avvale di diversi modelli *in vivo* basati per lo più sull'uso di topi. I tre principali gruppi sono basati sull'uso di:

1. *modelli singenici*, in cui si segue la crescita di tumori spontanei nei topi di vari ceppi;
2. *modelli di topi singenici transgenici o knock-out*, per determinati geni e proteine coinvolti nella tumorigenesi;
3. *modelli xenochimerici*, nei quali cellule di tumore umano vengono inoculate in topi immunodeficienti (SCID o Nude) dove crescono sotto forma di tumore solido.

Un centro di sperimentazione pre-clinica in oncologia dovrebbe contenere almeno questi modelli per essere competitivo. A ciò si possono aggiungere i primati non umani, ormai considerati di unico riferimento per la sperimentazione pre-clinica di farmaci biotecnologici. Sul territorio nazionale i centri di questo tipo sono a tutt'oggi veramente pochi. Risulta di vitale importanza quindi definire e consolidare una rete scientifica e tecnologica nazionale proiettata a livello internazionale e orientata alla ricerca traslazionale in oncologia.

Una rete che coordini i centri nei quali sono già presenti modelli sperimentali per studi pre-clinici, in particolare modelli animali, consentirà a enti pubblici e privati un uso più razionale e proficuo di tali modelli. Inoltre, il coordinamento di tale rete, e quindi la disponibilità di più modelli sperimentali, potrà consentire il convergere di nuovi finanziamenti alle singole strutture al fine di implementare, incrementare e migliorare i modelli esistenti e consentire un maggiore accesso ai progetti di ricerca europei (es. FP7) che richiedono l'utilizzo di un set di modelli sperimentali in oncologia.

Nell'ambito della rete sarà possibile anche stabilire delle linee guida, finora inesistenti, per l'utilizzo razionale dei modelli preclinici in oncologia.

La fruizione e l'ottimizzazione di tali strutture nell'ambito di una rete nazionale sarà inoltre affiancata da corsi di formazione annuali per personale addetto alla messa a punto ed all'uso sperimentale dei modelli animali che consentiranno uno scambio continuo di informazione fra i vari gruppi e la creazione di nuova massa critica in questo settore basilare della ricerca oncologica.

Fine importante di questa rete nazionale su modelli pre-clinici in ambito oncologico sarà di poter consentire la partecipazione moderna e competitiva ad infrastrutture europee già previste (es. EATRIS: European Advanced Translational Research Infrastructure in Medicine).

Per riassumere gli obiettivi principali di questa rete saranno:

1. creare una nuova generazione di tecnici e ricercatori in grado di assicurare affidabilità e continuità alle attività svolte dai centri presenti nella rete, attraverso corsi annuali di formazione teorico-pratica;
2. migliorare e rinnovare i modelli pre-clinici sia *in vitro* che *in vivo*, allo scopo di ottenere modelli che siano quanto più possibile vicini ai tumori presenti nei pazienti;
3. stabilire il livello di adeguatezza dei modelli nell'ambito dell'utilizzo pre-clinico, ed i costi-benefici dell'utilizzo dei vari modelli;
4. attivare connessioni strategiche operative con il mondo dell'industria biomedica in modo da affrontare e possibilmente risolvere le problematiche più attuali e di maggior rilievo;
5. prevedere l'uso, lo sviluppo e la diffusione di nuove strumentazioni biomediche sempre più all'avanguardia e la condivisione delle stesse.

Stato generale di sviluppo del progetto e conseguimento dei risultati

In linea con il progetto iniziale, tutte le unità operative hanno continuato a generare sia modelli animali che metodologie nuove finalizzate alla lotta contro il cancro. I risultati di tali attività, oltre che essere riportati nei lavori pubblicati, saranno inseriti nell'area dedicata nel sito allestito nel corso del primo anno di attività (www.iss.it/onet). L'accesso al sito, come già descritto, ha il duplice scopo di mettere a disposizione di chiunque informazioni sulle attività aggiornate della rete e di rendere semplice qualsiasi procedura di comunicazione/collaborazione tra le UO che hanno aderito alla costituzione della rete. L'informazione dell'esistenza della rete, inoltre, dà la possibilità ad altre strutture di aderire ed ampliare quindi la potenzialità di disponibilità dei modelli sperimentali pre-clinici in oncologia. Grazie alla professionalità e competenze del personale informatico dell'ISS il sito è stato strutturato in diverse sezioni tra cui un archivio, in continuo aggiornamento, dove è possibile venire a conoscenza di: a) tutti i modelli sperimentali disponibili, sia cellulari che animali, presenti nelle strutture della rete e quindi sul territorio nazionale; b) tutte le *facilities* disponibili nell'ambito della sperimentazione pre-clinica in ambito oncologico, l'ubicazione delle stesse, con i nomi dei ricercatori responsabili a cui far riferimento. Tale attività ha permesso l'uso di uno strumento totalmente nuovo, che mette a disposizione di sperimentatori pubblici e privati un archivio dei modelli pre-clinica in oncologia presenti in Italia. Fra le novità di maggior interesse emerse nell'ultimo anno, vi sono i modelli per lo studio delle cellule staminali tumorali. Di rilievo sono le informazioni circa il ruolo di p21 nel compartimento staminale del sistema ematopoietico e del Ca mammario. L'impiego di topi p21-/- incrociati con topi MMTV-ErbB2 daranno ulteriori informazioni sul ruolo di p21 sia nella tumori genesi che sulla crescita della cellula staminale. Un altro dato di interesse è l'evidenza del ruolo svolto dal sistema dell'Insulin like growth factor nella metastatizzazione epatica dei sarcomi. Su tale tumore è stato anche dimostrato come un inibitore specifico di PI3K ed mTOR inibisce la proliferazione cellulare *in vitro* ed *in vivo*, associato alla vincristina presenta efficacia antitumorale sul sarcoma di Ewing TC71 in xenotrapianti. Lo stesso inibitore, somministrato in associazione con convenzionali antitumorali, ha ridotto significativamente il potenziale metastatico del Rbdomiosarcoma. Per quanto riguarda lo studio dei meccanismi molecolari che legano il controllo della proliferazione cellulare alla regolazione del movimento e della invasione tumorale è stato dimostrato che due proteine (p27KIP1 e stathmin1), sono coinvolte anche nel controllo della motilità cellulare, nel passaggio da morfologia allungata ad ameboide. I livelli relativi di p27 e stathmin all'interno della cellula sono in grado di influenzare oltre che la proliferazione anche il movimento con p27 che funge da inibitore e stathmin da stimolatore della migrazione e

dell'invasione di cellule normali e tumorali. Inoltre, sono stati valutati anche l'efficacia terapeutica di associazioni farmacologiche di nuove molecole con farmaci già in uso clinico.

Mediante un trattamento combinato della molecola pro-apoptotica modificata EMILIN2 con Bevacizumab si sono ottenute regressioni complete di sarcomi nel topo nudo.

Nell'ambito delle nuove strategie terapeutiche sono state eseguite somministrazioni mediante elettrochemioterapia per incrementare l'indice terapeutico ed i risultati sono in corso di valutazione. Per quanto riguarda gli studi sul ruolo dei linfociti T nella risposta antitumorale, si sono implementate le tipologie di modelli sperimentali. Fra questi il modello umanizzato di crescita di leucemie mieloidi acute umane in topi immunodeficienti, utilizzando sia NOD/scid che NSG (privi non solo di linfociti T e B ma anche di cellule NK, a causa della mutazione della catena gamma del CD132). Il modello NSG rappresenta un idoneo strumento per validare l'approccio bio-terapeutico combinato alla leucemia mieloide acuta basato sul bersagliamento delle molecole CD1, la cui espressione è ristretta ai blasti leucemici e a cellule mielo-monocitiche differenziate normali. La rete ha inoltre dimostrato capacità aggregante con reti locali ed istituzioni di ricerca, non dotate di animal facility, come avvenuto per l'unità operativa dell'Istituto Pascale di Napoli, in grado di stipulare convenzioni con il Dipartimento di Medicina Sperimentale della Facoltà di Medicina e Chirurgia dell'Università degli studi "Maegna Graecia" in Catanzaro; con il Dipartimento DIFARMA della Facoltà di Farmacia dell'Università degli studi di Salerno, in Fisciano; con il Centro di Endocrinologia Oncologica Sperimentale del CNR, in Napoli. Infine, l'introduzione nella rete di un nuovo approccio per la valutazione *in vivo* di nuove strategie anti-tumorali realizzato l'anno scorso su modelli di tumore spontaneo in animali da compagnia quali cani e gatti ha avuto ulteriori sviluppi per nuovi approcci diagnostici e terapeutici. I cani e gatti possono essere considerati singoli pazienti, in quanto la patologia è simile a quella dell'uomo e viene curata con protocolli terapeutici identici. Inoltre, gli animali da compagnia costituiscono "spie biologiche" dell'ambiente nel quale convivono con la specie umana, avendo spesso stili di vita controllati (alimentazione, no fumo attivo, no alcool ecc.). In conclusione la rete sui modelli pre-clinici in oncologia è stata costituita ed è operativa sul territorio nazionale grazie al programma 2 di ACC. Lo sforzo da tutti prodotto in questi anni ha sicuramente fornito un nuovo strumento di ampio utilizzo nella ricerca pre-clinica su nuovi approcci diagnostici e terapeutici nei confronti dei tumori.

Articolazione del progetto

L'articolazione del progetto è descritta nella Tabella 1.

Tabella 1. Articolazione della Rete nazionale sui modelli sperimentali e *facilities* animali

Proponente (<i>Cordinatori della rete</i>)	Ente di appartenenza dell'Unità Operativa	Responsabile scientifico dell'Unità Operativa
IRE (<i>Gennaro Citro</i>) ISS (<i>Stefano Fais</i>)	Humanitas	Alberto Mantovani
	IEO	Giuseppina Bonizzi
	IOR	Lorena Landuzzi
	ISS	Lucia Gabriele
	CRO	Alfonso Colombatti
	ISTGE	Michele Cilli
	IRE	Gennaro Citro
	Pascale	Claudio Arra
	HSR	Paolo Dellabona

Pubblicazioni conseguite nell'ambito del progetto

Il progetto ha prodotto le seguenti pubblicazioni:

1. Accardo A, Mansi R, Morisco A, Mangiapia G, Paduano L, Tesauro D, Radulescu A, Aurilio M, Aloj L, Arra C, Morelli G. Peptide modified nanocarriers for selective targeting of bombesin receptors. *Mol Biosyst* 2010;6:878-87.
2. Accardo A, Tesauro D, Aloj L, Tarallo L, Arra C, Mangiapia G, Vaccaro M, Pedone C, Paduano L, Morelli G. Peptide-containing aggregates as selective nanocarriers for therapeutics. *Chem Med Chem* 2008;3:594-602.
3. Airoidi I, Cocco C, Giuliani N, Ferrarini M, Colla S, Ognio E, Taverniti G, Di Carlo E, Cutrona G, Perfetti V, Rizzoli V, Ribatti D, Pistoia V. Constitutive expression of IL/12Rbeta2 on human multiple myeloma cells delineates a novel therapeutic target. *Blood* 2008;112:750-9.
4. Airoidi I, Di Carlo E, Cocco C, Caci E, Cilli M, Sorrentino C, Sozzi G, Ferrini S, Rosini S, Bertolini G, Truini M, Grossi F, Galiotta L, Ribatti D, Pistoia V. IL/12 can target human lung adenocarcinoma cells and normal bronchial epithelial cells surrounding tumor lesions. *PLoS One* 2009;4:e6119;1-e6119;11.
5. Ammirante M, Rosati A, Arra C, Basile A, Falco A, Festa M, Pascale M, d'Avenia M, Marzullo L, Belisario MA, De Marco M, Barbieri A, Giudice A, Chiappetta G, Vuttariello E, Monaco M, Bonelli P, Salvatore G, Di Benedetto M, Deshmane SL, Khalili K, Turco MC, Leone A. IKK γ protein is a target of BAG3 regulatory activity in human tumor growth. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107:7497-502.
6. Assin R, Baldi A, Citro G, Spugnini EP. Prostate as sole unusual recurrence site of lymphoma in a dog. *In vivo* 2008;22:755-7.
7. Baldi A, Mottolese M, Vincenzi B, Campioni M, Mellone P, Di Marino M, di Crescenzo VG, Visca P, Menegozzo S, Spugnini EP, Citro G, Ceribelli A, Mirri A, Chien J, Shridhar V, Ehrmann M, Santini M, Facciolo F. The serine protease HtrA1 is a novel prognostic factor for human mesothelioma. *Pharmacogenomics* 2008;9:1069-77.
8. Belletti B, Pellizzari I, Berton S, Fabris L, Wolf K, Lovat F, Schiappacassi M, D'Andrea S, Nicoloso MS, Lovisa S, Sonogo M, Defilippi P, Vecchione A, Colombatti A, Friedl P, Baldassarre G. p27kip1 controls cell morphology and motility by regulating microtubule-dependent lipid raft recycling. *Mol Cell Biol* 2010;30:2229-40.
9. Bellone M, Ceccon M, Grioni M, Jachetti E, Calcinotto A, Napolitano A, Freschi M, Casorati G, Dellabona P. iNKT cells control mouse spontaneous carcinoma independently of tumor-specific cytotoxic T cells. *PLoS One* 2010;5:e8646.
10. Berardi AC, Marsilio S, Rofani C, Salvucci O, Altavista P, Perla FM, Diomedi-Camassei F, Uccini S, Kokai G, Landuzzi L, McDowell HP, Dominici C. Up-regulation of EphB and ephrin-B expression in rhabdomyosarcoma. *Anticancer Res* 2008;28:763-9.
11. Bertino P, Piccardi F, Porta C, Favoni R, Cilli M, Mutti L, Gaudino G. Imatinib mesylate enhances therapeutic effects of gemcitabine in human malignant mesothelioma xenografts. *Clin Cancer Res* 2008;14:541-548.
12. Berton S, Belletti B, Wolf K, Canzonieri V, Lovat F, Vecchione A, Colombatti A, Friedl P, Baldassarre G. The tumor suppressor functions of p27kip1 include the control of mesenchymal/amoeboid transition. *Mol Cell Biol* 2009;29:5031-5045.
13. Bifulco K, Longanesi-Cattani I, Gala M, Di Carluccio G, Masucci MT, Pavone V, Arra C, Stoppelli MP, Carriero MVJ The soluble form of urokinase receptor promotes angiogenesis through its SER(88) -ARG-SER-ARG-TYR(92) chemotactic sequence. *J Thromb Haemost* 2010;8:2789-99.

14. Biocca S, Filesi I, Mango R, Maggiore L, Baldini F, Vecchione L, Viola A, Citro G, Federici G, Romeo F, Novelli G. The splice variant LOXIN inhibits LOX-1 receptor function through hetero-oligomerization. *J Mol Cell Cardiol* 2008;44:561-70.
15. Bonizzi G, Cicalese A, Pasi CE, Faretta M, Ronzoni S, Giulini B, Brisken C, Minucci S, Di Fiore PP, Pelicci PG. The tumor suppressor p53 regulates polarity of self-renewing divisions in mammary stem cells. *Cell* 2009;138:1083-95.
16. Brignole C, Marimpietri D, Pastorino F, Di Paolo D, Pagnan G, Loi M, Piccardi F, Cilli M, Tradori Cappai A, Arrigoni G, Pistoia V, Ponzoni M. Anti IL/10R antibody improves the therapeutic efficacy of targeted liposomal oligonucleotides. *J Control Release* 2009;138:122-7.
17. Campioni M, Ambrogi V, Pompeo E, Citro G, Castelli M, Spugnini EP, Gatti A, Cardelli P, Lorenzon L, Baldi A, Mineo TC. Identification of genes down-regulated during lung cancer progression: a cDNA array study. *J Exp Clin Cancer Res* 2008;15:27:38..
18. Carriero MV, Longanesi-Cattani I, Bifulco K, Maglio O, Lista L, Barbieri A, Votta G, Masucci MT, Arra C, Franco R, De Rosa M, Stoppelli MP, Pavone V. Structure-based design of an urokinase-type plasminogen activator receptor-derived peptide inhibiting cell migration and lung metastasis. *Mol Cancer Ther* 2009;8:2708-17.
19. Crispi S, Calogero RA, Santini M, Mellone P, Vincenzi B, Citro G, Vicidomini G, Fasano S, Meccariello R, Cobellis G, Menegozzo S, Pierantoni R, Facciolo F, Baldi A, Menegozzo M. Global gene expression profiling of human pleural mesotheliomas: identification of matrix metalloproteinase 14 (MMP-14) as potential tumour target. *PLoS One* 2009;4:e7016.
20. Crispi S, Cardillo I, Spugnini EP, Citro G, Menegozzo S, Baldi A. Biological agents involved in malignant mesothelioma: relevance as biomarkers or therapeutic targets. *Curr Cancer Drug Targets* 2010;10:19-26.
21. Danussi C, Petrucco A, Wassermann B, Colombatti A, Spessotto P. Skin proliferation is negatively regulated through EMILIN1- α 4/ α 9 integrin interaction. *J Cell Biol* (inviato per la pubblicazione)
22. De Giovanni C, Landuzzi L, Nicoletti G, Lollini PL, Nanni P. Molecular and cellular biology of rhabdomyosarcoma. *Future Oncology* 2009;5:1449-1475.
23. De Luca A, De Falco M, Manente L, Dattilo D, Lucariello A, Esposito V, Gnarini M, Citro G, Baldi A, Tufano MA, Iaquinto G. Helicobacter pylori heat shock protein B (HspB) localizes *in vivo* in the gastric mucosa and MALT lymphoma. *J Cell Physiol* 2008;216:78-82.
24. De Nigris F, Crudele V, Giovane A, Casamassimi A, Giordano A, Garban HJ, Cacciatore F, Pentimalli F, Marquez-Garban DC, Petrillo A, Cito L, Sommese L, Fiore A, Petrillo M, Siani A, Barbieri A, Arra C, Rengo F, Hayashi T, Al-Omran M, Ignarro LJ, Napoli C. CXCR4/YY1 inhibition impairs VEGF network and angiogenesis during malignancy. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107:14484-9.
25. De Nigris F, Rossiello R, Schiano C, Arra C, Williams-Ignarro S, Barbieri A, Lanza A, Balestrieri A, Giuliano MT, L. Ignarro J, Napoli C. Deletion of YY1 in osteosarcoma cells on cell invasion and CXCR4/angiogenesis and metastasis. *Cancer Research* 2008;68:1797-808.
26. Di Agostino S, Cortese G, Monti O, Dell'orso S, Sacchi A, Eisenstein M, Citro G, Strano S, Blandino G. The disruption of the protein complex mutantp53/p73 increases selectively the response of tumor cells to anticancer drugs. *Cell Cycle* 2008;16:7:3440-7.
27. Di Gennaro E, Piro G, Chianese MI, Franco R, Cintio AD, Moccia T, Luciano A, de Ruggiero I, Bruzzese F, Avallone A, Arra C, Budillon A. Vorinostat synergises with capecitabine through upregulation of thymidine phosphorylase. *Br J Cancer* 2010;103:1680-91.
28. Ehlers S, Mueck T, Adams S, Landuzzi L, Lollini PL, Munz B. RIP2 regulates growth and differentiation of normal myoblasts and of rhabdomyosarcoma cells. *Eur J Cell Biol* 2008;87:163-72.

29. Fedele M, Palmieri D, Chiappetta G, Pasquinelli R, De Martino I, Arra C, Palma G, Valentino T, Pierantoni GM, Viglietto G, Rothstein JL, Santoro M, Fusco A. Impairment of the p27kip1 function enhances thyroid carcinogenesis in TRK-T1 transgenic mice. *Endocr Relat Cancer* 2009;16:483-90.
30. Fedele M, Visone R, De Martino I, Palmieri D, Valentino T, Esposito F, Klein-Szanto A, Arra C, Ciarmiello A, Croce CM, Fusco A. Expression of a truncated Hmga1b gene induces gigantism, lipomatosis and B-cell lymphomas in mice. *Eur J Cancer* 2010 Oct 31 (online prima della stampa)
31. Fedeli M, Napolitano A, Wong MP, Marcais A, de Lalla C, Colucci F, Merckenschlager M, Dellabona P, Casorati G. Dicer-dependent microRNA pathway controls invariant NKT cell development. *J Immunol* 2009;183:2506-12.
32. Felici A, Di Segni S, Milella M, Colantonio S, Sperduti I, Nuvoli B, Contestabile M Sacconi A, Zaratti M, Citro G, Cognetti F. Pharmacokinetics of gemcitabine at fixed-dose rate infusion in patients with normal and impaired hepatic function. *Clin Pharmacokinet* 2009;48:131-41.
33. Fenoglio C, Grosso A, Petrillo G, Boncompagni E, Aiello C, Cordazzo C, Spinelli D, Ognio E, Marigiò M, Cassano A, Viale M. A histochemical approach to the evaluation of the *in vivo* cytotoxicity of the nitrobutadienes (1E,3E)/1,4/bis(1/naphthyl)/2,3/dinitro/1,3/butadiene and methyl (2Z,4E)/2/methylsulfanyl/5/(1/naphthyl)/4/nitro/2,4/pentadiene in mice liver and kidney. *Anticancer Res* 2008;28:813-23.
34. Franceschini V, Bettini S, Pifferi S, Rosellini A, Menini A, Saccardi R, Ognio E., Jeffery R., Poulosom R., Revoltella R. Human cord blood CD133+ stem cells transplanted to Nod Scid mice provide conditions for regeneration of olfactory neuroepithelium after permanent damage induced by dichlobenil. *Stem Cells* 2009;27:825-35.
35. Giannicola G, Ferrari E, Citro G, Sacchetti B, Corsi A, Riminucci M, Cinotti G, Bianco P Graft vascularization is a critical rate-limiting step in skeletal stem cell-mediated posterolateral spinal fusion. *J Tissue Eng Regen Med* 2010;4:273-83.
36. Giudice A, Arra C, Turco MC. Review of molecular mechanisms involved in the activation of the Nrf2-ARE signaling pathway by chemopreventive agents. *Methods Mol Biol* 2010;647:37-74.
37. Giudice A, Caraglia M, Marra M, Montella M, Maurea N, Abbruzzese A, Arra C. Circadian rhythms, adrenergic hormones and trafficking of hematopoietic stem cells. *Expert Opin Ther Targets* 2010;14:567-75.
38. Ierano C, Giuliano P, D'Alterio C, Cioffi M, Mettievier V, Portella L, Napolitano M, Barbieri A, Arra C, Liguori G, Franco R, Palmieri G, Rozzo C, Pacelli R, Castello G, Scala S. A point mutation (G574A) in the chemokine receptor CXCR4 detected in human cancer cells enhances migration. *Cell Cycle* 2009;8:1228-37.
39. Lama A, Viale M, Cilli M, Bruzzo C, Novelli F, Tasso B, Sparatore F. *In vitro* cytotoxic activity of tri/n-butyltin(IV)lupinylsulfide hydrogen fumarate (IST/FS 35) and preliminary antitumor activity *in vivo*. *Invest New Drugs* 2009;27:124-30.
40. Lorenzon D, Mazzucato M, Abbruzzese L, Cilli M, De Angeli S, Degan M, Mambrini G, Piccardi F, Rupolo M, Michieli M, De Marco L, Gattei V, Astori G. Preclinical *ex vivo* expansion of peripheral blood CD34+ selected cells from cancer patients mobilized with combination chemotherapy and granulocyte colony stimulating factor. *Vox Sang* 2008;94:342-50.
41. Manara MC, Nicoletti G, Zambelli D, Ventura S, Guerzoni C, Landuzzi L, Lollini PL, Maira SM, Garcia-Echeverria C, Mercuri M, Picci P. NVE-BEZ235 as a new therapeutic option for sarcomas. *Clin Cancer Res* 2010;16:530-40.
42. Manente L, Perna A, Buommino E, Altucci L, Lucariello A, Citro G, Baldi A, Iaquinto G, Tufano MA, De Luca A. The *Helicobacter pylori*'s protein VacA has direct effects on the regulation of cell cycle and apoptosis in gastric epithelial cells. *J Cell Physiol* 2008;214:582-7.

43. Marra M, Giudice A, Arra C, Vitale G, Castiglioni S, Nasti G, Lombardi A, Ottaiano A, Facchini G, Iaffaioli RV, Abbruzzese A, Caraglia M. Target-based agents in neo-adjuvant treatment of liver metastases from colo-rectal cancer: Secret weapons in anti-cancer war? *Cancer Biol Ther* 2009;8:18.
44. Marra M, Giudice A, Arra C, Vitale G, Castiglioni S, Nasti G, Lombardi A, Ottaiano A, Facchini G, Iaffaioli RV, Abbruzzese A, Caraglia M. Target-based agents in neoadjuvant treatment of liver metastases from colorectal cancer: secret weapons in anti-cancer war? *Cancer Biol Ther* 2009;8:1709-18.
45. Matis S-Mariani MR, Cutrona G, Cilli M, Piccardi F, Daga A, Damonte G, Millo E, Moroni M, Roncella S, Fedeli F, Boffa LC, Ferrarini M. PNAEmu can significantly reduce Burkitt's lymphoma tumor burden in a SCID mice model: cells dissemination similar to the human disease. *Cancer Gene Ther* 2009;16:786-793.
46. Miretti S, Roato I, Tauli R, Ponzetto C, Cilli M, Olivero M, Di Renzo M, Godio L, Albin A, Buracco P, Ferracini R. A mouse model of pulmonary metastasis from spontaneous osteosarcoma monitored *in vivo* by luciferase imaging. *PLoS One* 2008;3:e1828;1-e1828;8.
47. Molfino A, Muscaritoli M, Cascino A, Fanfarillo F, Fava A, Bertini G, Citro G, Rossi Fanelli F, Laviano A. Free tryptophan/large neutral amino acids ratios in blood plasma do not predict cerebral spinal fluid tryptophan concentrations in interleukin-1-induced anorexia. *Pharmacol Biochem Behav* 2008;89:31-5.
48. Mongiat M, Marastoni S, Ligresti G, Lorenzon E, Schiappacassi M, Perris R, Frustaci S, Colombatti A. The pro-apoptotic extracellular matrix glycoprotein EMILIN2 affects tumor growth via a 90 residues long N-terminal region. *Neoplasia* 2010;12:294-304.
49. Nanni P, Nicoletti G, Landuzzi L, Croci S, Murgio A, Palladini A, Antognoli A, Ianzano ML, Stivani V, Grosso V, Maira SM, Garcia-Echeverria C, Scotlandi K, De Giovanni C, Lollini PL. High metastatic efficiency of human sarcoma cells in Rag2/gamma c double knockout mice provides a powerful test system for antimetastatic drug therapy. *Eur J Cancer* 2010;46:659-68.
50. Nobbio L, Fiorese F, Vigo T, Cilli M, Gherardi G, Grandis M, Melcangi R, Mancardi G, Abbruzzese M, Schenone A. Impaired expression of ciliary neurotrophic factor in Charcot Marie Tooth type 1A neuropathy. *J Neuropathol Exp Neurol* 2009;68:441-55.
51. Pagnan G, Di Paolo D, Carosio R, Pastorino F, Marimpietri D, Brignole C, Pezzolo A, Loi M, Galietta L, Piccardi F, Cilli M, Nico B, Ribatti D, Pistoia V, Ponzoni M. The combined therapeutic effects of bortezomib and fenretinide on neuroblastoma cells involve endoplasmic reticulum stress response. *Clin Cancer Res* 2009;15:1199-209.
52. Palmieri C, Falcone C, Iaccino E, Tuccillo FM, Gaspari M, Trimboli F, De Laurentiis A, Luberto L, Pontoriero M, Pisano A, Vecchio E, Fierro O, Panico MR, Larobina M, Gargiulo S, Costa N, Dal Piaz F, Schiavone M, Arra C, Giudice A, Palma G, Barbieri A, Quinto I, Scala G. *In vivo* targeting and growth inhibition of the A20 murine B-cell lymphoma by an idiotype-specific peptide binder. *Blood* 2010;116:226-38.
53. Pantaleo MA, Nannini M, Maleddu A, Fanti S, Nanni C, Boschi S, Lodi F, Nicoletti G, Landuzzi L, Lollini PL, Biasco G. Experimental results and related clinical implications of PET detection of epidermal growth factor receptor (EGFR) in cancer. *Ann Oncol* 2009;20:213-26.
54. Pastorino F, Di Paolo D, Piccardi F, Nico B, Ribatti D, Daga A, Baio G, Neumaier C, Brignole C, Loi M, Marimpietri D, Pagnan G, Cilli M, Lepekhn E, Garde S, Longhi R, Corti A, Allen T, Wu J, Ponzoni M. Enhanced antitumor efficacy of clinical grade vasculature targeted liposomal doxorubicin. *Clin Cancer Res* 2008;14:7320-9.
55. Pellegatti P, Raffaghello L, Bianchi G, Piccardi F, Pistoia V, Di Virgilio F. Increased level of extracellular ATP at tumor sites: *in vivo* imaging with plasma membrane luciferase. *PLoS One* 2008;3:e2599;1-e2599;9.

56. Perdonà S, Cavadas V, Di Lorenzo G, Damiano R, Chiappetta G, Del Prete P, Franco R, Azzarito G, Scala S, Arra C, De Sio M, Autorino R. Prostate Cancer Detection in the “Grey Area” of Prostate-Specific Antigen Below 10 ng/ml: Head-to-Head Comparison of the Updated PCPT Calculator and Chun’s Nomogram, Two Risk Estimators Incorporating Prostate Cancer Antigen 3. *Eur Urol* 2010 Oct 12 (online prima della stampa)
57. Pietra G, Manzini C, Vitale M, Balsamo M, Ognio E, Boitano M, Queirolo P, Moretta L, Mingari MC. Natural killer cells kill human melanoma cells with characteristics of cancer stem cells. *Int Immunol* 2009;21:793-801.
58. Ponassi R, Biasotti B, Tomati V, Bruno S, Poggi A, Malacarne D, Cimoli G, Salis A, Pozzi S, Miglino M, Damonte G, Cozzini P, Spyraiki F, Campanini B, Bagnasco L, Castagnino N, Tortolina L, Mumot A, Frassoni F, Daga A, Cilli M, Piccardi F, Monfardini I, Perugini M, Zoppoli G, D’arrigo C, Pesenti R, Parodi S. A novel Bim/BH3 derived Bcl/X(L) inhibitor. Biochemical characterization, *in vitro*, *in vivo* and *ex vivo* anti leukemic activity. *Cell Cycle* 2008;7:3211-24.
59. Revoltella R, Papini S, Rosellini A, Michelini M, Franceschini V, Ciorba A, Bertolaso L, Magosso S, Hatzopoulos S, Lorito G, Giordano P, Simoni E, Ognio E, Cilli M, Saccardi R, Urbani S, Jeffery R, Poulson R, Martini A. Cochlear repair by transplantation of human cord blood CD133+ cells to No Scid mice made deaf with kanamycin and noise. *Cell Transplant* 2008;17:665-78.
60. Romano S, D’Angelillo A, Pacelli R, Staibano S, De Luna E, Bisogni R, Eskelinen EL, Mascolo M, Cali G, Arra C, Romano MF. Role of FK506-binding protein 51 in the control of apoptosis of irradiated melanoma cells. *Cell Death Differ* 2010;17:145-57.
61. Ruocco LA, Carnevale UA, Treno C, Sadile AG, Melisi D, Arra C, Ibba M, Schirru C, Carboni E. Prepuberal subchronic methylphenidate and atomoxetine induce different long-term effects on adult behaviour and forebrain dopamine, norepinephrine and serotonin in Naples high-excitability rats. *Behav Brain Res* 2010;210:99-106.
62. Ruocco LA, Di Pizzo A, Carnevale UA, Murolo M, Sadile AG, Arra C, Topo E, D’Aniello A, Curcio A, Melisi D, Rimoli MG. Excitatory amino acids in the forebrain of the Naples high-excitability rats: neurochemical and behavioural effects of subchronic D-aspartate and its diethyl ester prodrug. *Behav Brain Res* 2009;198:37-44.
63. Ruocco LA, Di Pizzo A, Carnevale UA, Murolo M, Sadile AG, Arra C, Topo E, D’Aniello A, Curcio A, Melisi D, Rimoli MG. Excitatory amino acids in the forebrain of the Naples high-excitability rats: neurochemical and behavioural effects of subchronic D-aspartate and its diethyl ester prodrug. *Behav Brain Res* 2009;198:37-44.
64. Ruocco LA, Gironi Carnevale UA, Sadile AG, Sica A, Arra C, Di Maio A, Topo E, D’Aniello A. Elevated forebrain excitatory L-glutamate, L-aspartate and D-aspartate in the Naples high-excitability rats. *Behav Brain Res* 2009;198:24-8.
65. Ruocco LA, Gironi Carnevale UA, Sica A, Arra C, Topo E, Di Giovanni M, D’Aniello A, Sadile AG. Differential prepuberal handling modifies behaviour and excitatory amino acids in the forebrain of the Naples high-excitability rats. *Behav Brain Res* 2009;198:29-36.
66. Signorile PG, Spugnini EP, Mita L, Mellone P, D’Avino A, Bianco M, Diano N, Caputo L, Rea F, Viceconte R, Portaccio M, Viggiano E, Citro G, Pierantoni R, Sica V, Vincenzi B, Mita DG, Baldi F, Baldi A. Pre-natal exposure of mice to bisphenol A elicits an endometriosis-like phenotype in female offspring. *Gen Comp Endocrinol* 2010;168:318-25.
67. Sorrentino R, Morello S, Giordano MG, Arra C, Maiolino P, Adcock IM, Pinto A. CpG-ODN increases the release of VEGF in a mouse model of lung carcinoma. *Int J Cancer* 2010 Aug 19 (online prima della stampa)
68. Sorrentino R, Morello S, Luciano A, Crother TR, Maiolino P, Bonavita E, Arra C, Adcock IM, Arditi M, Pinto A. Plasmacytoid dendritic cells alter the antitumor activity of CpG-oligodeoxynucleotides in a mouse model of lung carcinoma. *J Immunol* 2010;185:4641-50.

69. Spugnini EP, Campioni M, D'Avino A, Caruso G, Citro G, Baldi A. Cell-cycle molecules in mesothelioma: an overview. *J Exp Clin Cancer Res* 2007;26:443-9.
70. Spugnini EP, Citro G, Baldi A. Adjuvant electrochemotherapy in veterinary patients: a model for the planning of future therapies in humans. *J Exp Clin Cancer Res* 2009;28:114.
71. Spugnini EP, Citro G, D'Avino A, Baldi A. Potential role of electrochemotherapy for the treatment of soft tissue sarcoma: first insights from preclinical studies in animals. *Int J Biochem Cell Biol* 2008;40(2):159.
72. Spugnini EP, Citro G, Dotsinsky I, Mudrov N, Mellone P, Baldi A. Ganglioneuroblastoma in a cat: a rare neoplasm treated with electrochemotherapy. *Vet J* 2008;178:291-3.
73. Spugnini EP, Citro G, Fais S. Proton pump inhibitors as anti vacuolar-ATPases drugs: a novel anticancer strategy. *J Exp Clin Cancer Res* 2010;29:44.
74. Spugnini EP, Crispi S, Scarabello A, Caruso G, Citro G, Baldi A. Piroxicam and intracavitary platinum-based chemotherapy for the treatment of advanced mesothelioma in pets: preliminary observations. *J Exp Clin Cancer Res* 2008;27:6.
75. Spugnini EP, Dotsinsky I, Mudrov N, Bufalini M, Giannini G, Citro G, Feroce F, Baldi A. Adjuvant electrochemotherapy for incompletely excised anal sac carcinoma in a dog. *In vivo* 2008;22:47-9.
76. Spugnini EP, Dotsinsky I, Mudrov N, Citro G, Caruso G, Cardelli P, Baldi A. Electrochemotherapy-induced radiation recall in a cat. *In vivo* 2008;22:751-3.
77. Spugnini EP, Dotsinsky I, Mudrov N, Citro G, D'Avino A, Baldi A. Biphasic pulses enhance bleomycin efficacy in a spontaneous canine genital tumor model of chemoresistance: Sticker sarcoma. *J Exp Clin Cancer Res* 2008;3;27:58.
78. Spugnini EP, Dotsinsky I, Mudrov N, De Luca A, Codini C, Citro G, D'Avino A, Baldi A. Successful rescue of an apocrine gland carcinoma metastatic to the cervical lymph nodes by mitoxantrone coupled with trains of permeabilizing electrical pulses (electrochemotherapy). *In vivo* 2008;22:51-3.
79. Spugnini EP, Filipponi M, Romani L, Dotsinsky I, Mudrov N, Baroni A, Ruocco E, Laieta MT, Montesarchio V, Cassandro R, Citro G, Baldi A. Local control and distant metastasis after electrochemotherapy of a canine anal melanoma. *In vivo* 2007;21:897-9.
80. Spugnini EP, Filipponi M, Romani L, Dotsinsky I, Mudrov N, Citro G, Baldi A. Electrochemotherapy treatment for bilateral pleomorphic rhabdomyosarcoma in a cat. *J Small Anim Pract* 2010;51:330-2.
81. Spugnini EP, Gargiulo M, Assin R, D'Avino A, Mellone P, Citro G, Cardelli P, Baldi A. Adjuvant carboplatin for the treatment of intestinal carcinoid in a dog. *In vivo* 2008;22:759-61.
82. Spugnini EP, Mezzanotte F, Freri L, Betti G, Citro G, Baldi A. Cyproterone acetate-induced mammary carcinoma in two male cats. *J Feline Med Surg* 2010;12:515-6.
83. Spugnini EP, Pagotto A, Zazzera F, D'Avino A, Caruso G, Citro G, Baldi A. Cutaneous T-cell lymphoma in an African hedgehog (*Atelerix albiventris*). *In vivo* 2008;22:43-5.
84. Spugnini EP, Vincenzi B, Betti G, Cordahi F, Dotsinsky I, Mudrov N, Citro G, Baldi A. Surgery and electrochemotherapy of a high-grade soft tissue sarcoma in a dog. *Vet Rec* 2008;162:186-8.
85. Spugnini EP, Vincenzi B, Caruso G, Baldi A, Citro G, Santini D, Tonini G. Zoledronic acid for the treatment of appendicular osteosarcoma in a dog. *J Small Anim Pract* 2009;50:44-6.
86. Spugnini EP, Vincenzi B, Citro G, Tonini G, Dotsinsky I, Mudrov N, Baldi A. Electrochemotherapy for the treatment of squamous cell carcinoma in cats: a preliminary report. *Vet J* 2009;179:117-20.

87. Tonti E, Galli G, Malzone C, Abrignani S, Casorati G, Dellabona P. NKT cell help to B lymphocytes can occur independently of cognate interaction. *Blood* 2009;113:370-6.
88. Turco MC, Lamberti A, Bisogni R, Romano MF, Petrella A, Ammirante M, Rosati A, Davenia M, Arra C, Spugnini E, Bonelli P, Venuta S. Modulation of cell apoptosis by AIR. *Leukemia* 2008;22:229.

NETWORK NAZIONALE ITALIANO TUMORI EREDO-FAMILIARI (InTEF)

Paolo Radice (a), Liliana Varesco (b), Franca Podo (c), Margherita Bignami (d)

(a) *Struttura semplice Suscettibilità genetica al Cancro, Fondazione IRCCS Istituto Nazionale Tumori, Milano*

(b) *Struttura semplice Centro Tumori Ereditari, Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro, Genova*

(c) *Dipartimento di Biologia Cellulare e Neuroscienze, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(d) *Dipartimento di Ambiente e Connessa Prevenzione Primaria, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

Riassunto del Progetto

Viene stimato che circa il 5-10% di tutti i tumori siano riconducibili ad una predisposizione di tipo ereditario, che conferisce un aumentato rischio di cancro. Per questa ragione, tali neoplasie vengono definite, seppure impropriamente, con il termine di ‘tumori eredo-famigliari’ (TEF). In una frazione di casi tale predisposizione è dovuta alla presenza di mutazioni costitutive in geni specifici noti, che possono essere identificate mediante analisi molecolari (test genetici). Gli individui con predisposizione ereditaria al cancro costituiscono un particolare sottogruppo di soggetti che necessitano di specifici programmi di sorveglianza, prevenzione e cura.

Obiettivo principale del progetto è quello di creare una rete italiana di centri che si occupano di TEF, denominata ‘Italian Network TEF’ (InTEF), che abbia come finalità:

- favorire l’integrazione delle attività di ricerca ed assistenziali dei centri che in Italia si occupano della tematica in oggetto, attraverso la realizzazione di strumenti informativi condivisi per la implementazione delle attività inerenti la consulenza genetica oncologica (CGO), la diagnostica molecolare (test genetici) ed i programmi di prevenzione primaria e secondaria;
- realizzare uno strumento operativo da mettere a disposizione dei Servizi Sanitari Nazionale e Regionali (SSN e SSR) per orientare le strutture sanitarie nella gestione dei soggetti con patologie neoplastiche a probabile o sospetta origine ereditaria e dei loro collaterali;
- promuovere la partecipazione dei centri partecipanti a consorzi collaborativi internazionali con particolare riferimento a quelli su scala europea;
- favorire la partecipazione dei membri aderenti ad InTEF al progetto di realizzazione di una banca italiana di campioni di materiale biologico in linea con la le linee guida di TRANSFOG.

Con riferimento ai programmi di sorveglianza mediante *imaging*, particolare attenzione verrà inoltre dedicata all’integrazione di una rete di centri con documentata esperienza nello *screening* senologico con mammografia, ecografia e risonanza magnetica a contrasto dinamico nelle donne ad alto rischio ereditario di tumore mammario.

Obiettivi secondari sono rappresentati da:

- il censimento della situazione operativa dei centri italiani che si occupano di TEF, con particolare riferimento a quelli del colon-retto e della mammella/ovaio, in ambito assistenziale e di ricerca;
- la produzione di documenti di riferimento per la stesura di *Standard Operating Procedures* (SOP);

- il collegamento con altre reti di ACC;
- il sostegno ad alcuni progetti di ricerca clinica su base nazionale.

Il progetto è suddiviso in due *workpackages* (WP), corrispondenti a due ambiti distinti di interesse (ricerca ed assistenza) e si articola su quattro aree di coordinamento relative ai seguenti settori: 1) consulenza genetica oncologica (CGO); 2) test genetici; 3) saggi funzionali; 4) programmi di sorveglianza.

Il WP1 riguarderà la ricognizione delle necessità in termini di strumenti operativi a supporto dei progetti di ricerca (di base, translazionale e clinica) nell'ambito dei TEF e sarà finalizzato alla realizzazione di risorse condivise che consentano ai ricercatori italiani di promuovere questo tipo di studi e di parteciparvi attivamente.

Il WP2 verterà sull'analisi delle problematiche connesse con i TEF in un'ottica puramente assistenziale e sarà finalizzato alla realizzazione di strumenti informativi che consentano ai responsabili di servizi sanitari di programmare e realizzare azioni volte all'introduzione dei nuovi approcci diagnostici secondo elevati standard di qualità e sulla base dell'analisi delle priorità e delle risorse.

Stato generale di sviluppo del progetto e conseguimento dei risultati

Di seguito vengono descritte le principali attività in cui il progetto si è articolato nel corso del terzo anno di attuazione:

- Area Consulenza Genetica Oncologica (CGO)

L'indagine conoscitiva (INTEFquery1) promossa nel 2008-2009 per individuare e confrontare le attività sui TEF presenti presso le strutture di Genetica Clinica e di Oncologia Medica italiane ha permesso la creazione di una prima versione della mappa italiana di Rete dei centri di CGO consultabile per regione sul sito del progetto (<http://www.iss.it/itef/chis/index.php?lang=1&tipo=2&area=1>), nell'area liberamente accessibile ed utilizzabile quindi come strumento operativo conoscitivo. Tra i risultati di quest'indagine di particolare interesse sono i dati relativi alle modalità di accesso ai test genetici diagnostici/sul probando: nella maggior parte delle strutture l'accesso è strettamente vincolato alla presenza di una probabilità di mutazione superiore ad un dato valore soglia, è sottoposto alla valutazione indipendente del laboratorio e dipende dalla disponibilità di un affetto vivente. Allo scopo di approfondire questi aspetti, nel 2009 è stato preso come modello il tumore ereditario mammella/ovaio e si è promosso nell'ambito della Rete uno studio di confronto del valore predittivo di diversi strumenti di valutazione della probabilità di mutazione dei geni BRCA (BOADICEA, BRCAPRO, criteri tabellari). Sulla base della manifestazione d'interesse per l'iniziativa da parte di 28 centri di Consulenza Genetica Oncologica (CGO), si è proceduto alla stesura di un protocollo che è stato discusso collegialmente in due distinte riunioni. È quindi partita una fase preliminare di raccolta dati volta ad individuare problemi relativi all'uso dei modelli BOADICEA e BRCAPRO secondo le modalità condivise. Successivamente alla verifica dei problemi riportati da alcuni partecipanti, la versione finale del protocollo è stata redatta e resa disponibile sul sito del progetto nella sezione "Iniziative di Rete" (<http://www.iss.it/itef/rete/index.php?lang=1&tipo=29&anno=2010>).

Al 31/11/2009 sono pervenuti i dati di 14 centri per un totale di 849 casi di cui 683 eleggibili nello studio; ulteriori 4 centri hanno chiesto di prolungare al 31/12/2010 la scadenza della raccolta dati per poter partecipare allo studio.

Indagine conoscitiva sui laboratori che effettuano test per la ricerca di mutazioni nei geni di predisposizione al cancro.

È stata portata a termine la prima analisi conoscitiva dei laboratori che in Italia offrono test genetici nelle forme di predisposizione ereditaria al cancro (INTEFquerylab1). In totale, 43 laboratori hanno compilato e ri-inviato il questionario, con una *compliance* di circa il 51%. È stata osservata una notevole disomogeneità per quanto riguarda: a) la distribuzione dei laboratori, con la maggior parte dei centri localizzata nell'Italia settentrionale e centrale (rispettivamente 20 e 17, a fronte di solo 6 laboratori nelle regioni meridionali ed insulari); b) il numero di prestazioni erogate per test sia sui probandi (*range* 2-483; media 62) che sui collaterali (*range* 2-230, media 35) e c) la tipologia dei test eseguiti, con solo il 38% dei laboratori che esegue test su ≥ 6 geni, contro il 31%, che analizza non più di 2 geni.

È in corso di elaborazione il questionario per la seconda analisi conoscitiva, finalizzata alla raccolta delle informazioni sulle modalità operative e sulla struttura organizzativa dei laboratori.

– *Attività del sito web*

Le funzioni del sito web inTEF (<http://www.iss.it/itef>), inizialmente dedicato principalmente alla descrizione del *network* ed arricchito dalla pubblicazione di contenuti nelle aree dedicate ai saggi funzionali (riguardanti le mutazioni nel gene *MUTYH*), e CGO (linee-guida e referenze relative ai centri di riferimento della rete) sono state implementate mediante la creazione di un nuovo campo “Iniziative di rete” nel quale vengono rese pubbliche e disponibili per i partecipanti al network proposte ed attività avviate dai singoli centri ma di interesse comune. Questa modifica è stata apportata per soddisfare la necessità ormai sentita dai rappresentanti dei centri partecipanti al network di rendere il sito web operativo nel favorire le interazioni all'interno di inTEF.

Sono state infine raccolte ulteriori informazioni relative a varianti del gene *MUTYH* rese disponibili da alcune delle UO inTEF, attualmente in corso di inserimento nel *database online* relativo alle varianti italiane del gene raggiungibile dal sito ACC-inTEF. Il *database* è stato realizzato sulla struttura del *Leiden Open Variation Database* (LOVD) sviluppato e mantenuto al *Leiden University Medical Center* e contenente le informazioni già disponibili in letteratura e di pubblico accesso sulle mutazioni *MUTYH* a livello internazionale. Al momento inteso come una versione limitata all'ambito inTEF, il *database* contiene circa 180 varianti italiane ma sarà accessibile per l'inserimento di ulteriori varianti e la loro consultazione alle UO che partecipano al *database* stesso e ad altri centri esterni, quando autorizzati.

– *Sorveglianza di donne ad alto rischio genetico-familiare di tumore mammario*

Questo studio nazionale, di tipo osservazionale, prospettico e non randomizzato, coordinato presso l'ISS, è basato sull'uso integrato di consulenza genetica, visita senologica, mammografia, ecografia mammaria e imaging RM a contrasto dinamico (MRI), per la diagnosi precoce del carcinoma mammario in donne ad alto rischio genetico-familiare.

Obiettivi: a) armonizzare criteri di arruolamento per lo screening delle donne a rischio, percorsi diagnostici e metodi di raccolta, analisi statistica e valutazione dei dati, in base a protocolli concordati a livello nazionale; b) proporre un piano di prevenzione secondaria

delle donne a rischio di carcinoma mammario ereditario, mediante uso integrato di MRI e tecniche di imaging convenzionale.

Il progetto si basa sulle esperienze e i traguardi del precedente studio multicentrico ISS-HIBCRIT-1 (High Breast Cancer Risk Italian Study, 1998-2008) i cui risultati clinico-radiologici confluiscono nel presente progetto-pilota di sorveglianza (ISSIN-HIBCR, ora ridenominato HIBCRIT-2), garantendo la continuità e il potenziamento della robustezza statistica dell'intero studio italiano in questo campo.

Attività svolte nel presente progetto:

- Realizzazione di una Rete multicentrica nazionale ad oggi comprendente 8 IRCCS Oncologici, altri IRCCS, Aziende Ospedaliere, Policlinici e Istituti Universitari (per un totale di 32 Centri, 31 già autorizzati dal proprio CE);
- Realizzazione in ISS di una infrastruttura informatica dedicata, costituita da:
 - a) un database relazionale per la raccolta centralizzata in ISS dei dati di arruolamento e diagnostica multimodale delle donne reclutate dai centri aderenti alla Rete;
 - b) un repository per la raccolta anonimizzata delle immagini ottenute dagli esami radiologici eseguiti nei round diagnostici annuali;
 - c) un sito web ad accesso riservato ai centri partecipanti e al Ministero della Salute, Direzione Generale della Prevenzione Sanitaria, che rende disponibili tutti i documenti di uso interno alla Rete.
- Studio HIBCRIT-2 (interim report) - Da gennaio 2008 a dicembre 2009 la Rete ha arruolato 662 donne ad alto rischio di tumore mammario ereditario in 23 Centri. Di queste, 69.9% sono state reclutate per mutazione deleteria nei geni BRCA1, BRCA2 o TP53 e 30.1% sulla base della sola storia familiare. Sono stati effettuati 875 round diagnostici (1.43 round/donna-anno), nei quali sono stati sinora diagnosticati 29 casi di tumore (24 screen-detected e 5 cancri d'intervallo), con i seguenti valori di sensibilità delle diverse modalità di imaging: mammografia 54.2%; ecografia 39.3%; MRI 75.0%; mammografia ed ecografia 54.2%; mammografia e MRI 83.3%; ecografia e MRI 75.0%. I restanti indici di performance diagnostica saranno calcolabili quando sarà concluso, per tutti i centri, lo schema minimo di indagine multimodale (2 round + almeno 1 anno di follow-up).

Un rilevante aspetto dello studio HIBCRIT nel suo complesso (HIBCRIT1+HIBCRIT2), tuttora in corso di approfondimento, riguarda lo stato recettoriale per estrogeno (ER) e progesterone (PgR) e l'amplificazione di ErbB2/HER2 dei tumori invasivi diagnosticati nelle diverse classi di rischio. Dei 43 casi di tumori invasivi, 20/43 erano di tipo ER<10%, PgR<10% e HER2 0/1⁺. Il monitoraggio della storia clinica di queste pazienti, anche a confronto con i dati degli studi condotti in altri Paesi, rappresenterà una base rilevante per la definizione di protocolli di sorveglianza ottimizzati per fasce di rischio e di età.

- *Collegamento con altre reti collaborative nazionali ed internazionali.*

Il consorzio nazionale CONSIT TEAM (CONSORZIO Italiano per lo STUDIO dei Tumori Ereditari Alla Mammella), è stato allargato ad ulteriori due centri per totale di 10. Nel corso del 2010 sono stati raccolti 1364 campioni di DNA costitutivo di donne con mutazioni germinali nei geni BRCA1 e BRCA2. Questi campioni sono stati inviati al *Cancer Genomic Laboratories* dell'Università Laval (Quebec, Canada) per le analisi di genotipizzazione previste nella decima fase analitica del CIMBA (*Consortium of Investigators of Modifiers of BRCA1/2*), che prevede la verifica dell'effetto di modificazione del rischio di cancro mammario nelle donne BRCA-positive di 25 varianti

polimorfe candidate. Gli stessi DNA sono inoltre stati inviati alla *Mayo Clinic* (Rochester, USA) ed al *Gemone Quebec* (Montreal, Canada) per l'esecuzione delle analisi previste nell'ambito del progetto iCOGS, in cui verrà analizzato, su un totale di 150.000 soggetti raccolti da vari consorzi internazionali, il ruolo nel rischio mammario, ovarico e prostatico di 200.000 varianti alleliche.

Inoltre è stato costituito il gruppo collaborativo CONSAMM (Consorzio per lo studio degli alleli MMR e dei loro modificatori), per favorire la partecipazione dei centri italiani agli studi internazionali sul carcinoma ereditario del colon-retto, ed in particolare lo studio MOMA (*Modifiers Of Mmr Alleles*), coordinato da Malcolm Dunlop (Università di Edimburgo) e lo studio IMRC (*International Mismatch Repair Consortium*), per l'analisi della penetranza delle mutazioni associate alla Sindrome di Lynch e la caratterizzazione dei fattori in grado di modificare tale penetranza. Attualmente, 18 centri hanno aderito al gruppo collaborativo e si sta procedendo alla raccolta dei campioni biologici e delle relative informazioni clinico-patologiche.

Infine, nell'ottica di sviluppare strumenti operativi per la condivisione di risorse e materiale finalizzata al sostegno di progetti di ricerca nel settore dei tumori ereditari, tra le attività di rete previste per il prossimo anno verrà valutata la possibilità di realizzare dei collegamenti con le reti nazionali ed internazionali delle biobanche, per lo sviluppo di procedure per la tracciabilità dei campioni biologici dei soggetti con predisposizione ereditaria al cancro.

Articolazione del progetto

L'articolazione del progetto è descritta nella Tabella 1.

Tabella 1. Articolazione del Network nazionale italiano Tumori Eredo- Familiari (inTEF)

Proponente (<i>Cordinatori della rete</i>)	Ente di appartenenza dell'Unità Operativa	Responsabile scientifico dell'Unità Operativa
INT (<i>Paolo Radice</i>) ISTGE (<i>Liliana Varesco</i>) ISS (<i>Franca Podo</i>) ISS (<i>Margherita Bignami</i>)	INT	Paolo Radice
	ISTGE	Liliana Varesco
	IEO	Bernardo Bonanni
	Humanitas	Alberto Malesci
	HSR	Maurizio Ferrari
	S. Matteo	Ombretta Luinetti
	IOV	Marco Montagna
	CRO	Alessandra Viel
	IOR	Luca Sangiorgi
	IRE	Vittoria Stigliano
	Pascale	Stefano Greggi
	ITB	Francesco Schittulli
	ISS	Margherita Bignami
	ISS	Franca Podo

Pubblicazioni conseguite nell'ambito del progetto

Il progetto ha prodotto le seguenti pubblicazioni:

1. Antoniou AC, Beesley J, McGuffog L, Sinilnikova OM, Healey S, *et al.* Common breast cancer susceptibility alleles and the risk of breast cancer for BRCA1 and BRCA2 mutation carriers: implications for risk prediction. *Cancer Res* 2010;70:9742-54.
2. Antoniou AC, Wang X, Fredericksen ZS, McGuffog L, *et al.* A locus on 19p13 modifies risk of breast cancer in BRCA1 mutation carriers and is associated with hormone receptor-negative breast cancer in the general population. *Nat Genet* 2010;42:885-92.
3. Casorelli I, Pannellini T, De Luca G, Degan P, *et al.* The Mutyh base excision repair gene influences the inflammatory response in a mouse model of ulcerative colitis. *PLoS One* 2010;5:e12070.
4. Catucci I, Verderio P, Pizzamiglio S, Manoukian S, *et al.* The CASP8 rs3834129 polymorphism and breast cancer risk in BRCA1 mutation carriers. *Breast Cancer Res Treat* 2010, Jul 22 (online prima della stampa)
5. D'Agostino VG, *et al.* Functional analysis of MUTYH mutated proteins associated with familial adenomatous polyposis. *DNA Repair (Amst)* 2010;9:700-7.
6. Pastrello C, *et al.* Integrated analysis of unclassified variants in mismatch repair genes. *Genet Med* (in corso di stampa).
7. Podo F, Buydens LMC, Degani H, *et al.* Triple-negative breast cancer: Present challenges and new perspectives. *Mol Oncol* 2010;4:209-29.
8. Podo F, Santoro F, Sardanelli F. Lo studio nazionale multicentrico sull'alto rischio. *Attualità in Senologia* 2010;60:61-2.
9. Podo F, Sardanelli F. ACS Guideline for breast cancer screening with MRI: clarifications on the Italian Study. *CA Cancer J Clin* E-letter 21 June 2007.
10. Ramus S, *et al.* Genetic Variation at 9p22.2 and Ovarian Cancer Risk for BRCA1 and BRCA2 Mutation carriers. *JNCI* (in corso di stampa).
11. Sardanelli F, Carbonaro LA, Santoro F, Podo F. Sorveglianza RM nelle donne ad alto rischio di carcinoma mammario. In: A Ragozzino, ed., *Imaging RM nella Donna*, Idelson-Gnocchi, Napoli, 2010, pp 47-72.
12. Sardanelli F, Giuseppetti GM, Canavese G, *et al.* Indications for breast magnetic resonance imaging. Consensus document "Attualità in Senologia", Florence 2007. *Radiol Med* 2008;113:1085-95.
13. Sardanelli F, Podo F, D'Agnolo G, *et al.* Multicenter comparative modality surveillance of women at genetic-familial high risk of breast cancer using contrast-enhanced MR imaging, mammography, ultrasound, and clinical breast examination. Interim results. *Radiology* 2007;242:698-715.
14. Sardanelli F, Podo F, Santoro F, *et al.* Multicenter surveillance of women at high genetic breast cancer risk using mammography, ultrasonography, and contrast-enhanced magnetic resonance imaging (HIBCRIT-1 study). Final results. *Invest Radiol* 2011;46:94-105.
15. Sardanelli F, Podo F. Breast MR imaging in women at high-risk of breast cancer. Is something changing in early breast cancer detection? *European Radiology* 2007;17:873-887.
16. Sardanelli F, Podo F. Management of an inherited predisposition to breast cancer. *NEJM* 2007;357:1663.

RETE NAZIONALE DI BIOINFORMATICA ONCOLOGICA (RNBIO)

Paolo Romano (a), Marco Crescenzi (b)

(a) *Struttura Complessa Bioinformatica e Proteomica Strutturale, Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro, Genova*

(b) *Dipartimento di Biologia Cellulare e Neuroscienze, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

Riassunto del progetto

L'esigenza di allestire una rete di bioinformatica per gli Istituti che fanno parte di Alleanza contro il Cancro nasce dalla constatazione che la ricerca biomedica dipenderà sempre più dall'analisi delle informazioni disponibili e, quindi, dalla consapevolezza che la bioinformatica diventerà nei prossimi anni il più importante strumento di supporto all'analisi disponibile per i ricercatori.

Gli IRCCS oncologici non hanno sinora sviluppato competenze, risorse ed esperienze bioinformatiche adeguate a questo contesto, salvo limitati casi. Al contrario, molti Istituti oncologici europei hanno da tempo investito cospicue risorse, attivato importanti gruppi di lavoro, e iniziano a ottenere i primi risultati significativi. Gli Istituti di Alleanza contro il Cancro devono quindi elevare le competenze in questo settore strategico a un livello adeguato alle esigenze dei prossimi anni. La peculiarità di ACC, una federazione di Istituti autonomi e paritetici, nessuno dei quali avrebbe la "massa critica" necessaria, fa sì che una rete di coordinamento e cooperazione sia la struttura più idonea a consentire un efficace confronto tra bioinformatici, biologi e medici, un effettivo trasferimento di competenze tra Istituti, la valorizzazione delle competenze e dei risultati dell'attività bioinformatica svolta e la progettualità necessaria per risolvere efficacemente i problemi che si presenteranno nei prossimi anni.

L'obiettivo principale della Rete Nazionale di Bioinformatica Oncologica è quindi la creazione di un coordinamento delle attività bioinformatiche degli Istituti partecipanti ad Alleanza contro il Cancro al fine di integrare ed elevare le attuali competenze e poter quindi ottimizzare e innovare le attività di ricerca e cliniche in oncologia basate sull'analisi in-silico. Operativamente, le attività della rete prevedono:

- l'organizzazione e lo svolgimento di corsi relativi all'uso di strumenti bioinformatici e sulle tecnologie ICT più innovative per il loro sviluppo, nonché di seminari e workshop sui risultati delle attività svolte dai partner nell'ambito della rete;
- l'organizzazione di gruppi di lavoro su tematiche specifiche che possano sostenere il trasferimento di competenze tra Istituti e favorire lo sviluppo di nuovi strumenti bioinformatici: il loro ruolo non è quello di riunire pochi esperti di argomenti molto specifici, ma di mettere a confronto esperienze e competenze diverse su temi di comune interesse; un punto di incontro tra bioinformatici, statistici medici, biologi e clinici;
- la promozione delle attività di ricerca e sviluppo dei partner e della rete nel suo complesso;
- lo sviluppo di collaborazioni con gestori di servizi di High Performance Computing e infrastrutture di rete avanzate (Grid) per l'accesso e l'utilizzo degli stessi;
- lo sviluppo di collaborazioni tra la rete e Istituti oncologici europei e internazionali d'eccellenza.

La rete intende allargare la partecipazione ai gruppi di lavoro anche a ricercatori e clinici di altri Istituti di ACC, rendendo possibile un reale, complessivo miglioramento delle competenze in tutti gli IRCCS oncologici, anche in vista di un futuro e auspicato allargamento della rete a tutti i soci e ricercatori interessati.

Stato generale di sviluppo del progetto e conseguimento dei risultati

Durante il terzo anno di progetto, l'attività della Rete Nazionale di Bioinformatica Oncologica (RNBIO) si è sviluppata secondo le linee previste, con la partecipazione effettiva e continua dei partner. Le singole relazioni scientifiche presentano i risultati ottenuti dalle unità individualmente, in questa relazione vengono evidenziati i risultati del coordinamento e delle attività comuni che per il 2010 hanno riguardato, in particolare, la formazione e l'aggiornamento, la promozione dei partner e della rete nel suo complesso, lo sviluppo di progettualità comuni e lo sviluppo di collaborazioni esterne.

Formazione e aggiornamento hanno costituito il principale impegno dei partner. Nel corso del terzo anno si sono concretizzate molte iniziative che erano state discusse e progettate nel corso degli anni precedenti all'interno dei gruppi di lavoro. Nel 2010, si sono tenuti i seguenti corsi:

- "Introduzione allo sviluppo di applicazioni basate su semantic web in ambito biomedico", 15-17 marzo 2010, Genova, docenti Andrea Splendiani, Rothamsted Research, Hampden, Regno Unito, Emanuela Della Valle, Politecnico di Milano, e Paolo Romano, IST, Genova; gruppo di lavoro coinvolto: Automazione dei processi d'analisi dei dati.
- "Computational intelligence methods for the analysis of oncology bioinformatics data", maggio-giugno 2010, Vietri sul Mare (Salerno), responsabili Francesco Masulli, DISI, Università di Genova e Paolo Romano, IST, Genova, vari docenti internazionali; gruppi di lavoro coinvolti: Oncogenomica e Metodi statistici applicati alla bioinformatica.
- "Biostatistica per la bioinformatica", 12 - 14 luglio 2010, Milano, responsabili Elia Biganzoli e Adriano Decarli, INT, Milano, e Paolo Romano, IST, Genova; gruppi di lavoro coinvolti: Oncogenomica e Metodi statistici applicati alla bioinformatica.
- "perl e bioperl", 5-8 ottobre 2010, CINECA, Casalecchio di Reno (BO), docenti Andrew Emerson e Silvia Giuliani, CINECA, e Remo Sanges, Istituto Zoologico "A. Dohrn", Napoli; gruppo di lavoro coinvolto: Automazione dei processi d'analisi dei dati.
- "Bioinformatica per la proteomica", 18-20 ottobre 2010, IST, Genova, responsabili Angelo Facchiano, ISA, CNR, Avellino, e Paolo Romano, IST, Genova, vari docenti nazionali; gruppi di lavoro coinvolti: Oncoproteomica e Metodi statistici applicati alla bioinformatica.
- "Virtual karyotyping attraverso la tecnologia SNP-array: analisi dati", 25-27 ottobre 2010, IST, Genova, docenti Silvio Biciato, Università di Modena e Reggio Emilia, e Cristina Battaglia, Università di Milano.

Il corso "Bioinformatica per la Proteomica" ha costituito una seconda edizione del corso che si tenne ad Avellino a novembre 2009. Contiamo di riproporre nel 2011 una terza edizione, visto il successo che ha ottenuto anche la seconda. Il corso sul Virtual karyotyping è stata la prosecuzione ideale del corso di analisi dati di espressione genica da microarray che si svolse nel 2009, sempre a Genova. Anche in questo caso, si intende proseguire questo filone con una terza edizione nel 2011.

I corsi sono stati destinati in primis ai partner della rete, ma allargati gratuitamente al personale di tutti gli IRCCS e, con un minimo costo di iscrizione, a tutti i ricercatori interessati. L'analisi dei corsi evidenzia i caratteri dell'offerta formativa della rete, che si sviluppa su due filoni distinti: le metodologie e tecnologie di sviluppo software, nell'ambito del quale si collocano i corsi di semantic web e perl/bioperl, e l'uso efficace dei software più innovativi, nell'ambito del quale si collocano i corsi sulla biostatistica, la proteomica e il virtual karyotyping. Il sito web RNbio (<http://www.rnbio.it/>) è stato utilizzato per annunciare i corsi e, in alcuni casi, per raccogliere le iscrizioni. Le presentazioni dei docenti sono state inserite nel sito e rese accessibili ai partecipanti.

La rete ha anche contribuito allo svolgimento dei tutorial su "Biological Wikis" nell'ambito del workshop congiunto NETTAB/BBCC 2010, svoltosi a Napoli dal 29 novembre al 1 dicembre 2010. Questo strumento innovativo, al di là del noto sito enciclopedico multimediale Wikipedia e dei recenti fatti di cronaca legati a WikiLeaks, si sta rivelando molto utile per consentire la realizzazione di basi di conoscenza (*knowledge bases*) con il contributo di singoli ricercatori e comunità di ricercatori. Esperienze come WikiGenes, Gene Wiki, PDBWiki, Proteopedia, per citare solo alcune dei progetti più noti, si stanno rivelando infatti molto utili e scientificamente solide. Nell'ambito della nostra rete, riteniamo di sperimentarne l'uso nel corso dell'ultimo anno.

Nel corso del terzo anno di progetto, si sono svolti due incontri della rete, oltre a una serie di meeting ristretti. Gli incontri si sono tenuti a Milano, presso l'INT, e a Roma, presso l'ISS, e hanno consentito di pianificare l'attività del terzo anno, anche se a gruppi ristretti. Aver organizzato due incontri ha consentito di fatto una maggior partecipazione dei partner. Questa infatti avrebbe potuto essere inferiore se l'incontro fosse stato unico sia per la maggior difficoltà a trovare una data opportuna, sia per i maggiori costi di partecipazione. Riteniamo di poter fare lo stesso anche per il 2011, soprattutto in considerazione del fatto che molti partner hanno esaurito i fondi del progetto.

Le mailing list sono state utilizzate costantemente per la diffusione di annunci. La newsletter RNbio. Il sito web di progetto, è stato ulteriormente ampliato inserendo, oltre ad annunci di varia natura, pubblicazioni scientifiche dei partner e newsletter della rete, anche le informazioni sulle attività formative e il relativo materiale didattico.

Nel corso del 2010, sono state pubblicate tre newsletter: una monotematica, dedicata alle attività dei partner su Bioinformatica Clinica e Automazione delle procedure d'analisi dei dati, un numero speciale in inglese che ha racchiuso molti dei contenuti delle prime quattro newsletter, e, infine, una con gli abstract del corso di Computational Intelligence in Oncology Bioinformatics, tenuto come detto a Vietri sul Mare a maggio 2010.

Per quanto riguarda i gruppi di lavoro, la loro attività si è concentrata sulla progettazione delle attività di formazione e sullo sviluppo di nuovi progetti comuni. Va segnalato in particolare che, nel corso del 2010, sono stati sottoposti dai partner della rete alcune richieste di finanziamento, delle quali ancora non si sa l'esito, nati dalla collaborazione di due o più partner della rete. È il caso, ad esempio, dei progetti sottoposti al bando della Ricerca Sanitaria Finalizzata 2009 (con scadenza nel 2010). Sono anche in corso collaborazioni scientifiche tra partner della rete, quali quelle che coinvolgono l'IST e l'ISA per l'analisi di spettri di proteometria di massa, e tra l'IST e l'Oncologico di Bari per l'analisi di dati di microarray.

La rete è stata presentata ad alcuni convegni internazionali, in particolare a BITS 2010 (Settimo Convegno Annuale della Società Italiana di Bioinformatica, 14-16 aprile 2010, Bari), ed ECCB 2010 (9th European Conference on Computational Biology, 26-29 settembre 2010, Gand). Occasioni particolari sono state rappresentate dal 1st Cancer Bioinformatics Workshop, (2-4 settembre 2010, Cambridge), nell'ambito del quale è stata discussa la possibilità di organizzare una seconda edizione workshop con il contributo di RNbio nel 2011, e dal

workshop congiunto NETTAB/BBCC 2010 (29 novembre-1 dicembre 2010, Napoli), i cui tutorial sono stati sostenuti anche con il contributo economico della rete.

Articolazione del progetto

L'articolazione del progetto è descritta nella Tabella 1.

Tabella 1. Articolazione della Rete Nazionale Bioinformatica in oncologia (RNBIO)

Proponente (<i>Cordinatori della rete</i>)	Ente di appartenenza dell'Unità Operativa	Responsabile scientifico dell'Unità Operativa
ISTGE (<i>Paolo Romano</i>) ISS (<i>Marco Crescenzi</i>)	ISTGE	Paolo Romano
	IEO	Francesca Ciccarelli
	INT	Adriano De Carli
	IRE	Giulia Piaggio
	CRO	Valter Gattei
	ITB	Stefania Tommasi
	IOR	Luca Sangiorgi
	Humanitas	Massimo Locati
	HSR	Giovanni Lavorgna
	Istituto di Scienze dell'Alimentazione (CNR)	Angelo Facchiano
	IDI	Giandomenico Russo
	ISS	Paolo Roazzi

Pubblicazioni conseguite nell'ambito del progetto

Il progetto ha prodotto le seguenti pubblicazioni:

1. Arcelli D, Farina A, Cappuzzello C, Bresin A, De Sanctis P, Perolo A, Prandstraller D, Valentini D, Zucchini C, Priori S, Rizzo N. Identification of circulating placental mRNA in maternal blood of pregnancies affected with fetal congenital heart diseases at the second trimester of pregnancy: implications for early molecular screening. *Prenat Diagn* 2010;30:229-34.
2. Ardoino I, Ambrogi F, Iacobelli S, Boracchi P, Manikis G, Kounelakis M, Zervakis M, Lisboa PJG, Fazi P, Vignetti M, Biganzoli EM, Starita A. Evaluation of short- and long-term response to treatment in GIMEMA protocol for acute myeloid leukaemia. *Int J Biomedical Engineering and Technology* 2010;3:329-48.
3. Ardoino I, Miceli R, Berselli M, Mariani L, Biganzoli E, Fiore M, Collini P, Stacchiotti S, Casali PG, Gronchi A. Histology-specific nomogram for primary retroperitoneal soft tissue sarcoma. *Cancer* 2010;116:2429-36.
4. Bacciu D, Biganzoli E, Lisboa PJG, Starita A. Are model-based clustering and neural clustering consistent? A case study from bioinformatics. *KES* 2008;2:181-8.
5. Bagnoli M, Ambrogi F, Pilotti S, Alberti P, Ditto A, Barbareschi M, Galligioni E, Biganzoli E, Canevari S, Mezzanzanica D. Long isoform cellular FLICE inhibitory protein expression defines two ovarian cancer patient subsets and is a prognostic factor of adverse outcome. *Endocr Relat Cancer* 2009;16(2):443-53.
6. Bassani N, Ambrogi F, Bosotti R, Bertolotti M, Isacchi A, Biganzoli E. Non-parametric MANOVA methods for detecting differentially expressed genes in real-time RT-PCR experiments.

- Lecture Notes in Computer Science* (including subseries *Lecture Notes in Artificial Intelligence* and *Lecture Notes in Bioinformatics*) 2010, 6160 LNBI, p. 56-69.
7. Bazzoni F, Rossato M, *et al.* Induction and regulatory function of miR-9 in human monocytes and neutrophils exposed to proinflammatory signals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA* 2009;106:5282-7.
 8. Benedetti D, Bomben R, Dal-Bo M, Marconi D, Zucchetto A, Degan M, Forconi F, Del-Poeta G, Gaidano G, Gattei V. Are surrogates of IGHV gene mutational status useful in B-cell chronic lymphocytic leukemia? The example of Septin-10. *Leukemia* 2008;22(11):224-6.
 9. Bevilacqua V, Chiarappa P, Mastronardi G, Menolascina F, Paradiso A, Tommasi S. Identification of tumour evolution patterns by means of inductive logic programming. *Genomics, Proteomics and Bioinformatics* 2008;6(2):91-7.
 10. Bevilacqua V, Cucci F, Santarcangelo V, *et al.* A New Ontological Probabilistic Approach to the Breast Cancer Problem in Semantic Medicine. In: Huang D, Zhang X, Reyes Garcia C, Zhang L. *Advanced Intelligent Computing Theories and Applications. With Aspects of Artificial Intelligence. Lecture Notes in Computer Science LNCS 6216.* Springer Berlin/Heidelberg 2010:59-68. Available at: http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-14932-0_8.
 11. Bevilacqua V, Pannarale P, Mastronardi G, Azzariti A, Tommasi S, Menolascina F, Iorio F, Di Bernardo D, Paradiso A, Colabufo NA, Berardi F, Perrone R, Tagliaferri R. High-throughput analysis of the drug mode of action of PB28, MC18 and MC70, three cyclohexylpiperazine derivative new molecules. In: Huang D-S, *et al.* (Ed.). *Advanced intelligent computing theories and applications with aspects of contemporary intelligent computing techniques: 4th International Conference on Intelligent Computing, ICIC 2008. Shangai (China); September 2008. Proceedings.* Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag; 2008. p. 1085-92.
 12. Bevilacqua V, Pannarale P. Reverse engineered gene networks reveal markers predicting the outcome of breast cancer. In: De-Shuang H, McGinnity M, Heutte L, Xiao-Ping Z (Ed.) *Advanced Intelligent Computing Theories and Applications.* Berlin, Heidelberg: Springer; 2010 (Volume 93 of *Communications in Computer and Information Science*). p. 214-21
 13. Biganzoli E, Pedriali M, Querzoli P, Nenci I, Iacobelli S, Piantelli M, Alberti S. Sentinel node and bone marrow micrometastases and nanometastases. *Current Breast Cancer Reports* 2010;2:96-106.
 14. Bilous N, Bomben R, Dal Bo M, Capello D, Forconi F, Laurenti L, *et al.* Molecular and clinical features of chronic lymphocytic leukemia with stereotyped B-cell receptors in a Ukrainian cohort. *Leuk Lymphoma* 2010;51:822-38.
 15. Bomben R, Dal Bo M, Capello D, Forconi F, Bertoni F, Maffei R, *et al.* IGHD3-3 fails to behave as unfavourable prognostic marker in chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol* 2010;149:299-302.
 16. Bomben R, Dal Bo M, Capello D, Forconi F, Maffei R, Laurenti L, Rossi D, Del Principe MI, Zucchetto A, Bertoni F, Rossi FM, Bulian P, Cattarossi I, Ilariucci F, Sozzi E, Spina V, Zucca E, Degan M, Lauria F, Del PG, Efremov G, Marasca R, Gaidano G, Gattei V. Molecular and clinical features of chronic lymphocytic leukaemia with stereotyped B cell receptors: results from an Italian multicentre study. *Br J Haematol* 2009;144(4):492-506.
 17. Bomben R, Dal-Bo M, Benedetti D, Capello D, Forconi F, *et al.* Expression of mutated IGHV3-23 genes in chronic lymphocytic leukemia identifies a disease subset with peculiar clinical and biological features. *Clin Cancer Res* 2010;16:620-8.
 18. Bulian P, Gaidano G, Del PG, Gattei V. CD49d expression in chronic lymphocytic leukemia: a prognostic parameter and a therapeutic target. *Future Oncology* 2008;4(3):355-8.
 19. Burger A, Romano P, Paschke A, Splendiani A. Semantic web applications and tools for life sciences, 2008 (Preface). *BMC Bioinformatics* 2009;10(10):S1.

20. Cappuzzello C, Napolitano M, Arcelli D, Melillo G, Melchionna R, Di Vito L, Carlini D, Silvestri L, Brugaletta S, Liuzzo G, Crea F, Capogrossi MC. Gene expression profiles in peripheral blood mononuclear cells of chronic heart failure patients. *Physiol Genomics* 2009;38(3):233-40.
21. Caprini E, Cristofolletti C, Arcelli D, Fadda P, Citterich MH, Sampogna F, Magrelli A, Censi F, Torreri P, Frontani M, Scala E, Picchio MC, Temperani P, Monopoli A, Lombardo GA, Taruscio D, Narducci MG, Russo G. Identification of key regions and genes important in the pathogenesis of sezary syndrome by combining genomic and expression microarrays. *Cancer Res* 2009;69(21):8438-46.
22. Ceccarelli M, d'Acierno A, Facchiano A. A scale space approach for unsupervised feature selection in mass spectra classification for ovarian cancer detection. *BMC Bioinformatics* 2009;10(12):S9.
23. Corradi L, Mirisola V, Porro I, Torterolo L, Fato M, Romano P, Pfeffer U. Survival Online: a web-based service for the analysis of correlations between gene expression and clinical and follow-up data. *BMC Bioinformatics* 2009;10(12):S10.
24. Costantini S, Colonna G, Facchiano AM. FASMA: a service to format and analyze sequences in multiple alignments. *Genomics Proteomics Bioinformatics* 2007;5(3-4):253-5.
25. Costantini S, Facchiano AM. Prediction of the protein structural class by specific peptide frequencies. *Biochimie* 2009;91:226-9.
26. Costantini S, Paladino A, Facchiano AM. CALCOM: A software for calculating the center of mass of proteins. *Bioinformation* 2008;2(7):271-2.
27. D'Imperio M, Della Corte A, Facchiano A, Di Michele M, Ferrandina G, Donati MB, Rotilio D. Standardized sample preparation phases for a quantitative measurement of plasma peptidome profiling by MALDI-TOF. *J Proteomics* 2010;73:1355-67.
28. Dal Bo M, Bretoni F, Forconi F, Zucchetto A, Bomben R, Marasca R, Deraglio S, Laurenti L, Efremov DG, Gaidano G, Del PG, Gattei V. Intrinsic and extrinsic factors influencing the clinical course of B-cell chronic lymphocytic leukemia: prognostic markers with pathogenetic relevance. *J Transl Med* 2009;7:76.
29. Dal Bo M, *et al.* MDM4 (MDMX) is overexpressed in chronic lymphocytic leukaemia (CLL) and marks a subset of p53 wild-type CLL with a poor cytotoxic response to Nutlin-3. *Br J Haematol* 2010;150:237-9.
30. Deambrogi C, De Paoli L, Fangazio M, Cresta S, Rasi S, *et al.* Analysis of the REL, BCL11A, and MYCN proto-oncogenes belonging to the 2p amplicon in chronic lymphocytic leukemia. *Am J Hematol* 2010;85:541-4.
31. Del Poeta G, Del Principe MI, Maurillo L, Rossi FM, Buccisano F *et al.* Spontaneous apoptosis and proliferation detected by BCL-2 and CD71 proteins are important progression indicators within ZAP-70 negative chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2010;51:95-106.
32. Demicheli R, Ardoino I, Boracchi P, Lozza L, Biganzoli E. Ipsilateral breast tumour recurrence (IBTR) dynamics in breast conserving treatments with or without radiotherapy. *Int J Radiat Biol* 2010;86:542-7.
33. Demicheli R, Biganzoli E, Ardoino I, Boracchi P, Coradini D, Greco M, Moliterni A, Zambetti M, Valagussa P, Gukas ID, Bonadonna G. Recurrence and mortality dynamics for breast cancer patients undergoing mastectomy according to estrogen receptor status: Different mortality but similar recurrence. *Cancer Sci* 2010;101:826-30.
34. Erreni M, Bianchi P, *et al.* Expression of chemokines and chemokine receptors in human colon cancer. *Methods in Enzymology* 2009;460:105-21.
35. Facchiano A, Facchiano F. Transglutaminases and their substrates in biology and human diseases: 50 years of growing. *Amino Acids* 2009;36(4):599-614.

36. Faraone D, Aguzzi MS, Toietta G, Facchiano AM, Facchiano F, Magenta A, Martelli F, Truffa S, Cesareo E, Ribatti D, Capogrossi MC, Facchiano A. Platelet-derived growth factor-receptor alpha strongly inhibits melanoma growth *in vitro* and *in vivo*. *Neoplasia* 2009;11:732-42.
37. Farina A, Morano D, Arcelli D, De Sanctis P, Sekizawa A, Purwosunu Y, Zucchini C, Simonazzi G, Okai T, Rizzo N. Gene expression in chorionic villous samples at 11 weeks of gestation in women who develop preeclampsia later in pregnancy: implications for screening. *Prenat Diagn* 2009;29(11):1038-44.
38. Fernandes AS, Jarman IH, Etschells TA, Fonseca JM, Biganzoli E, Bajdik C, Lisboa PJG Stratification methodologies for neural networks models of survival. In: Cabestany J, Sandoval F, Prieto A, Corchado JM (Ed.). *Bio-inspired systems: computational and ambient intelligence, 10th International Work-Conference on Artificial Neural Networks, IWANN 2009, Salamanca, Spain, June 10-12, 2009. Proceedings, Part I*. Berlin / Heidelberg: Springer 2009. (Lecture Notes in Computer Science 5517). p. 989-96.
39. Forconi F, Rinaldi A, Kwee I, Sozzi E, Raspadori D, Rancoita PM, Scandurra M, Rossi D, Deambrogi C, Capello D, Zucca E, Marconi D, Bomben R, Gattei V, Lauria F, Gaidano G, Bertoni F. Genome-wide DNA analysis identifies recurrent imbalances predicting outcome in chronic lymphocytic leukaemia with 17p deletion. *Br J Haematol* 2008;143(4):532-6.
40. Gattei V, Bulian P, Del Principe MI, Zucchetto A, Maurillo L, Buccisano F, Bomben R, Dal-Bo M, Luciano F, Rossi FM, Degan M, Amadori S, Del PG. Relevance of CD49d protein expression as overall survival and progressive disease prognosticator in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2008;111(2):865-73.
41. Green AR, Garibaldi JM, Soria D, Ambrogi F, Powe DG, Ball G, Lisboa P, Boracchi P, Biganzoli E, Ellis IO. Identification of key breast cancer phenotypes. *European Journal of Cancer* 2008;6(7):183.
42. Green AR, Garibaldi JM, Soria D, Ambrogi F, Powe DG, Ball G, Lisboa P, Boracchi P, Biganzoli E, Ellis IO. Identification of Novel clinical phenotypes of breast cancer by immunohistochemical analysis. *Modern Pathology* 2008;21:34a.
43. Green AR, Garibaldi JM, Soria D, Ambrogi F, Powe DG, Ball G, Lisboa P, Boracchi P, Biganzoli E, Ellis IO. Identification and definition of novel clinical phenotypes of breast cancer through consensus derived from automated clustering methods. *Breast Cancer Research* 2008;10:S36.
44. Lacal PM, Tentori L, Muzi A, Ruffini F, Dorio AS, Xu W, Arcelli D, Zhang J, Graziani G. Pharmacological inhibition of poly(ADP-ribose) polymerase activity down-regulates the expression of syndecan-4 and Id-1 in endothelial cells. *Int J Oncol* 2009;34(3):861-72.
45. Levati L, Alvino E, Pagani E, Arcelli D, Caporaso P, Bondanza S, Di Leva G, Ferracin M, Volinia S, Bonmassar E, Croce CM, D'Atri S. Altered expression of selected microRNAs in melanoma: antiproliferative and proapoptotic activity of fmiRNA-155. *Int J Oncol* 2009;35(2):393-400.
46. Lisboa PJG, Etschells TA, Jarman IH, Arsene CT, Aung MS, Eleuteri A, Taktak AF, Ambrogi F, Boracchi P, Biganzoli E. Partial logistic artificial neural network for competing risks regularized with automatic relevance determination. *IEEE Trans Neural Netw* 2009;20(9):1403-16.
47. Lisboa PJG, Jarman IH, Etschells TA, Ambrogi F, Ardoino I, Vignetti M, Biganzoli E. Short-Term Time-to-Event Model of Response to Treatment Following the GIMEMA Protocol for Acute Myeloid Leukemia. In: Masulli F, Micheli A, Sperduti A (Ed.). *Computational intelligence and bioengineering. Essays in Memory of Antonina Starita*. Amsterdam: IOS press; 2009. (Volume 196 Frontiers in Artificial Intelligence and Applications).
48. Lisboa PJG, Vellido A, Tagliaferri R, Napolitano F, Ceccarelli M, Martín Guerrero JD, Biganzoli E. Data Mining in Cancer Research. *IEEE Computational Intelligence Magazine* 2010;5:14-8.
49. Maffei R, Martinelli S, Santachiara R, Rossi D, Guarnotta C et al. Angiopoietin-2 plasma dosage predicts time to first treatment and overall survival in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2010;116:584-92.

50. Marabotti A, Facchiano A. When it comes to homology, bad habits die hard. *Trends Biochem Sci* 2009;34:98-99.
51. Marabotti A, Spyarakis F, Facchiano A, Cozzini P, Alberti S, Kellogg GE, Mozzarelli A. Energy-based prediction of amino acid-nucleotide base recognition. *J Comput Chem* 2008;29(12):1955-69.
52. Marabotti A. Modeling the conformation of side chains in proteins: approaches, problems and possible developments. *Current Chemical Biology* 2008;2:200-14.
53. Menolascina F, Alves RT, Tommasi S, Chiarappa P, Delgado M, Bevilacqua V, Mastronardi G, Freitas A, Paradiso A. Fuzzy rule induction and artificial immune systems in female breast cancer familiarity profiling. *The International Journal of Hybrid Intelligent Systems* 2008;5(3):161-5.
54. Menolascina F, Bellomo D, Maiwald T, Bevilacqua V, Ciminelli C, Paradiso A, Tommasi S. Developing optimal input design strategies in cancer systems biology with applications to microfluidic device engineering. *BMC Bioinformatics* 2009;10(12):S4-S17.
55. Menolascina F, Bevilacqua V, Zarrilli M, Mastronardi G. Induction of fuzzy rules by means of artificial immune systems in bioinformatics. In: Jin Y, Wang L (Ed.). *Fuzzy systems in bioinformatics, bioengineering and computational biology*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag; 2009. p. 1-18.
56. Miele M, Zappa A, Romano P. Transcription factors involved in the maintenance of stem cells: comparative analysis among eucaryotes. In: Bordo D, Masulli F, Muselli M, Romano P (Ed.). *Proceedings of BITS 2009, 6th Annual Meeting of the Bioinformatics Italian Society, March 18-20, 2009, Genova, Italy*. Genova: Liberodiscrivere edizioni; 2009.
57. Mirolò M, Fabbri M, et al. Impact of the anti-inflammatory agent bindarit on the chemokine: selective inhibition of the Monocyte Chemotactic Proteins. *European Cytokine Network* 2008;19:43-6.
58. Monaco A, Menolascina F, Zhao Y, Tommasi S, Sabatino M, Fasano R, Paradiso A, Marincola FM and Wang E. "Sequencing-grade" screening for BRCA1 variants by oligo-arrays. *J Transl Med* 2008;6:64.
59. Monti L, Cinquetti R, Guffanti A, Nicassio F, Cremona M, Lavorgna G, Bianchi F, Vignati F, Cittaro D, Taramelli R, Acquati F. In silico prediction and experimental validation of natural antisense transcripts in two cancer-associated regions of human chromosome 6. *Int J Oncol* 2009;34(4):1099-108.
60. Mutarelli M, Cicatiello L, Ferraro L, Grober OM, Ravo M, Facchiano AM, Angelini C, Weisz A. Time-course analysis of genome-wide gene expression data from hormone-responsive human breast cancer cells. *BMC Bioinformatics* 2008;9(2):S12.
61. Orfanelli U, Wenke AK, Doglioni C, Russo V, Bosserhoff AK, Lavorgna G. Identification of novel sense and antisense transcription at the TRPM2 locus in cancer. *Cell Res* 2008;18(11):1128-40.
62. Rambaldi D, Ciccarelli FD. FancyGene: dynamic visualization of gene structures and protein domain architectures on genomic loci. *Bioinformatics* 2009;25:2281.
63. Rambaldi D, Giorgi FM, Capuani F, Ciliberto A, Ciccarelli FD. Low duplicability and network fragility of cancer genes. *Trends Genet* 2008;24(9):427-30.
64. Recalcati S, Locati M, et al. Differential regulation of iron homeostasis during macrophage polarized activation. *European Journal of Immunology* 2010;40:824-35.
65. Romano P, Crescenzi M. Rete Nazionale di Bioinformatica Oncologica (RNBIO). In: Belardelli F, Romero M, Moretti F. (Ed.). *Programma Straordinario Oncologia 2006. Art. 3 "Rete nazionale solidale e collaborazioni internazionali (ISS per ACC)". Consuntivo dell'attività scientifica (2007-2008)*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2009. (Rapporti ISTISAN 09/1). p. 63-8.

66. Romano P, Crescenzi M. Rete Nazionale di Bioinformatica Oncologica (RNBIO). In: Moretti F, Guderzo A, Ferrigno A, Belardelli F (Ed). *Programma Straordinario Oncologia 2006. Art. 3 "Rete nazionale solidale e collaborazioni internazionali (ISS per ACC)". Consuntivo dell'attività scientifica (2008-2009)*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2010. (Rapporti ISTISAN 10/1). p. 75-83.
67. Romano P, Marra D. SWS: accessing SRS sites contents through Web Services. *BMC Bioinformatics* 2008;9(2):S15.
68. Romano P, Parodi S, Crescenzi M. The Italian Network for Oncology Bioinformatics: goals, methodology and achievements. In: Bordo D, Masulli F, Muselli M, Romano P (Ed.). *Proceedings of BITS 2009, 6th Annual Meeting of the Bioinformatics Italian Society, March 18-20, 2009, Genova, Italy*. Genova: Liberodiscrivere edizioni; 2009.
69. Romano P, Splendiani A. Applications of semantic web methodologies and techniques to biology and bioinformatics. Baroglio C, et al. (Ed.). *Reasoning Web 2008*. Berlin, Heidelberg: Springer Verlag; 2008. (Lecture Notes in Computer Sciences 5224).p. 200-39
70. Romano P. Automation of in-silico data analysis processes through workflow management systems. *Briefings in Bioinformatics* 2008 9(1):57-68.
71. Romano P. Italian Network for Oncology Bioinformatics – RNBIO. In: Facchiano A, Romano P (Ed). *Network tools and applications in biology NETTAB–BBCC 2010 Biological Wikis*. Roma. Aracne editrice srl; 2010. p. 151-2.
72. Rossi D et al. Low CD49d expression and long telomere identify a chronic lymphocytic leukemia subset with highly favourable outcome. *Am J Hematol* 2010;85:619-22.
73. Rossi D et al. Prognostic impact of ZAP-70 expression in chronic lymphocytic leukemia: mean fluorescence intensity T/B ratio versus percentage of positive cells. *J Transl Med* 2010;8:23.
74. Rossi D, Cerri M, Capello D, Deambrogi C, Rossi FM, Zucchetto A, De Paoli L, Cresta S, Rasi S, Spina V, Franceschetti S, Lunghi M, Vendramin C, Bomben R, Ramponi A, Monga G, Conconi A, Magnani C, Gattei V, Gaidano G. Biological and clinical risk factors of chronic lymphocytic leukaemia transformation to Richter syndrome. *Br J Haematol* 2008;142(2):202-15.
75. Rossi D, Cerri M, Deambrogi C, Sozzi E, Cresta S, Rasi S, De Paoli L, Spina V, Gattei V, Capello D, Forconi F, Lauria F, Gaidano G. The prognostic value of TP53 mutations in chronic lymphocytic leukemia is independent of Del17p13: implications for overall survival and chemorefractoriness. *Clin Cancer Res* 2009;15(3):995-1004.
76. Rossi D, De Paoli L, Rossi FM, Cerri M, Deambrogi C, Rasi S, Zucchetto A, Capello D, Gattei V, Gaidano G. Early stage chronic lymphocytic leukaemia carrying unmutated IGHV genes is at risk of recurrent infections during watch and wait. *Br J Haematol* 2008;141(5):734-6.
77. Rossi D, Spina V, Cerri M, Rasi S, Deambrogi C, De Paoli L, Laurenti L, Maffei R, Forconi F, Bretoni F, Zucca E, Agostinelli C, Cabras A, Ludioni M, Martini M, Magni M, Deraglio S, Ladetto M, Nomdedeu JF, Besson C, Ramponi A, Canzonieri V, Paulli M, Marasca R, Larocca LM, Carbone A, Pileri SA, Gattei V, Gaidano G. Stereotyped B-cell receptor is an independent risk factor of chronic lymphocytic leukemia transformation to Richter syndrome. *Clin Cancer Res* 2009;15(13):4415-22.
78. Rossi D, Zucchetto A, Rossi FM, Capello D, Cerri M, Deambrogi C, Cresta S, Rasi S, De PL, Lobetti BC, Bulian P, Del PG, Ladetto M, Gattei V, Gaidano G. CD49d expression is an independent risk factor of progressive disease in early stage chronic lymphocytic leukemia. *Haematologica* 2008;93(10):1575-9.
79. Santarpia L, Sherman SI, Marabotti A, Clayman GL, El-Naggar AK. Detection and molecular characterization of a novel BRAF activated domain mutation in follicular variant of papillary thyroid carcinoma. *Hum Pathol* 2009;40:827-833.

80. Secchiero P, di Iasio MG, Melloni E, Voltan R, Celeghini C, Tiribelli M, Dal Bo M, Gattei V, Zauli G. The expression levels of the pro-apoptotic XAF-1 gene modulate the cytotoxic response to Nutlin-3 in B chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2010;24:480-3.
81. Secchiero P, Melloni E, di Iasio MG, Tiribelli M, Rimondi E, Corallini F, Gattei V, Zauli G. Nutlin-3 up-regulates the expression of Notch1 in both myeloid and lymphoid leukemic cells, as part of a negative feedback antiapoptotic mechanism. *Blood* 2009;113(18):4300-8.
82. Soria D, Garibaldi JM, Ambrogi F, Boracchi P, Raimondi E, Biganzoli E. Cancer profiles by affinity propagation. *International Journal of Knowledge Engineering and Soft Data Paradigms (IJKESDP)* 2009;1(3):195-215.
83. Soria D, Garibaldi JM, Ambrogi F, Green AR, Powe D, Rakha E, Douglas MacMillan R, Blamey RW, Ball G, Lisboa PJ, Etschells TA, Boracchi P, Biganzoli E, Ellis IO. A methodology to identify consensus classes from clustering algorithms applied to immunohistochemical data from breast cancer patients. *Comput Biol Med* 2010;40:318-30.
84. Soria D, Garibaldi JM, Biganzoli E, Ellis IO. A comparison of three different methods for classification of breast cancer data. In: *Proceedings of the Seventh International Conference on Machine Learning and Applications (ICMLA08)*, IEEE Computer Society, 2008. p. 619-24.
85. Syed AS, D'Antonio M, Ciccarelli FD. Network of Cancer Genes: a web resource to analyze duplicability, orthology and network properties of cancer genes. *Nucl Acids Res* 2010;38:D670-675.
86. The LIBI Grid Platform Developers (Mirto M, Epicoco I, Fiore S, Cafaro M, *et al.* incl. Lavorgna G). The LIBI Grid Platform for Bioinformatics. In: Cannataro M (Ed.). *Handbook of research on computational grid technologies for life sciences, biomedicine, and healthcare*, Medical Information Science Reference; 2009. cap. 29.
87. Vellido A, Biganzoli E, Lisboa PJG. Machine learning in cancer research: implications for personalised medicine. In: *Proceedings of ESANN 2008*, 16th European Symposium on Artificial Neural Networks, Bruges, Belgium, April 23-25, 2008. p. 55-64.
88. Voellenkle C, van Rooij J, Cappuzzello C, Greco S, Arcelli D, Di Vito L, Melillo G, Rigolini R, Costa E, Crea F, Capogrossi MC, Napolitano M, Martelli F. MicroRNA signatures in peripheral blood mononuclear cells of chronic heart failure patients. *Physiol Genomics* 2010;42:420-6.
89. Zauli G, di Iasio MG, Secchiero P, Dal Bo M, Marconi D, Bomben R, Del PG, Gattei V. Exposure of B cell chronic lymphocytic leukemia (B-CLL) cells to nutlin-3 induces a characteristic gene expression profile, which correlates with nutlin-3-mediated cytotoxicity. *Curr Cancer Drug Targets* 2009;9(4):510-8.
90. Zibellini S, Capello D, Forconi F, Marcatili P, Rossi D *et al.* Stereotyped patterns of B-cell receptor in splenic marginal zone lymphoma. *Haematologica* 2010;95:1792-6.
91. Zucchetto A *et al.* Monocytes/macrophages but not T lymphocytes are the major targets of the CCL3/CCL4 chemokines produced by CD38(+)CD49d(+) chronic lymphocytic leukaemia cells. *Br J Haematol* 2010;150:111-3.
92. Zucchetto A, Benedetti D, Tripodo C, Bomben R, Dal Bo M, Marconi D, Bossi F, Lorenzon D, Degan M, Rossi FM, Rossi D, Bulian P, Franco V, Del PG, Deaglio S, Gaidano G, Tedesco F, Malavasi F, Gattei V. CD38/CD31, the CCL3 and CCL4 chemokines, and CD49d/vascular cell adhesion molecule-1 are interchained by sequential events sustaining chronic lymphocytic leukemia cell survival. *Cancer Res* 2009;69(9):4001-9.

RETE NAZIONALE TELEPATOLOGIA (TESEO)

Antonino Carbone

Divisione di Patologia, Centro di Riferimento Oncologico, Aviano

Riassunto del Progetto

Obiettivo principale del progetto è quello di costruire una rete nazionale partendo dalle infrastrutture esistenti, assicurando l'armonizzazione e l'integrazione delle risorse nazionali con l'infrastruttura regionale in via di attivazione, sostenendo così una infrastruttura di assistenza e di ricerca nazionale che, nel rispetto del principio di sussidiarietà con le Regioni, possa offrire agli anatomopatologi e agli oncologi italiani, un modello da esportare a livello europeo.

Obiettivi secondari del progetto sono:

- *Sperimentazione del software applicativo di "second opinion"*
Raccomandazioni: la sperimentazione deve essere limitata in ambito intranetwork, con la possibilità di chiamata in causa di uno specifico esperto, ricercando comunque il consenso diagnostico, non trascurando la numerosità dei casi da immettere nel network, abituandosi a trattare con forte senso di collegialità i casi che possono comportare conflittualità di opinione.
- *Controllo di qualità*
In aggiunta a quanto già riportato, si puntualizza il ruolo cruciale che il progetto TESEO può avere all'interno della SIAPEC (Società Italiana di Anatomia Patologica e Citologia diagnostica) per il controllo di qualità (di concerto con il Livello regionale), per la formazione (a distanza e ECM) e per le esperienze di concordanza diagnostica come base di linea guida. Il nuovo sito web SIAPEC potrebbe includere un link con TESEO o ancor meglio con ACC. Il collegamento alla rete, già esistente nell'ambito del Progetto TESEO, con Claudio Clemente, Coordinatore della Commissione Informatica della SIAPEC, e Angelo Paolo Dei Tos, esperto per i Tumori rari, garantirà il coinvolgimento formale della SIAPEC.
- *Ricerca oncologica e impatto internazionale*
Si precisa che a fronte della necessità di un impatto regionale che potrebbe diventare concreto attraverso il progetto di Ricerca Finalizzata presentato dalla regione Piemonte per costruire un network interregionale, appare opportuno e necessario per completare l'architettura telematica immaginata in origine, avere anche un impatto internazionale. Un'opportunità ci è offerta dalla proposta avanzata dall'Alleanza degli Ospedali Italiani nel Mondo in merito ad una collaborazione Internazionale sulla ricerca oncologica tra gli Ospedali Italiani all'estero e gli IRCCS oncologici. Tale proposta prevede fra i soggetti attuatori selezionati, Ospedali Italiani nel mondo (vedi sito del Ministero della Salute per la lista completa) e ACC anche per attività di teleconsulto in istocitopatologia.
- *Formazione operatori e controllo di qualità (SIAPEC)*
Attività di formazione per gli operatori presenti nelle strutture sanitarie che saranno dotate di microscopia virtuale finalizzata ad un corretto e completo utilizzo clinico della strumentazione. L'attività di formazione prevede anche alcune sessioni di lavoro

cooperativo in collaborazione con gli Anatomopatologi degli IRCCS e della SIAPEC al fine di definire e attuare procedure di controllo qualità della prestazione erogata.

– *Histological Clinical Repository*

Si prevede la realizzazione di un repository clinico finalizzato alla gestione di dati clinici strutturati da associare all'immagine digitale e all'interconnessione con altre banche dati istologiche. Verrà inoltre realizzato un apposito motore di ricerca finalizzato alla consultazione avanzata.

Stato generale di sviluppo del progetto e conseguimento dei risultati

L'applicazione di avanzate tecnologie informatiche e telematiche in ambito oncologico ha reso possibile, da qualche tempo a questa parte, la trasmissione a distanza e l'analisi di reperti istocitopatologici che, come noto, rappresentano un elemento di fondamentale importanza ai fini della diagnosi e della classificazione delle neoplasie.

Il sistema, comunemente noto come “telepatologia”, permette la condivisione, tra postazioni fisicamente distanti tra di loro, di immagini istopatologiche che possono essere utilizzate a fine diagnostico (rendendo possibili conferenze diagnostiche finalizzate alla soluzione di casi diagnostici difficili e inconsueti e consulti a distanza, altrimenti detti di “second opinion”), per scopi scientifici (realizzazione di database specialistici), nonché per scopi educativi (*e-learning*) e per l'aggiornamento professionale (diffusione di competenze).

Presso l'INT di Milano sono stati perseguiti alcuni progetti

– *Progetto di controllo qualità per Dual color SISH*

Da luglio 2009 (ancora in corso): 89 vetrini, complessivamente riguardanti 44 casi, comprendenti 44 vetrini colorati tramite Ematossilina Eosina, scannerizzati a 20X, e 45 vetrini delle sezioni corrispondenti, allestiti con Dual SISH (HER2/CR17) scannerizzati a 40X tramite il metodo EFI. (Ref.: Annunziata Gloghini).

– *Studio di fattibilità per un progetto di controllo di qualità nell'interpretazione di preparati di carcinoma della mammella, allestiti con metodica CISH per lo studio dell'amplificazione genica di HER2*

Da maggio 2008 (ancora in corso): 18 vetrini. (Ref.: Annunziata Gloghini).

– *Preparazione di vetri virtuali per lo studio dei pattern di infezione da HPV in carcinomi dell'orofaringe*

Sono stati digitalizzati vetrini di carcinomi dell'orofaringe colorati con Ematossilina & Eosina, immunocolorati per p16 e allestiti mediante ibridizzazione in situ per HPV ad altro rischio. Lo scopo dello studio è quello di verificare i pattern di infezione di HPV (integrato vs episomale) in rapporto ad aspetti istopatologici e/o espressione di p16.

Da marzo 2010 (ancora in corso): 28 vetrini. (Ref.: Annunziata Gloghini).

– *Studio di fattibilità per un progetto di verifica dei pattern osservabili in linfonodi sentinella con metastasi da melanoma*

Lo studio ha lo scopo di registrare i pattern prevalenti (iperplasia follicolare vs iperplasia paracorticale vs noduli paracorticali vs istiocitosi dei seni vs ipotrofia del linfonodo con

fibrosi vs involuzione lipomatosa vs atrofia dei follicoli)osservabili in linfonodi sentinella con metastasi da melanoma.

Da gennaio 2010: 26 vetrini. (Ref.: Annunziata Gloghini)

L'attività presso l'IRCCS di Bari e di Napoli, secondo quanto programmato nell'ultima riunione del Team, è stata, così orientata:

- *Utilizzo della Rete di Telepatologia per controllo della riproducibilità di valutazione di marker oncologici determinati con metodo immunistochemico*
In questa prima fase è stata presa in considerazione l'iperespressione di HER/2 Neu nel carcinoma mammario operabile ed è stato osservato il protocollo in precedenza concordato con il Team.
- *Archiviazione di immagini relative a preparati richiesti da Strutture Sanitarie esterne per consulto*
Si tratta generalmente di preparati citologici in monostrato, unici ed irripetibili, pertanto l'archiviazione dell'immagine assume anche potenziali aspetti di tipo medico-legale, in caso di smarrimento/danneggiamento dei preparati da parte del Richiedente.
- *Attività di Second opinion sia per scansione ed inserimento in rete di casi dell'UO sia per discussione di casi proposti da altri Centri*
È stato osservato il protocollo in precedenza approvato dal Team.
- *Supporto nella documentazione microfotografica dell'attività scientifica dell'UOC per pubblicazioni, abstract, poster e relazioni congressuali.*

Nel corso di questo terzo anno di svolgimento del programma la rete nazionale di Telepatologia tra gli Istituti Oncologici (TESEO) è stata utilizzata presso l'IRCCS di Genova in modo continuativo soprattutto per effettuare un controllo di qualità fra le varie Istituzioni nella valutazione quantitativa dell'oncoproteina HER-2 nel carcinoma mammario infiltrante.

In particolare, la Struttura è stata coinvolta nella rivalutazione a distanza di oltre 20 casi di carcinoma mammario immunocolorati presso altri Centri.

Le valutazioni, confrontate con quelle dei Centri di Provenienza, hanno mostrato una concordanza molto elevata, confermando l'alta qualità della procedura utilizzata e dimostrando grande uniformità di giudizio tra gli operatori dei vari Centri coinvolti.

Inoltre, l'elevata performance di questa attività di revisione ha avuto un ruolo importante nel conferimento della certificazione di qualità al Centro.

Fra gli degli obiettivi perseguiti presso il CRO di Aviano si segnala quello di rendere più affidabile e consueto l'utilizzo del Teleconsulto, con il risultato di diagnosi più affidabili e rapide, di una maggior uniformità diagnostica (e di conseguenza terapeutica) tra le varie sedi coinvolte e di favorire la graduale estensione del progetto a tutte le Regioni italiane.

In quest'ambito si è conclusa con buoni risultati in termini di casi inseriti (circa 4 al mese, per 1 anno, visionabili sul sito <http://rtp.sardegna.it>, (necessario login con pw fornibile) una collaborazione con la Rete Regionale di Telepatologia Oncologica della Sardegna che utilizza la stessa piattaforma tecnologica del presente progetto.

Articolazione del progetto

L'articolazione del progetto è descritta nella Tabella 1.

Tabella 1. Articolazione del Rete Nazionale Telepatologia (TESEO)

Proponente (Coordinatori della rete)	Ente di appartenenza dell'Unità Operativa	Responsabile scientifico dell'Unità Operativa
INT (Antonino Carbone) ISS (Claudio Di Benedetto)	INT	Annunziata Gloghini
	IRE	Ferdinando Marandino
	Pascale	Gerardo Botti
	CRO	Vincenzo Canzonieri
	ITB	Gianni Simone
	IEO	Giuseppe Viale
	Maugeri	Mario Scelsi
	HSR	Claudio Doglioni
	IOR	Marco Alberghini
	CIBIM	Marco Pagani

Pubblicazioni conseguite nell'ambito del progetto

Il progetto ha prodotto le seguenti pubblicazioni:

1. Carbone A, Botti G, Gloghini A, Simone G, Truini M, Curcio MP, Gasparini P, Mangia A, Perin T, Salvi S, Testi A, Verderio P. Delineation of HER2 gene status in breast carcinoma by silver in situ hybridization is reproducible among laboratories and pathologists. *Journal of Molecular Diagnostics* 2008;10:527-536.
2. Gloghini A. Teseo: Le anatomie patologiche in rete. *Garr News* 2010;2:9.
3. Isabelle M, Teodorovic I, Oosterhuis JW, Riegman PH, Passiukov A, Lejeune S, Therasse P, Dinjens WN, Lam KH, Oomen MH, Spatz A, Ratcliffe C, Knox K, Mager R, Kerr D, Pezzella F, Van Damme B, Van de Vijver M, Van Boven H, Morente MM, Alonso S, Kerjaschki D, Pammer J, Lopez-Guerrero JA, Llombart-Bosch A, Carbone A, Gloghini A, Van Veen EB. Tubafrost Consortium. Virtual microscopy in virtual tumor banking. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 2006;587:75-86.
4. Riegman PH, Oomen MH, Dinjens WN, Oosterhuis JW, Lam KH, Spatz A, Ratcliffe C, Knox K, Mager R, Kerr D, Pezzella F, Van Damme B, Van De Vijver M, Van Boven H, Morente MM, Alonso S, Kerjaschki D, Pammer J, Lopez-Guerrero JA, Llombart-Bosch A, Carbone A, Gloghini A, Teodorovic I, Isabelle M, Passiukov A, Lejeune S, Therasse P, Van Veen EB. TuBaFrost: European virtual tumor tissue banking. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 2006;587:65-74.
5. Rizzardi C, Torelli L, Barresi E, Schneider M, Canzonieri V, Biasotto M, Di Lenarda R, Melato M. BUBR1 expression in oral squamous cell carcinoma and its relationship to tumor stage and survival. *Head Neck* 2010 Nov 10 (online prima della stampa).
6. Teodorovic I, Isabelle M, Carbone A, Passiukov A, Lejeune S, Jamine D, Therasse P, Gloghini A, Dinjens WN, Lam KH, Oomen MH, Spatz A, Ratcliffe C, Knox K, Mager R, Kerr D, Pezzella F, van Damme B, van de Vijver M, van Boven H, Morente MM, Alonso S, Kerjaschki D, Pammer J, Lopez-Guerrero JA, Llombart Bosch A, van Veen EB, Oosterhuis JW, Riegman PH. TuBaFrost 6: Virtual microscopy in virtual tumour banking. *European Journal of Cancer* 2006;42:3110-6.

RETE NAZIONALE PER LA CURA E LA RICERCA DEI SARCOMI MUSCOLOSCHIELETRICI

Piero Picci

Dipartimento di Oncologia Muscoloscheletrica, Istituti Ortopedici Rizzoli, Bologna

Riassunto del Progetto

I sarcomi primitivi dell'apparato muscoloscheletrico sono neoplasie rare. I sarcomi dei tessuti molli muscoloscheletrici presentano un'incidenza di 2-3 nuovi casi/100.000 abitanti all'anno e sono caratterizzati da un'estrema varietà di istotipi. Nella fascia d'età pediatrica vi è una prevalenza per il rabdomiosarcoma, mentre in una fascia adulta sarcoma sinoviale, liposarcoma e leiomiomasarcoma sono gli istotipi maggiormente rappresentati. I sarcomi primitivi dello scheletro, ancora più rari di quelli delle parti molli, sono invece prevalentemente rappresentati dall'osteosarcoma (OS) e dai sarcomi della famiglia di Ewing (Ewing's Family of Tumors, EFT). La fascia di età a maggiore incidenza di tali neoplasie è quella compresa fra i 10 e i 20 anni pur potendo comparire a qualsiasi età. Pur non disponendo di un registro nazionale di tali patologie, sulla base dell'esperienza è possibile calcolare che annualmente in Italia assommano a circa 120 le nuove diagnosi di OS (comprese le forme secondarie) e a circa 80 quelle di EFT.

Il trattamento di tali patologie richiede un approccio multidisciplinare (patologico, chemioterapico, chirurgico, radioterapico). I trattamenti chemioterapici, nelle forme scheletriche, sono usualmente somministrati secondo modalità neoadiuvante con trattamenti successivi al trattamento locale in genere basati sulla risposta istologicamente valutata sul pezzo di resezione. Nelle forme dei tessuti molli l'uso primario della chemioterapia è ad oggi oggetto di studio.

Il trattamento locale è nella stragrande maggioranza dei casi di tipo chirurgico e pone significativi problemi di tipo ricostruttivo nelle forme scheletriche specie in età pediatrica. Il trattamento radioterapico rappresenta nelle forme dei tessuti molli uno standard per consolidare il controllo locale dopo chirurgia. Nelle forme scheletriche è riservato ad una minoranza di pazienti con EFT e pone significativi problemi legati alla fascia di età in cui la malattia maggiormente incide e spesso si deve embriacare a trattamenti chemioterapici particolarmente complessi.

L'insieme di tali problemi ha fatto sì che tali patologie siano da sempre trattate in pochi centri che hanno maturato una significativa esperienza in materia.

L'Istituto Ortopedico Rizzoli raccoglie e tratta circa il 60% dei nuovi casi diagnosticati annualmente di sarcomi primitivi dello scheletro. Lo stesso Istituto e l'INT di Milano raccolgono e trattano circa i due terzi dei pazienti con sarcomi ad alto grado dei tessuti molli arruolati nei protocolli nazionali e internazionali che nel tempo si sono succeduti e nel protocollo attualmente in corso.

Studi clinici nazionali finanziati dal CNR sono stati attribuiti all'Istituto Ortopedico Rizzoli sin dal 1978.

Obiettivi del progetto sono:

- consolidare una rete collaborativa nazionale di Istituti specificamente interessati e dedicati al trattamento multidisciplinare dei sarcomi primitivi dell'apparato

muscoloscheletrica, rete che di fatto comprende già tutti gli IRCCS con interessi oncologici nel campo muscolo-scheletrico;

- definire protocolli di ricerca clinica specifici per istotipo, stadio di malattia e particolari caratteristiche di neoplasia;
- creare una struttura di supporto tecnico-organizzativo ai protocolli che verranno prodotti e condotti nell'ambito della rete collaborativa.

Stato generale di sviluppo del progetto e conseguimento dei risultati

Nel corso del terzo anno di attività, il data bank creato negli anni precedenti e che risiede nell'area riservata del sito web dell'ISG (*Italian Sarcoma Group*), all'indirizzo <http://www.isg-area-riservata.org/dh/>, è divenuto pienamente attivo, a disposizione di tutti i membri del gruppo, per l'inserimento dei pazienti negli studi clinici.

Sono stati formalizzati i panel di:

- Patologi per i tumori dell'osso, coordinato da M. Alberghini, di Bologna
- Patologi per i tumori delle parti molli, coordinato da A.P. dei Tos
- Radiologi, coordinato dall'INT di Milano

I panel si riuniscono periodicamente per la revisione dei casi che fanno parte dei protocolli clinici.

Sono stati attivati i nuovi protocolli nazionali per il sarcoma di Ewing sia nelle forme localizzate che metastatiche.

Sono in fase di avviamento sia il nuovo protocollo nazionale sull'osteosarcoma che il nuovo protocollo internazionale (con gruppo francese e spagnolo) sui sarcomi delle parti molli.

Oltre alle linee guida sull'osteosarcoma, già preparate nel 2009, sono state definite le linee guida per il sarcoma di Ewing che presto saranno ufficializzate. Inoltre, si è contribuito alla definizione delle linee guida AIOM sui sarcomi delle parti molli nonché ai relativi aggiornamenti annuali.

Articolazione del progetto

L'articolazione del progetto è descritta nella Tabella 1.

Tabella 1. Articolazione della Rete nazionale per la cura e la ricerca dei sarcomi muscolo scheletrici

Proponente (<i>Cordinatori della rete</i>)	Ente di appartenenza dell'Unità Operativa	Responsabile scientifico dell'Unità Operativa
IOR (<i>Piero Picci</i>)	IOR	Piero Picci
	IOR	Stefano Ferrari

Pubblicazioni conseguite nell'ambito del progetto

Il progetto ha prodotto le seguenti pubblicazioni:

1. Ferrari S, Alvegard T, Luksch R, Tienghi A, Hall KS, Bernini G, Brach del Prever A, Picci P, Bacci G, Smeland S. Non-metastatic Ewing's family tumors: high-dose chemotherapy with stem cell rescue in poor responder patients. Preliminary results of the Italian/Scandinavian ISG/SSG III protocol. *J Clin Oncol* 2007;25:548.
2. Ferrari S, Cefalo G, Tamburini A, Comandone A, Fagioli F, Casali PG, Bisogno G, Mercuri M, Picci P, Bacci G. Nonmetastatic osteosarcoma of the extremity: Neoadjuvant chemotherapy with methotrexate, cisplatin, doxorubicin with or without ifosfamide – A randomized trial of the Italian Sarcoma Group (ISG/OS-1). *J Clin Oncol* 2010;28:9506.
3. Ferrari S, Sundby Hall K, Luksch R, Tienghi A, Wiebe T, Fagioli F, Alvegard TA, Brach Del Prever A, Tamburini A, Alberghini M, Gandola L, Mercuri M, Capanna R, Mapelli S, Prete A, Carli M, Picci P, Barbieri E, Bacci G, Smeland S. Nonmetastatic Ewing family tumors: high-dose chemotherapy with stem cell rescue in poor responder patients. Results of the Italian Sarcoma Group/Scandinavian Sarcoma Group III protocol. *Ann Oncol* 2010 Nov 8 (online prima della stampa)
4. Grignani G, Palmerini E, Stacchiotti S, Boglione A, Ferraresi V, Frustaci S, Comandone A, Casali PG, Ferrari S, Aglietta M. A phase 2 trial of imatinib mesylate in patients with recurrent nonresectable chondrosarcomas expressing platelet-derived growth factor receptor- α or - β : an Italian Sarcoma Group study. *Cancer* 2010 Oct 5 (online prima della stampa)
5. Gronchi A, Frustaci S, Mercuri M, Martin Broto J, Lopez-Pousa A, Mariani L, Verderio P, Quagliolo V, Casali PG, Picci P. Localized, high-risk soft tissue sarcomas of the extremities and trunk wall in adults: Three versus five cycles of full-dose anthracyclin and ifosfamide adjuvant chemotherapy: A phase III randomized trial from the Italian Sarcoma Group (ISG) and Spanish Sarcoma Group (GEIS). *J Clin Oncol* 2010;28:10003.
6. Gronchi A, Judson I, Nishida T, Poveda A, Martin J, Reichardt P, Casali PG, Cesne AL, Hohenberger P, Blay JY. Adjuvant treatment of GIST with imatinib: solid ground or still quicksand? A comment on behalf of the EORTC Soft Tissue and Bone Sarcoma Group, the Italian Sarcoma Group, the NCRI Sarcoma Clinical Studies Group (UK), the Japanese Study Group on GIST, the French Sarcoma Group and the Spanish Sarcoma Group (GEIS). *Eur J Cancer* 2009;45:1103-6.
7. Le Cesne A, Van Glabbeke M, Verweij J, Casali PG, Findlay M, Reichardt P, Issels R, Judson I, Schoffski P, Leyvraz S, Bui B, Hogendoorn PC, Sciot R, Blay JY. Absence of progression as assessed by response evaluation criteria in solid tumors predicts survival in advanced GI stromal tumors treated with imatinib mesylate: the intergroup EORTC-ISG-AGITG phase III trial. *J Clin Oncol* 2009;27:3969-74.
8. Sciot R, Debiec-Rychter M, Daugaard S, Fisher C, Collin F, van Glabbeke M, Verweij J, Blay JY, Hogendoorn PC; EORTC Soft Tissue and Bone Sarcoma Group; Italian Sarcoma Group; Australasian Trials Group. Distribution and prognostic value of histopathologic data and immunohistochemical markers in gastrointestinal stromal tumours (GISTs): An analysis of the EORTC phase III trial of treatment of metastatic GISTs with imatinib mesylate. *Eur J Cancer* 2008;44:1855-60.
9. Verweij J, Casali PG, Kotasek D, Le Cesne A, Reichard P, Judson IR, Issels R, van Oosterom AT, Van Glabbeke M, Blay JY. Imatinib does not induce cardiac left ventricular failure in gastrointestinal stromal tumours patients: analysis of EORTC-ISG-AGITG study 62005. *Eur J Cancer* 2007;43:974-8.

Presentazioni a Meeting nazionali e/o internazionali:

1. Ferrari S, Luksch R, Sundby Hall K, Tienghi A, Fagioli F, Smeland S, Folini A, Barbieri E, Mercuri M, Picci P. Ewing sarcoma with lung and/or single bone metastases: Results of the

- Italian Sarcoma Group and Scandinavian Sarcoma Group study IV (ISG/SSG IV). In: *CTOS 16th Annual Meeting*, Parigi, 11-13 novembre 2010.
2. Grignani G, Palmerini E, Di Leo P, Dorin Asaftei S, D'Ambrosio L, Picci P, Mercuri M, Fagioli F, Casali P, Ferrari S, Aglietta M. A Phase II trial of sorafenib in relapsed and non-resectable high-grade osteosarcoma after failure of standard therapy: An Italian Sarcoma Group study. In: *CTOS 16th Annual Meeting*, Parigi, 11-13 novembre 2010.

PROGRAMMA 3

**Trasferimento delle conoscenze allo sviluppo di interventi
volti a prevenire, diagnosticare e trattare il cancro:
presentazione dei progetti**

Coordinatori

Filippo Belardelli, Pier Giuseppe Pelicci

ARTICOLAZIONE DEL PROGRAMMA

Il Programma 3, “Trasferimento delle conoscenze allo sviluppo di interventi volti a prevenire, diagnosticare e trattare il cancro (trial nazionali in terapie innovative e in prevenzione, e in terapie non d’interesse industriale in collaborazione con AIFA)” – coordinato da F. Belardelli (ISS) e P.G. Pelicci (IEO) –, si prefigge di promuovere lo sviluppo di terapie innovative in oncologia stimolando l’avvio di studi clinici di fase I che in Italia sono sensibilmente inferiori in numero rispetto ad altri Paesi avanzati. È quindi prioritario avviare un progetto nazionale (*task force*) che possa favorire la promozione del trasferimento alla clinica dei risultati della ricerca di base e pre-clinica (con particolare riferimento all’identificazione di marcatori biologici e molecolari di predizione della risposta alle nuove terapie) e lo sviluppo di sperimentazioni di terapie oncologiche innovative (studi di fase I e I-II su nuovi farmaci cellulari e molecolari e sulla combinazione con chemioterapia o radioterapia).

Il Programma 3 sostiene interventi di ricerca finalizzata allo sviluppo di strategie innovative per la terapia e la prevenzione secondaria dei tumori articolandosi su due aree tematiche principali: i) Terapie innovative antitumorali con nuove molecole; ii) Bioterapia dei tumori.

I progetti, selezionati per il finanziamento mediante ricorso a valutazioni di esperti indipendenti, insieme con l’indicazione del destinatario istituzionale proponente e delle unità operative partecipanti, sono elencati nella Tabella 1.

Tabella 1. Progetti finanziati nell’ambito del Programma 3 (Finanziamento: 16.000.000 €)

Titolo del progetto	Coordinatori (ente di appartenenza)
Nuove molecole dell’infiammazione: trasferimento dal laboratorio al letto del paziente	Alberto Mantovani (Humanitas)
Base molecolare delle malattie mieloproliferative croniche e sviluppo di nuove terapie	Mario Cazzola (S. Matteo)
Immunoterapia con il peptide EGFRvIII nel Glioblastoma multiforme e in altri tumori solidi	Gaetano Finocchiaro (Besta)
Sviluppo vaccini idiotipici per studi di fase I-II di immunoterapia “subset specifica” per pazienti con disordini linfoproliferativi a cellule b	Riccardo Dolcetti (CRO)
Applicazione della chemioterapia alla rimodulazione della risposta immune antitumorale: studio dei meccanismi e <i>proof-of-concept</i> nell’uomo	Enrico Proietti (ISS)
Identificazione di marcatori per la predizione della risposta a nuovi farmaci antitumorali (inibitori di HDAC, tirosina chinasi e pompe ioniche)	Pier Giuseppe Pelicci (IEO)
Il microambiente tumorale come bersaglio terapeutico	Alessandro M. Gianni (INT)
Sviluppo di nuovi farmaci capaci di alterare il microambiente tumorale e ripristinare la risposta immune anti-tumorale	Vincenzo Bronte (IOV)
Recettori per Chemochine come marcatori biologici e molecolari di risposta clinica e target diagnostico terapeutico	Stefania Scala (Pascale)
Sviluppo di nuove terapie nei sarcomi muscoloscheletrici: immunoterapia e target terapia a confronto.	Piero Picci (IOR)
Terapie biologiche combinate e personalizzate nei tumori solidi: Studi di fase I-II	Giorgio Parmiani (HSR)
Nuove molecole e peptidi quali farmaci regolatori del ciclo cellulare e della risposta a chemioterapici nei tumori epiteliali e cutanei	Gerry Melino (IDI)

NUOVE MOLECOLE DELL'INFIAMMAZIONE: TRASFERIMENTO DAL LABORATORIO AL LETTO DEL PAZIENTE

Alberto Mantovani

Direzione Scientifica, Istituto Clinico Humanitas, Rozzano, Milano

Riassunto del Progetto

La scoperta del legame tra infiammazione e maggior rischio di cancerogenesi e progressione del tumore, ha aperto la possibilità di utilizzare molecole associate all'infiammazione quali possibili marcatori biologici per monitorare i pazienti (valenza diagnostica/prognostica), e anche di utilizzare i componenti dell'infiammazione cancro-relata come bersagli di terapie (valenza terapeutica) che si basano su strategie totalmente innovative.

L'obiettivo centrale di questo studio è di tradurre la nostra conoscenza sul nesso tra infiammazione e cancro in metodi utili a prevenire, diagnosticare e trattare i tumori. Questo progetto si basa su una forte tradizione collaborativa esistente fra diversi IRCCS e strutture ospedaliere, collocate in varie aree del Paese, ed è guidata da tre Istituzioni di ricerca.

La prima Istituzione, che coordina il progetto, è l'Istituto Clinico Humanitas (IRCCS ICH), i cui scienziati hanno contribuito ad aprire la strada alla comprensione dei collegamenti fra infiammazione e progressione del tumore. I mediatori infiammatori ed antinfiammatori in studio sono stati scoperti/caratterizzati da questo gruppo (es. PTX3, TIR8/SIGIRR, CX3CR1).

La seconda istituzione è l'Istituto Tumori di Milano (IRCCS INT). Le attività di questa unità si sono sviluppate nel tentativo di approfondire la conoscenza del ruolo degli oncogeni nell'attivazione delle vie pro-infiammatorie, traendo vantaggio dei database disponibili del profilo genetico dei tumori umani.

La terza istituzione è l'IRCCS Istituto Tumori Giovanni Paolo II, di Bari, i cui scienziati hanno grande esperienza nella caratterizzazione dei signalling pathways che sostengono la neo-angiogenesi tumorale.

L'obiettivo principale di questo progetto è il trasferimento clinico delle conoscenze sin qui acquisite sulle molecole infiammatorie da utilizzarsi quali potenziali biomarcatori diagnostici/prognostici e come co-adiuvatori delle terapie anti-tumorali convenzionali. Caratteristica saliente di questo progetto è la focalizzazione su molecole originali dell'infiammazione scoperte e/o caratterizzate dal gruppo proponente IRCCS Humanitas.

Il programma si è articolato seguendo diverse linee di ricerca:

- ruolo della proteina infiammatoria PTX3 nei tumori e suo utilizzo diagnostico/terapeutico in pazienti neoplastici;
- nuovi marcatori diagnostici/prognostici dei tumori: l'asse chemochinico CX3CR1/CX3CL1;
- nuovi marcatori diagnostici/prognostici dei tumori: TIR8 quale trasduttore negativo dell'infiammazione
- impatto dell'infiammazione indotta da chirurgia nella progressione tumorale;
- infiammazione mediata da oncogeni nei carcinomi umani: identificazione di molecole di interesse clinico;

- caratterizzazione del ruolo dei mastociti e dei suoi enzimi nell'angiogenesi tumorale e validazione di nuovi bersagli terapeutici
- inibizione dello "switch angiogenico" interferendo con i signaling pathways di PDGF e VEGF

Stato generale di sviluppo del progetto e conseguimento dei risultati

L'attività di ricerca del terzo anno per la rete collaborativa coordinata dall'IRCCS Istituto Clinico Humanitas si è sviluppata secondo varie linee afferenti alle diverse unità. La UO Mantovani ha focalizzato le sue ricerche su due molecole importanti della risposta infiammatoria cancro-relata: la proteina PTX3, che appartiene alla famiglia delle proteine di fase acuta, e la chemochina Fractalkine (CX3CL1) con il suo recettore (CX3CR1). Questo asse chemochinico è stato studiato in alcuni tipi di tumori: carcinomi del colon retto, gliomi e carcinomi del pancreas.

Nel colon retto, l'espressione nelle cellule tumorali di CX3CL1 diminuisce con l'avanzamento della malattia dallo stadio 1 allo stadio 3. È interessante notare che la doppia espressione di Fractalkine e del suo recettore nel tumore è associata ad un aumento del disease-free survival e dell'overall survival, nei pazienti non metastatici. Studi nel carcinoma del pancreas (UO Laghi) hanno dimostrato che la presenza del ligando CX3CL1, in assenza del recettore, è invece associata ad una ridotta probabilità di invasione nodale e, in un sottogruppo poco differenziato, di invasione vascolare. Pazienti con tumori esprimenti le due molecole, invece, vivono più a lungo di pazienti con tumori negativi. Infine le lesioni precoci (PanIN) esprimono CX3CR1 che aumenta significativamente da PanIN1 a PanIN3. Si è quindi stabilito che CX3CR1 è già espresso nei tessuti pre-neoplastici e può indicarsi quale marker potenziale e precoce di cancro pancreatico. Sempre nei tumori del colon retto sono stati studiati marcatori di malattia e di progressione (UO Spagnoli/Pucci) (Ku70, Ku80, Clusterina) e l'effetto di IL-6 e di VEGF165a sulla regolazione dell'espressione genica. Mediante utilizzo di microRNAs profiling si è trovato che membri della famiglia mir-200, coinvolti nella transizione epiteliomesenchimale, e mir 449, target di HDAC, vengono inibiti. Anche la UO Montorsi ha studiato nei pazienti con cancro coloretale i livelli circolanti di citochine infiammatorie, con particolare riferimento all'effetto provocato dallo stress chirurgico (tecnica laparoscopica vs "open surgery").

La proteina infiammatoria PTX3 è stata studiata in pazienti leucemici sottoposti a trapianto allogenico di cellule staminali ematopoietiche (UO Biondi) che sviluppavano Graft-versus-Host Disease (GVHD). I livelli circolanti di PTX3 sono più elevati nei casi severi di GVHD. PTX3, quindi potrebbe essere utile quale biomarcatore di malattia e per monitorare la risposta terapeutica dei pazienti. L'UO Rambaldi ha misurato i livelli circolanti di PTX3 in pazienti con Policitemia Vera e Trombocitemia Essenziale, due neoplasie mieloproliferative croniche con alta incidenza di gravi complicanze vascolari. Livelli elevati di PTX3 sono associati ad un numero minore di eventi trombotici. Anche la UO Manfredi ha studiato PTX3 nel carcinoma ovarico umano e murino. La concentrazione di PTX3 nel liquido ascitico e nel siero delle pazienti è influenzata dal trattamento chemioterapico. PTX3 gioca un ruolo importante nell'eliminazione di cellule neoplastiche apoptotiche.

Le due unità di IRCCS-INT hanno svolto la loro attività di ricerca nel terzo anno sviluppando un'analisi del cross-talk tra diversi oncogeni (RET/PTC ed altri recettori tirosin-chinasici) e l'asse EGF-EGFR nella carcinogenesi tiroidea. Il circuito di segnalazione

TGFA/EGFR è significativamente associato a carcinomi papillari avanzati della tiroide con mutazioni BRAF e RET/PTC. La UO Borrello ha caratterizzato l'infiltrato linfomonocitario dei tumori e il loro eventuale ruolo pro-tumorigenico. I dati preliminari indicano una associazione tra presenza di cellule CD68⁺ e progressione della malattia. È in corso la valutazione dei microRNA espressi nei tumori tiroidei. L'analisi bioinformatica ha consentito di attribuire un ruolo oncosoppressivo al miR199-3p in modelli cellulari esprimenti RET/PTC1. Studi computazionali e/o funzionali suggeriscono che MET e IKKbeta siano possibili bersagli dell'attività repressiva del miR199-3p nel contesto della tiroide e che la sua down-regolazione attivi il programma pro-infiammatorio dettato da oncogeni associati a PTC. La UO Canevari ha focalizzato gli studi sul secretoma conseguente all'attivazione di EGFR nel carcinoma ovarico, identificando un sottogruppo di tumori in cui è evidente l'associazione tra un secretoma pro-infiammatorio (esprimente IL-6 e PAI-1) e la fosforilazione di EGFR. Mediante analisi computazionale su un data set di espressione genica di carcinomi ovarici avanzati è stata identificata una firma molecolare di geni associati a motilità e proliferazione, suggerendo quindi che i tumori con EGFR fosforilato e con secretoma IL-6 e PAI-1 hanno un fenotipo particolarmente aggressivo.

Le attività dell'IRCCS Istituto Tumori "Giovanni Paolo II" hanno interessato lo studio dell'angiogenesi del micro ambiente tumorale. La UO Ranieri ha studiato i mastociti che producono VEGF, triptasi e chimasi capaci di indurre il *pathway* angiogenetico nel microambiente tumorale. In un modello di mastocitoma canino sono state studiate le relazioni tra mastociti, degranulazione con liberazione di fattori pro-angiogenetici ed espressione di *c-kit receptor*. Inoltre è stata esplorata l'attività pro-angiogenetica della triptasi in pazienti affetti da carcinoma della mammella e carcinoma del colon. I dati ottenuti suggeriscono che i mastociti stimolano l'angiogenesi e costituiscono un importante bersaglio di terapia. Lo stato di espressione morfo-funzionale di *c-kit receptor* si correla all'incremento dell'attività angiogenetica. Pertanto l'inibizione dell'attivazione mastocitaria attraverso il *c-kit receptor* a mezzo di molecole come il sunitinib, masitinib o toceranib, potrebbe inibire l'attività angiogenetica. L'inibizione della triptasi da parte di molecole del tipo gabexato potrebbe costituire un ulteriore approccio anti-angiogenetico. La UO Vacca ha studiato il signaling dei pathways angiogenetici nelle cellule endoteliali di mieloma multiplo (MMECs), dimostrando che l'attivazione del VEGFR-2 regolava, attraverso c-Src, l'attività catalica e il turnover di proteine coinvolte nella trascrizione di geni pro-angiogenici (VEGF, IL-6, Ang1, Ang2, IGF-1). Tale studio ha permesso di delineare nuovi bersagli molecolari per terapie anti-angiogeniche mirate. Per valutare l'esistenza di interazioni funzionali tra VEGFR-2/c-Src/beta-catenina, responsabili della proliferazione endoteliale, è stata eseguita un'analisi proteomica sui lisati cellulari di MMECs. La ridotta espressione di c-Src (mediante l'utilizzo di siRNA) è stata correlata ai livelli di fosforilazione delle chinasi ERK1/2 e STAT, all'attivazione di beta-catenina ed espressione di VEGF-A e alla formazione di adesioni focali tra MMECs e la matrice. È stata inoltre valutata *in vitro* ed *in vivo* l'azione di agenti antiangiogenici, quali Talidomide, Bortezomib e BMS-354825 (inibitore di c-Src), mediante l'utilizzo di specifici tests funzionali. La complementarità degli approcci sperimentali (molecolare e farmacologico) ha permesso di dimostrare significativi cambiamenti nel network delle interazioni proteina-proteina indotti specificamente da BMS-354825, che si rivela come potenziale agente antiangiogenico, con azione specifica sulle MMECs.

Articolazione del progetto

L'articolazione del progetto è descritta nella Tabella 1.

Tabella 1. Articolazione del progetto Nuove molecole dell'infiammazione: trasferimento dal laboratorio al letto del paziente

Proponente (Cordinatore del progetto)	Unità Operativa (UO) (ente di appartenenza: responsabile)	Gruppi di ricerca afferenti	Responsabile scientifico del gruppo
Humanitas (Alberto Mantovani)	UO1 (Humanitas: Alberto Mantovani)	Humanitas	Alberto Mantovani
		Humanitas	Luigi Laghi
		Humanitas	Marco Montorsi
		Centro M. Tettamanti	Andrea Biondi
		Ospedali Riuniti di Bergamo	Alessandro Rambaldi
		HSR	Angelo Manfredi
	UO2 (INT: Silvana Canevari)	Università di Roma Tor Vergata	Sabina Pucci
		INT	Silvana Canevari
		INT	Maria Grazia Borrello
UO3 (ITB: Girolamo Ranieri)	ITB	Girolamo Ranieri	
	Università di Bari	Angelo Vacca	

Publicazioni conseguite nell'ambito del progetto

Il progetto ha prodotto le seguenti pubblicazioni:

- Allavena P, Garlanda C, Borrello MG, Sica A, Mantovani A. Pathways connecting inflammation and cancer. *Curr Opin Genet Dev* 2008;18(1):3-10.
- Allavena P, Sica A, Garlanda C, Mantovani A. The Yin-Yang of tumor-associated macrophages in neoplastic progression and immune surveillance. *Immunol Rev* 2008;222:155-61.
- Allavena P, Sica A, Solinas G, Porta C, Mantovani A. The inflammatory micro-environment in tumor progression: the role of tumor-associated macrophages. *Crit Rev Oncol Hematol* 2008;66(1):1-9.
- Balduzzi A, Lucchini G, Hirsch HH, Basso S, Cioni M, Rovelli A, Zincone A, Grimaldi M, Corti P, Bonanomi S, Biondi A, Locatelli F, Biagi E, Comoli P. Polyomavirus JC-targeted T-cell therapy for progressive multiple leukoencephalopathy in a hematopoietic cell transplantation recipient. *Bone Marrow Transplant* 2010, Oct 4 (online prima della stampa)
- Balkwill F, Mantovani A. Cancer and inflammation: implications for pharmacology and therapeutics. *Clin Pharmacol Ther* 2010;87:401-6.
- Barbui T, Carobbio A, Rambaldi A, Finazzi G. Perspectives on thrombosis in essential thrombocythemia and polycythemia vera: is leukocytosis a causative factor? *Blood* 2009;114(4):759-63.
- Barbui TA, Carobbio G, Finazzi A, Vannucchi M, Barosi G, Antonioli E, Guglielmelli P, Pancrazi A, Salmoiraghi S, Zilio P, Ottomano C, Marchioli R, Cuccovillo I, Bottazzi B, Mantovani A, Rambaldi A. Inflammation and thrombosis in Essential Thrombocythemia and Polycythemia Vera: different role of c-reactive protein and pentraxin. *Hematologica* (in corso di stampa).
- Bardini M, Galbiati M, Lettieri A, Bungaro S, Gorletta TA, Biondi A, Cazzaniga G. Implementation of array based whole-genome high-resolution technologies confirms the absence of secondary copy-number alterations in MLL-AF4-positive infant ALL patients. *Leukemia* 2011;25:175-8.
- Bardini M, Spinelli R, Bungaro S, Mangano E, Corral L, Cifola I, Fazio G, Giordan M, Basso G, De Rossi G, Biondi A, Battaglia C, Cazzaniga G. DNA copy-number abnormalities do not occur in infant ALL with t(4;11)/MLL-AF4. *Leukemia* 2010;24:169-76.

10. Biagi E, Col M., Migliavacca M, Dell'Oro M, Silvestri D, Montanelli A, Peri G, Mantovani A, Biondi A and Rossi MR. PTX3 as a potential novel tool for the diagnosis and monitoring of pulmonary fungal infections in immuno-compromised pediatric patients. *J Pediatr Hematol Oncol* 2008;30(12):881-5.
11. Biswas SK, Mantovani A. Macrophage plasticity and interaction with lymphocyte subsets: cancer as a paradigm. *Nat Immunol* 2010;11:889-96.
12. Bonanno E, Rulli F, Galatà G, Pucci S, Sesti F, Farinon AM, Spagnoli LG. Stool test for colorectal cancer screening: what is going on? *Surg Oncol* 2007;16:S43-5.
13. Borrello MG, Degl'innocenti D, Pierotti MA. Inflammation and cancer: the oncogene-driven connection. *Cancer Lett* 2008 267:262-70.
14. Carobbio A, Antonioli E, Guglielmelli P, et al. Leukocytosis and Risk Stratification Assessment in Essential Thrombocythemia. *J Clin Oncol* 2008;26(16):2732-6.
15. Carobbio A, Finazzi G, Antonioli E, et al. JAK2V617F allele burden and thrombosis: A direct comparison in essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Exp Hematol* 2009;37(9):1016-21.
16. Carobbio A, Finazzi G, Antonioli E, et al. Thrombocytosis and leukocytosis interaction in vascular complications of essential thrombocythemia. *Blood* 2008;112:3135-7.
17. Cassinelli G, Favini E, Degl'Innocenti D, Salvi A, De Petro G, Pierotti MA, Zunino F, Borrello MG, Lanzi C. RET/PTC1-driven neoplastic transformation and proinvasive phenotype of human thyrocytes involve Met induction and beta-catenin nuclear translocation. *Neoplasia* 2009;11:10-21.
18. Castiglioni A, Canti V, Rovere-Querini P, Manfredi AA. High-mobility group box 1 (HMGB1) as a master regulator of innate immunity. *Cell Tissue Res* 2011;343:189-99.
19. Coluccia AML, Cirulli T, Neri P, Mangieri D, Colanardi MC, Gnoni A, Di Renzo N, Tassone P, Ribatti D, Dammacco F, Gambacorti-Passerini C, Vacca A. Validation of PDGFR β and c-Src tyrosine kinases as tumor/vessel targets in patients with multiple myeloma: preclinical efficacy of the novel, orally available inhibitor dasatinib (BMS-354825/Sprycel®). *Blood* 2008;112:1346-56.
20. Dander E, Balduzzi A, Zappa G, Lucchini G, Perseghin P, Andrè V, Todisco E, Rahal D, Migliavacca M, Longoni D, Solinas G, Villa A, Berti E, Mina PD, Parma M, Allavena P, Biagi E, Rovelli A, Biondi A, D'Amico G. Interleukin-17-producing T-helper cells as new potential player mediating graft-versus-host disease in patients undergoing allogeneic stem-cell transplantation. *Transplantation* 2009;88:1261-72.
21. Dander E, Cuccovillo I, Vinci P, Bonanomi S, Di Maio L, Lucchini G, Migliavacca M, Perseghin P, Rovelli A, Balduzzi A, Mantovani A, Bottazzi B, Biondi A, D'Amico G. Pentraxina-3: Un marcatore solubile di facile misurazione utile per predire e monitorare la Graft versus Host Disease post-trapianto. I Congresso AIEOP in lab, 22-23 ottobre 2009. *Pediatric Reports* 2009;1:s1.
22. Danese S, Laghi L, Repici A, Malesci A. Colorectal cancer screening: dying en route? *Dig Liver Dis* 2010;42:350-1.
23. De Luisi A, Mangialardi G, Ria R, Acuto G, Ribatti D, Vacca A. Antiangiogenic activity of carebazine: a plausible mechanism affecting airway remodelling. *Eur Resp J* 2009;34:958-66.
24. Degl'Innocenti DC, Alberti G, Castellano A, Greco C, Miranda MA, Pierotti E, Seregni MG, Borrello S, Canevari A, Tomassetti. Integrated ligand-receptor bioinformatic and *in vitro* functional analysis identifies active TGFA/EGFR signaling loop in papillary thyroid carcinomas. *PLoS One* 2010;5:e12701.
25. Di Comite G, Previtali P, Rossi CM, Dell'Antonio G, Rovere-Querini P, Praderio L, Dagna L, Corti A, Doglioni C, Maseri A, Sabbadini MG, Manfredi AA. High blood levels of chromogranin A in giant cell arteritis identify patients refractory to corticosteroid treatment. *Ann Rheum Dis* 2009;68(2):293-5.

26. Di Comite G, Rossi CM, Marinosci A, Lolmede K, Baldissera E, Aiello P, Mueller RB, Herrmann M, Voll RE, Rovere-Querini P, Sabbadini MG, Corti A, Manfredi AA. Circulating chromogranin A reveals extra-articular involvement in patients with rheumatoid arthritis and curbs TNF-alpha-elicited endothelial activation. *J Leukoc Biol* 2009;85(1):81-7.
27. Erreni M, Bianchi P, Laghi L, Mirolò M, Fabbri M, Locati M, Mantovani A, Allavena P. Expression of chemokines and chemokine receptors in human colon cancer. *Methods Enzymol* 2009;460:105-21.
28. Erreni M, Solinas G, Brescia P, Osti D, Zunino F, Colombo P, Destro A, Roncalli M, Mantovani A, Draghi R, Levi D, Rodriguez Y, Baena R, Gaetani P, Pelicci G, Allavena P. Human glioblastoma tumors and neural cancer stem cells express the chemokine CX3CL1 and its receptor CX3CR1. *Eur J Cancer* 2010;46:3383-92.
29. Gadaleta CD, Ranieri G. Trans-arterial chemoembolization as a therapy for liver tumours: New clinical developments and suggestions for combination with angiogenesis inhibitors. *Crit Rev Oncol Hematol* 2010 Nov 8 (online prima della stampa).
30. Germano G, Frapolli R, Simone M, Tavecchio M, Erba E, Pesce S, Pasqualini F, Grosso F, Sanfilippo R, Casali PG, Gronchi A, Viridis E, Tarantino E, Pilotti S, Greco A, Nebuloni M, Galmarini CM, Tercero JC, Mantovani A, D'Incalci M, Allavena P. Antitumor and anti-inflammatory effects of trabectedin on human myxoid liposarcoma cells. *Cancer Res* 2010;70:2235-44.
31. Greco A, Borrello MG, Miranda C, Degl'Innocenti D, Pierotti MA. Molecular pathology of differentiated thyroid cancer. *Quarterly Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 2009;53:440-53.
32. Guerini V, Barbui V, Spinelli O, et al. The histone deacetylase inhibitor ITF2357 selectively targets cells bearing mutated JAK2(V617F). *Leukemia* 2008;22:740-7.
33. Guidolin G, Nico B, Crivellato E, Marzullo A, Vacca A, Ribatti D. Tumoral mast cells exhibit a common spatial distribution. *Cancer Letters* 2009;273:80-5.
34. Laghi L, Bianchi P, Miranda E, Ballardore E, Pacetti V, Grizzi F, Allavena P, Torri V, Repici A, Santoro A, Mantovani A, Roncalli M, Malesci A. CD3+ cells at the invasive margin of deeply invading (pt3-t4) colorectal cancer and risk of post-surgical metastasis: a longitudinal study. *Lancet oncol* 2009;10(9):877-84.
35. Lucchini G, Introna M, Dander E, Rovelli A, Balduzzi A, Bonanomi S, Salvadè A, Capelli C, Belotti D, Gaipa G, Perseghin P, Vinci P, Lanino E, Chiusolo P, Orofino MG, Markt S, Golay J, Rambaldi A, Biondi A, D'Amico G, Biagi E. Platelet-lysate-expanded mesenchymal stromal cells as a salvage therapy for severe resistant graft-versus-host disease in a pediatric population. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010;16:1293-301.
36. Manfredi AA, Capobianco A, Bianchi ME, Rovere-Querini P. Regulation of dendritic- and T-cell fate by injury-associated endogenous signals. *Crit Rev Immunol* 2009;29(1):69-86.
37. Manfredi AA, Capobianco A, Esposito A, De Cobelli F, Canu T, Monno A, Raucci A, Sanvito F, Doglioni C, Nawroth PP, Bierhaus A, Bianchi ME, Rovere-Querini P, Del Maschio A. Maturing dendritic cells depend on RAGE for *in vivo* homing to lymph nodes. *J Immunol* 2008;180(4):2270-5.
38. Manfredi AA, Rovere-Querini P, Bottazzi B, Garlanda C, Mantovani A. Pentraxins, humoral innate immunity and tissue injury. *Curr Opin Immunol* 2008;20(5):538-44.
39. Manfredi AA, Rovere-Querini P, Maugeri N. Dangerous connections: neutrophils and the phagocytic clearance of activated platelets. *Curr Opin Hematol* 2010;17:3-8.
40. Mangia A, Malfettone A, Rossi R, Paradiso A, Ranieri G, Simone G, Resta L. Tissue remodelling in breast cancer: human mast cell tryptase as an initiator of myofibroblast differentiation. *Histopathology* (in corso di stampa)

41. Mangieri D, Nico B, Coluccia AML, Vacca A, Ponzoni M, Ribatti D. An alternative *in vivo* system for testing angiogenic potential of human neuroblastoma cells. *Cancer Lett* 2009;227:199-204.
42. Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature* 2008 24;454(7203):436-44.
43. Mantovani A, Sica A. Macrophages, innate immunity and cancer: balance, tolerance, and diversity. *Curr Opin Immunol* 2010;22:231-7.
44. Mantovani A. La mala educación of tumor-associated macrophages: Diverse pathways and new players. *Cancer Cell* 2010;17:111-2.
45. Mantovani A. Molecular pathways linking inflammation and cancer. *Curr Mol Med* 2010;10:369-73.
46. Mantovani A. Role of inflammatory cells and mediators in tumor invasion and metastasis. *Cancer Metastasis Rev* 2010;29:241.
47. Marchesi F, Locatelli M, Solinas G, Erreni M, Allavena P, Mantovani A. Role of CX3CR1/CX3CL1 axis in primary and secondary involvement of the nervous system by cancer. *J Neuroimmunol* 2010;224:39-44.
48. Marchesi F, Piemonti L, Fedele G, Destro A, Roncalli M, Albarello L, Doglioni C, Anselmo A, Doni A, Bianchi P, Laghi L, Malesci A, Cervo L, Malosio ML, Reni M, Zerbi A, Di Carlo V, Mantovani A, Allavena P. The chemokine receptor CX3CR1 is involved in the neural tropism and malignant behavior of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Res* 2008;68:(21). 9060-9.
49. Marin V, Pizzitola I, Agostoni V, Attianese GM, Finney H, Lawson A, Pule M, Rousseau R, Biondi A, Biagi E. Cytokine-induced killer cells for cell therapy of acute myeloid leukemia: improvement of their immune activity by expression of CD33-specific chimeric receptors. *Haematologica* 2010;95:2144-52.
50. Maugeri N, Rovere-Querini P, Evangelista V, Covino C, Capobianco A, Bertilaccio MT, Piccoli A, Totani L, Cianflone D, Maseri A, Manfredi AA. Neutrophils phagocytose activated platelets *in vivo*: a phosphatidylserine, P-selectin, and $\alpha 2$ integrin-dependent cell clearance program. *Blood* 2009;113(21):5254-65.
51. Mazzarelli P, Pucci S, Spagnoli LG. CLU and colon cancer. The dual face of CLU: from normal to malignant phenotype. *Adv Cancer Res* 2009;105:45-61.
52. Mininni M, Ammendola M, Patruno R, Lucarelli N, Valerio P, Gadaleta Caldarola G, Catino A, De Sarro G, Gadaleta C, Ranieri G. Tryptase expression correlates to angiogenesis in early breast cancer. *The Breast* 2009;18(1):S21.
53. Moschetta M, Di Pietro G, Ria R, Gnoni A, Mangialardi G, Guarini A, Ditunno P, Pellegrino Musto P, D'auria F, Ricciardi MR, Dammacco F, Ribatti D, Vacca A. Bortezomib And Zoledronic Acid On Angiogenic And Vasculogenic Activities Of Bone Marrow Macrophages In Patients With Multiple Myeloma. *Eur J Cancer* 2010;46:420-9.
54. Muñoz LE, Lauber K, Schiller M, Manfredi AA, Herrmann M. The role of defective clearance of apoptotic cells in systemic autoimmunity. *Nat Rev Rheumatol* 2010;6:280-9.
55. Muzza M, Degl'Innocenti D, Colombo C, Perrino M, Ravasi E, Rossi S, Cirello V, Beck-Peccozl P, Borrello MG, Fugazzola L. The tight relationship between papillary thyroid cancer, autoimmunity and inflammation: clinical and molecular studies. *Clinical Endocrinology* 2009 Sep 10 (online prima della stampa).
56. Nico B, Benagiano V, Mangieri D, Maruotti N, Vacca A, Ribatti D. Evaluation of microvascular density in tumors: pro and contra. *Histol Histopathol* 2008;23:601-7.
57. Nico B, Mangieri D, Crivellato E, Vacca A, Ribatti D. Mast cells contribute to vasculogenic mimicry in multiple myeloma. *Stem Cells and Development* 2008;17:19-22.

58. Passantino L, Passantino G, Cianciotta A, Ribaud MR, Lo Presti G, Ranieri G, Perillo A. Expression of proto-oncogene C-kit and correlation with morphological evaluations in canine cutaneous mast cell tumors. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2008;30(3):609-21..
59. Patriarca F, Petrucci MT, Bringhen S, Baldini L, Caravita T, Corradini P, Corso A, Di Raimondo F, Falcone A, Ferrara F, Morabito F, Musto P, Offidani M, Petrini M, Rizzi R, Semenzato G, Tosi P, Vacca A, Cavo M, Boccadoro M, Palumbo A. Considerations in the treatment of multiple myeloma: a consensus statement from Italian experts. *Eur J Haematol* 2009;82:93-105.
60. Patruno R, Arpaia N, Gadaleta CD, Passantino L, Zizzo N, Misino A, Lucarelli NM, Catino A, Valerio P, Ribatti D, Ranieri G. VEGF concentration from plasma activated platelets rich correlates with microvascular density and grading in canine mast cell tumour spontaneous model. *J Cell Mol Med* 2009;13(3):555-61.
61. Patruno R, Di Lecce V, Troilo S, Rella A, G Gadaleta Caldarola, P Valerio, CD Gadaleta, G Ranieri. Mast cell tryptase density may play a role in breast cancer angiogenesis. *Annals of Oncology* 2008;19(9):M31,ix110.
62. Pucci S, Bettuzzi S. The shifting balance between CLU forms during tumor progression. *Adv Cancer Res* 2009;104:25-32.
63. Pucci S, Bonanno E, Sesti F, Mazzarelli P, Mauriello A, Ricci F, Zoccai GB, Rulli F, Galatà G, Spagnoli LG. Clusterin in stool: a new biomarker for colon cancer screening? *Am J Gastroenterol* 2009;104(11):2807-15.
64. Pucci S, Mazzarelli P, Nucci C, Ricci F, Spagnoli LG. CLU “in and out”: looking for a link. *Adv Cancer Res* 2009;105:93-113.
65. Pucci S, Mazzarelli P, Sesti F, Boothman DA, Spagnoli LG. Interleukin-6 affects cell death escaping mechanisms acting on Bax-Ku70-Clusterin interactions in human colon cancer progression. *Cell Cycle* 2009;8(3):473-81. Erratum in: *Cell Cycle* 2009;8(14):2305.
66. Rambaldi A, Barbui T, Barosi G. From palliation to epigenetic therapy in myelofibrosis. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2008;2008:83-91.
67. Ranieri G, Ammendola M, Patruno R, Celano G, Zito FA, Montemurro S, Rella A, Di Lecce V, Gadaleta CD, Battista De Sarro G, Ribatti D. Tryptase-positive mast cells correlate with angiogenesis in early breast cancer patients. *Int J Oncol* 2009;35(1):115-20.
68. Ranieri G, Gadaleta-Caldarola G, Coviello M, Quaranta M, Fazio V, Mattioli V, Catino A, Gadaleta CD. Platelets VEGF concentrations in healthy controls volunteers and HCC patients submitted to percutaneously radiofrequency thermal ablation. ASCO Annual Meeting Proceedings, *Journal of Clinical Oncology* 2008;26(15):665.
69. Ranieri G, Misino A, Patruno R, Zito AF, Martino T, Di Lecce V, Catino A, Gadaleta CD, Valerio P. Tryptase expression paralleled with angiogenesis in early breast cancer patients. *Annals of Oncology* 2009;20(8):viii53.
70. Ranieri G, Roccaro AM, Vacca A, Ribatti D. Thymidine phosphorylase /platelet-derived endothelial cell growth factor as a target for capecitabine: from biology to the bedside In: Atta-ur-Rahman, M. Iqbal Choudhary (Ed). *Frontiers in anti-cancer drug discovery*. Bentham Science Publishers 2010;1:pp. 31-54.
71. Rella A, Patruno R, Celano G, Valerio P, Gadaleta-Caldarola G, Catino A, Fazio V, Gadaleta CD, Ranieri G. Mast cell tryptase density correlates to angiogenesis in female breast cancer patients. ASCO Annual Meeting Proceedings, *Journal of Clinical Oncology* 2008;26(15):22100.
72. Rella A, Patruno R, Celano G, Valerio P, Gadaleta-Caldarola G, Catino A, Fazio V, Gadaleta CD, Ranieri G. Mast cell positive to tryptase may play a role in female breast cancer angiogenesis. *Annals of Oncology* 2008;19(5):v130-v132.

73. Ria R, Cirulli T, Giannini T, Bambace S, Serio G, Portaluri M, Ribatti D, Vacca A, Dammacco F. Serum levels of angiogenic cytokines decrease after radiotherapy in non-Hodgkin lymphomas. *Clin Exp Med* 2008;8:141-5.
74. Ria R, Gasparre T, Mangialardi G, Bruno A, Iodice G, Vacca A, Dammacco F. Comparison between filgrastim and lenograstim plus chemotherapy for mobilization of PBPCs. *Bone Marrow Transplant* 2010;45:277-81.
75. Ria R, Mangialardi G, Occhiogrosso G, Ciappetta P, Ribatti D, Vacca A, Dammacco F. Monoclonal gammopathy as a marker of primary cerebral lymphoma. *Eur J Clin Invest* 2009;39:627-9.
76. Ria R, Moschetta M, Reale A, Mangialardi G, Castrovilli A, Vacca A, Dammacco F. Managing myelodysplastic symptoms in elderly patients. *Clinical Interventions In Aging* 2009;4:413-23.
77. Ria R, Moschetta M, Reale A, Vacca A. Myelodysplastic syndromes in the elderly. A prominent medical concern with significant effects on healthcare systems. *European Oncol* 2010;6:70-4.
78. Ria R, Piccoli C, Cirulli T, Falzetti F, Mangialardi G, Guidolin D, Tabilio A, Di Renzo N, Guarini A, Ribatti D, Dammacco F, Vacca A. Endothelial differentiation of hematopoietic stem and progenitor cells from patients with multiple myeloma. *Clin Cancer Res* 2008;14:1678-85.
79. Ria R, Todoerti K, Berardi S, Coluccia AML, De Luisi A, Mattioli M, Ronchetti D, Morabito F, Guarini A, Petrucci MT, Dammacco F, Ribatti D, Neri A, Vacca A. Gene expression profiling of bone marrow endothelial cells in patients with multiple myeloma. *Clin Cancer Res* 2009;15:5369-5378.
80. Ria R, Vacca A, Mangialardi G, Dammacco F. Delayed complete response in a patient with multiple myeloma. *Eur J Clin Invest* 2008;38:966-8.
81. Ria RA, Reale A, Castrovilli A, Mangialardi G, Dammacco F, Ribatti D, Vacca A. Angiogenesis and progression in human melanoma. *Dermatology Research And Practice* 2010;2010:185687.
82. Ribatti D, Belloni AS, Nico B, Di Comite M, Crivellato E, Vacca A. Leptin-leptin receptor are involved in angiogenesis in human hepatocellular carcinoma. *Peptides* 2008;29:1596-602.
83. Ribatti D, Maruotti N, Nico B, Longo V, Mangieri D, Vacca A, Cantatore FP. Clodronate inhibits angiogenesis *in vitro* and *in vivo*. *Oncology Rep* 2008;19:1109-12.
84. Ribatti D, Ranieri G, Nico B, Benagiano V, Civellato E. Tryptase and chymase are angiogenic *in vivo* in the chorioallantoic membrane assay. *Int J Dev Biol* (in corso di stampa)
85. Ribatti D, Vacca A. The role of microenvironment in tumor angiogenesis. *Genes Nutr* 2008;3:29-34.
86. Ribatti D, Vacca A. The role of monocytes-macrophages in vasculogenesis in multiple myeloma. *Leukemia* 2009;23(9):1535-6.
87. Roccaro AM, Leleu X, Blotta S, Burwik N, Vacca A, Russo D, Ghobrial IM. Waldenström macroglobulinemia: new therapeutic options. *Cancer Therapy* 2008;6:227-38.
88. Roccaro AM, Leleu X, Sacco A, Moreau AS, Hatjiharissi E, Jia X, Xu L, Ciccarelli B, Patterson CJ, Ngo HT, Russo D, Vacca A, Dammacco F, Anderson KC, Ghobrial IM, Treon S. Resveratrol exerts antiproliferative activity and induces apoptosis in Waldenström's macroglobulinemia. *Clin Cancer Res* 2008;14:1849-1858.
89. Roccaro AM, Vacca A, Ribatti D. Bortezomib in the treatment of cancer. In: Atta-Ur-Rahman, M. Iqbal Choudhary (Ed). *Frontiers in anti-cancer drug discovery*. Bentham Science Publishers. 2010;1:pp. 273-283.
90. Sala A, Bettuzzi S, Pucci S, Chayka O, Dews M, Thomas-Tikhonenko A. Regulation of CLU gene expression by oncogenes and epigenetic factors implications for tumorigenesis. *Adv Cancer Res* 2009;105:115-32.
91. Scavelli C, Di Pietro G, Cirulli T, Coluccia M, Boccarelli A, Giannini T, Mangialardi G, Bertieri R, Coluccia AML, Ribatti D, Dammacco F, Vacca A. Zoledronic acid impacts over-angiogenic

- phenotype of endothelial cells in patients with multiple myeloma. *Mol Cancer Therapeut* 2007;6:3256-62.
92. Scavelli C, Nico B, Cirulli T, Ria R, Di Pietro G, Mangieri D, Bacigalupo A, Mangialardi G, Coluccia AML, Caravita T, Molica S, Ribatti D, Dammacco F, Vacca A. Vasculogenic mimicry by bone marrow macrophages in patients with multiple myeloma. *Oncogene* 2008;27:663-74.
 93. Solinas G, Germano G, Mantovani A, Allavena P. Tumor-associated macrophages (TAM) as major players of the cancer-related inflammation. *J Leukoc Biol* 2009;86(5):1065-73.
 94. Solinas G, Marchesi F, Garlanda C, Mantovani A, Allavena P. Inflammation-mediated promotion of invasion and metastasis. *Cancer Metastasis Rev* 2010;29:243-8.
 95. Solinas G, Schiarea S, Liguori M, Fabbri M, Pesce S, Zammataro L, Pasqualini F, Nebuloni M, Chiabrando C, Mantovani A, Allavena P. Tumor-conditioned macrophages secrete migration-stimulating factor: a new marker for M2-polarization, influencing tumor cell motility. *J Immunol* 2010;185:642-52.
 96. Vacca A, Dammacco F. microRNA to know in Waldenström macroglobulinemia. *Blood* 2009;113:4133-4.
 97. Zizzo N, Greco M, Ammendola M, Patruno R, Valerio P, Catino A, Gadaleta C, Ranieri G. Mast cells positive to tryptase paralleled with angiogenesis in female breast cancer patients. *Annals of Oncology* 2009;20(2):ii47.
 98. Zizzo N, Patruno R, Zito FA, Di Summa A, Tinelli A, Troilo S, Misino A, Ruggieri E, Goffredo V, Gadaleta CD, Ranieri G. VEGF concentrations from platelets correlate with tumour angiogenesis and grading in canine non-Hodgkin's lymphoma spontaneous model. *Leukemia and Lymphoma* 2010;51:291-6.

Presentazioni a Meeting nazionali e/o internazionali:

1. Alberti C, Canevari S, Tomassetti A. A pro-inflammatory program driven by EGFR activation in epithelial ovarian cancer. In: *EACR Special Conference "Inflammation and Cancer"* (Satellite Meeting ECCO 15-34 ESMO by EACR), Berlin (Germany), 24-25 September 2009.
2. Canevari S. Lezione magistrale. Contributo della biologia e della genomica funzionale all'identificazione di biomarcatori e nuovi bersagli terapeutici nel carcinoma ovarico. In: *Il carcinoma ovarico: dalla ricerca di base alle novità terapeutiche*; Padova, 5 giugno 2009.
3. Degl'Innocenti D, Catalano V, Rizzetti MG, Pierotti MA, Borrello MG. Promotion of an inflammatory microenvironment by the papillary thyroid carcinoma-associated oncogenes. In: *EACR Special Conference "Inflammation and Cancer"* (Satellite Meeting ECCO 15-34 ESMO by EACR), Berlin (Germany), 24-25 September 2009.

Brevetti conseguiti nell'ambito del progetto

Spagnoli LG, Pucci S, Bonanno E, Pichiorri F, Citro G. Anti-clusterin oligoclonal antibodies for diagnosis and prediction of the aggressiveness of tumours, diagnostic method and related kits. Application Number: EP20050718998. European Patent Application EP1718676 - SG/VC/ef/AE26495 - US - No. 10/590479.

BASE MOLECOLARE DELLE MALATTIE MIELOPROLIFERATIVE CRONICHE E SVILUPPO DI NUOVE TERAPIE

Mario Cazzola

Clinica Ematologica, Fondazione IRCCS Policlinico S. Matteo, Pavia

Riassunto del Progetto

Le malattie mieloproliferative croniche sono caratterizzate da proliferazione clonale di cellule emopoietiche, eccessiva produzione di cellule ematiche con complicanze secondarie, instabilità genomica delle cellule clonali e variabile tendenza alla trasformazione blastica terminale. Questi disordini comprendono la leucemia mieloide cronica, la policitemia vera, la trombocitemia essenziale e la mielofibrosi idiopatica.

Mentre la base molecolare della leucemia mieloide cronica Philadelphia-positiva è nota da tempo, fino a poco tempo fa poco si sapeva circa le altre condizioni morbose, che vengono complessivamente definite malattie mieloproliferative croniche *Philadelphia-negative*. Partendo da un'anomalia cromosomica (disomia uniparentale del cromosoma 9p), abbiamo studiato e ristretto la regione cromosomica di perdita di eterozigotità, identificando un gene candidato, JAK2, che codifica per una proteina importante per la trasduzione del segnale indotto dai fattori di crescita emopoietici. Abbiamo sequenziato il gene JAK2 in diversi pazienti con malattia mieloproliferativa cronica e abbiamo individuato in una parte dei casi un'unica mutazione somatica, la mutazione JAK2 (V617F). JAK2 (V617F) è una "gain-of-function mutation", in quanto la proteina jak2 mutata trasduce più efficientemente il segnale indotto dal legame dei fattori di crescita ai loro specifici recettori (eritropoietina, G-CSF, trombopoietina) e riduce l'apoptosi delle cellule emopoietiche. Abbiamo poi definito il seguente modello patogenetico multifasico: a) primo evento: mutazione somatica spontanea JAK2 (V617F) e proliferazione clonale di una cellula emopoietica eterozigote; b) secondo evento: ricombinazione mitotica in una cellula emopoietica eterozigote per JAK2 (V617F), perdita di eterozigotità del cromosoma 9p ed espansione di un clone di cellule omozigoti per JAK2 (V617F).

Nonostante numerosi lavori recenti, rimane da definire il ruolo preciso di JAK2 (V617F) nella patogenesi delle malattie mieloproliferative croniche, e in particolare si deve capire come una singola mutazione si associ a fenotipi clinici diversi. Si sa inoltre che nei pazienti JAK2 (V617F)-negativi possono riscontrarsi sia altre mutazioni di JAK2 sia mutazioni attivanti del gene MPL, che codifica per il recettore della trombopoietina. Infine, è di fondamentale importanza sviluppare nuove molecole che siano in grado di agire a livello dei meccanismi patogenetici molecolari, vale dire delle proteine jak2 ed mpl mutanti.

La mielofibrosi idiopatica (*Idiopathic Myelofibrosis*, IM) è una malattia mieloproliferativa caratterizzata da fibrosi del midollo, osteopetrosi, neo-angiogenesi ed estensiva ematopoiesi extramidollare. Sono stati sviluppati due modelli animali della malattia. Il primo modello è rappresentato da topi che sono stati soggetti a manipolazioni che aumentano i livelli *in vivo* di trombopoietina (TPO) (topi TPOhigh), il fattore di crescita che regola la megacariocitopoiesi.

Infatti, sia topi trangenici per TPO che animali trapiantati con cellule staminali infettate con un retrovirus che contiene il gene per la TPO umana, o ancora, animali trattati sistematicamente con questo fattore di crescita, sviluppano tutti una sindrome simile alla IM e muoiono per le

conseguenze della malattia in 2-3 mesi. Il secondo modello è rappresentato da animali geneticamente modificati in modo da esprimere bassi livelli del fattore di trascrizione Gata1, mediante delezione del primo enhancer e del promotore distale del gene (topi Gata1low). Questi mutanti sono vitali alla nascita ma i neonati sono trombocitopenici e anemici. Gli animali recuperano dall'anemia a 3-4 settimane dalla nascita ma rimangono trombocitopenici per tutta la vita a causa di un blocco nella maturazione dei megacariociti (MK) in pro-piastrine, con conseguente accumulo di MK nel midollo. Questi mutanti sviluppano una sindrome simile alla IM nell'uomo caratterizzata dalla presenza di anemia, emazie a goccia e progenitori emopoietici in circolo, fibrosi midollare e foci di ematopoiesi nel fegato dopo 15 mesi. La storia naturale di questi animali, permette di definire almeno tre fasi distinte dello sviluppo della malattia. Una fase pre-sintomatica (da 1 a 6 mesi di età), una fase iniziale (8-12 mesi), in cui la malattia può essere documentata solo istologicamente, e una fase mielofibrotica (15 mesi alla morte naturale), in cui gli animali sviluppano tutti i tratti della malattia umana. La causa genetica dell'insorgenza della IM nell'uomo non è ancora chiara. Infatti, la mutazione V617FJak2, che risulta in una forma della proteina incapace di disattivarsi dopo aver tradotto il segnale, la cui presenza caratterizza le malattie mieloproliferative, è stata identificata in 30-50% dei pazienti con IM. Jak2 rappresenta il primo elemento del segnale di traduzione della TPO. In questo senso, quindi, la presenza della mutazione V617FJak2 è funzionalmente equivalente alla mutazione TPOhigh. In contrasto, mutazioni nel gene Gata1 non sono state identificate fino ad ora in pazienti con IM. Tuttavia, i livelli della proteina GATA-1 negli MK di questi pazienti sono chiaramente ridotti.

I principali obiettivi del progetto di ricerca sono elencati di seguito:

- sviluppo di metodi efficienti che forniscano una valutazione quantitativa della percentuale di alleli JAK2 (V617F), utilizzando in particolare la PCR quantitativa e la tecnologia dei microchip;
- utilizzo di dati molecolari per stabilire correlazioni fra genotipo (stato mutazionale di JAK2 e di MPL, proporzione di cellule emopoietiche interessate) e fenotipo, ovvero alterazioni ematologiche e quadro clinico, con l'obiettivo di arrivare ad una classificazione molecolare delle malattie mieloproliferative croniche;
- sviluppo di modelli murini transgenici di malattia mieloproliferativa basati sulla specifica lesione genica finalizzati al loro uso per testare potenziali farmaci anti-JAK2;
- studio di nuove molecole che possano essere efficaci nel sopprimere i cloni mieloproliferativi attraverso un'azione inibitoria nei confronti delle proteine jak2 ed mpl mutanti, e loro valutazione sia in modelli cellulari che in modelli murini;
- attivazione (a partire dal terzo anno) di trial clinici di fase I-II per valutare l'efficacia di nuove molecole aventi attività anti-jak2 e anti-mpl e di molecole capaci di inibire TGFbeta.

Stato generale di sviluppo del progetto e conseguimento dei risultati

Negli ultimi anni sono state condotte le ricerche previste dal progetto e sono stati ottenuti i risultati descritti di seguito.

1. Neoplasie mieloproliferative familiari e predisposizione genetica all'acquisizione di mutazioni di JAK2

Abbiamo studiato la prevalenza e le caratteristiche cliniche delle neoplasie mieloproliferative familiari. In una coorte di 458 pazienti affetti da neoplasia

mieloproliferativa, i casi familiari sono risultati pari a 75 (35 famiglie), per una prevalenza del 7,6%. Non abbiamo osservato significative differenze cliniche fra casi familiari e casi sporadici: questo indica che le due condizioni sono molto simili, e che gli individui interessati – siano essi casi sporadici o familiari – hanno in comune una predisposizione genetica all'acquisizione di mutazioni di JAK2 e di MPL. Abbiamo altresì documentato l'accorciamento progressivo dei telomeri, e dimostrato un fenomeno di anticipazione dell'esordio clinico. Il lavoro è stato pubblicato sul *Journal of Clinical Oncology* (Rumi *et al.*, 2007).

Abbiamo quindi studiato ulteriormente il meccanismo dell'anticipazione dell'esordio clinico delle neoplasie mieloproliferative. Il lavoro è stato pubblicato *Blood* (Rumi *et al.*, 2008).

In uno studio collaborativo abbiamo dimostrato che l'aplotipo GGCC di JAK2 comporta un rischio più alto di acquisire mutazioni dell'esone 12 di JAK2. Tale lavoro è stato pubblicato su *Leukemia* (Olcaydu *et al.*, 2009).

2. Mutazioni dell'esone 12 di JAK2 nelle neoplasie mieloproliferative: una nuova base molecolare di eritrocitosi

In pazienti affetti neoplasia mieloproliferativa negativi per la mutazione JAK2 (V617F) – che si trova nell'esone 14 – abbiamo sequenziato l'esone 12 del gene. Abbiamo trovato diverse mutazioni – principalmente delezioni di 6 basi – che si trovano esclusivamente in pazienti affetti da policitemia vera o da eritrocitosi idiopatica, e la maggior parte dei pazienti affetti da policitemia vera portatori di tali mutazioni hanno una isolata eritrocitosi con valori bassi di eritropoietina sierica. Pertanto le mutazioni somatiche dell'esone 12 di JAK2 sembrano comportare una selettiva espansione dell'eritropoiesi.

L'identificazione delle mutazioni dell'esone 12 di JAK2 ha anche consentito di validare la nozione di predisposizione genetica all'acquisizione di mutazioni responsabili della patogenesi delle neoplasie mieloproliferative. In due famiglie abbiamo infatti trovato 2 fratelli e 2 sorelle affetti da policitemia vera: uno dei due (o una delle due) aveva la mutazione classica JAK2 (V617F), mentre l'altro (o l'altra) aveva una mutazione dell'esone 12. Questo aveva anche un impatto sul fenotipo, in quanto i pazienti con la mutazione JAK2 (V617F) avevano una classica policitemia vera, mentre quelli con la mutazione dell'esone 12 avevano una neoplasia mieloproliferativa essenzialmente eritrocitotica.

Questo lavoro è stato pubblicato su *Blood* (Pietra *et al.*, 2008).

3. Asse CXCR4/SDF-1 nella mielofibrosi idiopatica

L'asse CXCR4/SDF-1, che determina il legame delle cellule staminali emopoietiche al microambiente midollare e le cui alterazioni possono essere responsabili di abnorme mobilizzazione di tali cellule, è stato studiato nel topo *Gata1^{low}*, che rappresenta un modello murino di mielofibrosi primaria. Tanto nel topo *Gata1^{low}* che nei pazienti affetti da mielofibrosi primaria i livelli sierici di SDF-1 sono risultati elevati; inoltre la proteina SDF-1 tendeva ad aumentare nel midollo osseo. Queste osservazioni suggeriscono che tali anomalie dell'asse CXCR4/SDF-1 sono responsabili dell'abnorme ricircolo di cellule staminali presente sia nei pazienti sia nel modello murino di mielofibrosi primaria. Tale lavoro è stato pubblicato su *Experimental Hematology* (Migliaccio *et al.*, 2008).

Uno studio successivo ha dimostrato che l'ipermetilazione del promoter di CXCR4 può essere responsabile di ridotta espressione del gene nei pazienti affetti da mielofibrosi primaria, e può pertanto contribuire all'abnorme ricircolo di cellule staminali CD34-positive che caratterizza tale condizione morbosa. Tale lavoro è stato pubblicato su *Stem Cells* (Bogani *et al.*, 2008).

4. *Rilevanza clinica del carico mutazionale JAK2 (V617F) nella policitemia vera e sviluppo di un modello prognostico dinamico per predire l'aspettativa di vita nei pazienti affetti da mielofibrosi post-policitemia*

In uno studio osservazionale prospettico, abbiamo valutato 338 pazienti affetti da policitemia vera: 320 (94,7%) erano positivi per la mutazione JAK2 (V617F), 14 (4,1%) erano positivi per mutazioni dell'esone 12 di JAK2, mentre i rimanenti 4 pazienti non avevano le suddette mutazioni. In analisi multivariata, un alto carico mutazionale JAK2 (V617F) (più del 50% di alleli mutanti nei granulociti circolanti) rappresentava un fattore di rischio indipendente per la progressione verso la mielofibrosi post-policitemia vera. Tale lavoro è stato pubblicato su *Leukemia* (Passamonti *et al.*, 2010).

In una serie di pazienti affetti da policitemia vera abbiamo trovato che la leucocitosi alla diagnosi rappresenta un fattore di rischio di evoluzione in mielofibrosi. La sopravvivenza mediana dei 68 pazienti con mielofibrosi post-policitemia vera è stata di 5,7 anni. Utilizzando un modello di Cox basato su analisi multivariata e covariate tempo-dipendenti, abbiamo definito uno sistema di scoring utile per prevedere la sopravvivenza del singolo paziente. I tre fattori di rischio indipendenti sono risultati: emoglobina inferiore a 10 g/dL, piastrine inferiori a $100 \times 10^9/L$, e leucociti superiori a $30 \times 10^9/L$. Questo lavoro è stato pubblicato su *Blood* (Passamonti *et al.*, 2008).

5. *Storia naturale della trombocitemia essenziale e rilevanza clinica dello stato mutazionale di JAK2 e di MPL*

Uno studio condotto su una coorte di 605 pazienti affetti da trombocitemia essenziale ha dimostrato che il rischio di trombosi è pari al 14% a 10 anni, e aumenta fino al 30% a 20 anni dalla diagnosi. Per conto il rischio di evoluzione in mielofibrosi e quello di evoluzione in leucemia acuta sono pari al 2,8% e al 2,6%, rispettivamente, a 10 anni. Questo lavoro è stato pubblicato su *Haematologica* (Passamonti *et al.*, 2008).

In uno studio condotto su 994 pazienti affetti da trombocitemia essenziale, 30 sono risultati positivi per la mutazione MPL (W515L/K). Tali pazienti avevano valori più bassi di emoglobina e valori più alti di piastrine rispetto ai pazienti con la mutazione classica JAK2 (V617F). Tale lavoro è stato pubblicato su *Blood* (Vannucchi *et al.*, 2008).

Lo stato mutazionale di JAK2 non è risultato correlato con il fenotipo clinico e la prognosi nella mielofibrosi post-policitemia (Guglielmelli *et al.*, 2009).

6. *Rilevanza del carico mutazionale JAK2 (V617F) nella mielofibrosi primaria*

Un primo studio condotto su 304 pazienti affetti da mielofibrosi primaria ha dimostrato che la mutazione JAK2 (V617F) era presente nel 63% dei casi. La mutazione era omozigote in una parte dei pazienti e tale stato molecolare si associava ad importante splenomegalia, leucocitosi e necessità di trattamento citoreducente. La positività per JAK2 (V617F) comportava inoltre un maggior rischio di evoluzione in leucemia acuta. Tale lavoro è stato pubblicato su *Blood* (Barosi *et al.*, 2007).

In uno studio condotto su 186 pazienti affetti da mielofibrosi primaria, si è dimostrato che un basso carico mutazionale JAK2 (V617F) può rappresentare un fattore prognostico negativo in quanto si associa ad un fenotipo clinico mielodepleto, che tende a sviluppare rapidamente importante anemia senza una marcata splenomegalia e che comporta ridotta sopravvivenza. Tale lavoro è stato pubblicato su *Blood* (Guglielmelli *et al.*, 2009).

7. *Partecipazione a trial clinici riguardanti terapie innovative delle neoplasie mieloproliferative*

I ricercatori clinici delle Unità Operative di Mario Cazzola e di Giovanni Barosi stanno attualmente partecipando a trial clinici riguardanti terapie innovative delle neoplasie mieloproliferative.

Articolazione del progetto

L'articolazione del progetto è descritta nella Tabella 1.

Tabella 1. Articolazione del progetto Base molecolare delle malattie mieloproliferative croniche e sviluppo di nuove terapie

Proponente (Coordinatore del progetto)	Unità Operativa (UO) (ente di appartenenza: responsabile)	Gruppi di ricerca afferenti	Responsabile scientifico del gruppo
S. Matteo (Mario Cazzola)	UO1 (San Matteo: Mario Cazzola)	San Matteo	Mario Cazzola
		San Matteo	Mario Lazzarino
		San Matteo	Giovanni Barosi
		Experimental Hematology, Basel	Radek Skod
	UO2 (ISS: Anna Rita Migliaccio)	ISS	Anna Rita Migliaccio
		Università di Chieti	Rosa Alba Rana

Pubblicazioni conseguite nell'ambito del progetto

Il progetto ha prodotto le seguenti pubblicazioni:

1. Bacigalupo A, Pecci A, Viarengo G, Zuffardi O, Frassoni F, Barosi G. Endothelial colony-forming cells from patients with chronic myeloproliferative disorders lack the disease-specific molecular clonality marker. *Blood* 2009;114(14):3127-30.
2. Barosi G, Bergamaschi G, Marchetti M, Vannucchi AM, Guglielmelli P, Antonioli E, Massa M, Rosti V, Campanelli R, Villani L, Viarengo G, Gattoni E, Gerli G, Specchia G, Tinelli C, Rambaldi A, Barbui T; Gruppo Italiano Malattie Ematologiche Maligne dell'Adulto (GIMEMA) Italian Registry of Myelofibrosis. JAK2 V617F mutational status predicts progression to large splenomegaly and leukemic transformation in primary myelofibrosis. *Blood* 2007;110(12):4030-6.
3. Barosi G, Birgegard G, Finazzi G, Griesshammer M, Harrison C, Hasselbalch HC, Kiladjian JJ, Lengfelder E, McMullin MF, Passamonti F, Reilly JT, Vannucchi AM, Barbui T. Response criteria for essential thrombocythemia and polycythemia vera: result of a European LeukemiaNet consensus conference. *Blood* 2009;113(20):4829-33.
4. Barosi G, Mesa RA, Thiele J, Cervantes F, Campbell PJ, Verstovsek S, Dupriez B, Levine RL, Passamonti F, Gotlib J, Reilly JT, Vannucchi AM, Hanson CA, Solberg LA, Orazi A, Tefferi A; International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment (IWG-MRT). Proposed criteria for the diagnosis of post-polycythemia vera and post-essential thrombocythemia myelofibrosis: a consensus statement from the International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment. *Leukemia* 2008;22(2):437-8.

5. Bergamaschi GM, Primignani M, Barosi G, Fabris FM, Villani L, Reati R, Dell'era A, Mannucci PM. MPL and JAK2 exon 12 mutations in patients with the Budd-Chiari syndrome or extrahepatic portal vein obstruction. *Blood* 2008;111(8):4418.
6. Bogani C, Ponziani V, Guglielmelli P, Desterke C, Rosti V, Bosi A, Le Bousse-Kerdilès MC, Barosi G, Vannucchi AM; Myeloproliferative Disorders Research Consortium. Hypermethylation of CXCR4 promoter in CD34+ cells from patients with primary myelofibrosis. *Stem Cells* 2008;26(8):1920-30.
7. Boveri E, Passamonti F, Rumi E, Pietra D, Elena C, Arcaini L, Pascutto C, Castello A, Cazzola M, Magrini U, Lazzarino M. Bone marrow microvessel density in chronic myeloproliferative disorders: a study of 115 patients with clinicopathological and molecular correlations. *Br J Haematol* 2008;140(2):162-8.
8. Cazzola M. Somatic mutations of JAK2 exon 12 as a molecular basis of erythrocytosis. *Haematologica* 2007;92(12):1585-9.
9. Cervantes F, Passamonti F, Barosi G. Life expectancy and prognostic factors in the classic BCR/ABL-negative myeloproliferative disorders. *Leukemia* 2008;22(5):905-14.
10. Della Porta MG, Malcovati L, Boveri E, Travaglino E, Pietra D, Pascutto C, Passamonti F, Invernizzi R, Castello A, Magrini U, Lazzarino M, Cazzola M. Clinical relevance of bone marrow fibrosis and CD34-positive cell clusters in primary myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol* 2009;27(5):754-62.
11. Guglielmelli P, Barosi G, Pieri L, Antonioli E, Bosi A, Vannucchi AM. JAK2V617F mutational status and allele burden have little influence on clinical phenotype and prognosis in patients with post-polycythemia vera and post-essential thrombocythemia myelofibrosis. *Haematologica* 2009;94(1):144-6.
12. Guglielmelli P, Barosi G, Specchia G, Rambaldi A, Lo Coco F, Antonioli E, Pieri L, Pancrazzi A, Ponziani V, Delaini F, Longo G, Ammatuna E, Liso V, Bosi A, Barbui T, Vannucchi AM. Identification of patients with poorer survival in primary myelofibrosis based on the burden of JAK2V617F mutated allele. *Blood* 2009;114(8):1477-83.
13. Malcovati L, Della Porta MG, Pietra D, Boveri E, Pellagatti A, Galli A, Travaglino E, Brisci A, Rumi E, Passamonti F, Invernizzi R, Cremonesi L, Boultonwood J, Wainscoat JS, Hellström-Lindberg E, Cazzola M. Molecular and clinical features of refractory anemia with ringed sideroblasts associated with marked thrombocytosis. *Blood* 2009;114(17):3538-45.
14. Martelli F, Ghinassi B, Lorenzini R, Vannucchi AM, Rana RA, Nishikawa M, Partamian S, Migliaccio G, Migliaccio AR. Thrombopoietin inhibits murine mast cell differentiation. *Stem Cells* 2008;26(4):912-9.
15. Migliaccio AR, Martelli F, Verrucci M, Migliaccio G, Vannucchi AM, Ni H, Xu M, Jiang Y, Nakamoto B, Papayannopoulou T, Hoffman R. Altered SDF-1/CXCR4 axis in patients with primary myelofibrosis and in the Gata1 low mouse model of the disease. *Exp Hematol* 2008;36(2):158-71.
16. Mutschler M, Magin AS, Buerge M, Roelz R, Schanne DH, Will B, Pilz IH, Migliaccio AR, Pahl HL. NF-E2 overexpression delays erythroid maturation and increases erythrocyte production. *Br J Haematol* 2009;146(2):203-17.
17. Olcaydu D, Skoda RC, Looser R, Li S, Cazzola M, Pietra D, Passamonti F, Lippert E, Carillo S, Girodon F, Vannucchi A, Reading NS, Prchal JT, Ay C, Pabinger I, Gisslinger H, Kralovics R. The 'GGCC' haplotype of JAK2 confers susceptibility to JAK2 exon 12 mutation-positive polycythemia vera. *Leukemia* 2009;23(10):1924-6.
18. Pancrazzi A, Guglielmelli P, Ponziani V, Bergamaschi G, Bosi A, Barosi G, Vannucchi AM. A sensitive detection method for MPLW515L or MPLW515K mutation in chronic myeloproliferative disorders with locked nucleic acid-modified probes and real-time polymerase chain reaction. *J Mol Diagn* 2008;10(5):435-41.

19. Passamonti F, Rumi E, Arcaini L, Boveri E, Elena C, Pietra D, Boggi S, Astori C, Bernasconi P, Varettoni M, Brusamolino E, Pascutto C, Lazzarino M. Prognostic factors for thrombosis, myelofibrosis, and leukemia in essential thrombocythemia: a study of 605 patients. *Haematologica* 2008;93(11):1645-51.
20. Passamonti F, Rumi E, Caramella M, Elena C, Arcaini L, Boveri E, Del Curto C, Pietra D, Vanelli L, Bernasconi P, Pascutto C, Cazzola M, Morra E, Lazzarino M. A dynamic prognostic model to predict survival in post-polycythemia vera myelofibrosis. *Blood* 2008;111(7):3383-7.
21. Piaggio G, Rosti V, Corselli M, Bertolotti F, Bergamaschi G, Pozzi S, Imperiale D, Chiavarina B, Bonetti E, Novara F, Sessarego M, Villani L, Garuti A, Massa M, Ghio R, Campanelli R, Bacigalupo A, Pecci A, Viarengo G, Zuffardi O, Frassoni F, Barosi G. Endothelial colony-forming cells from patients with chronic myeloproliferative disorders lack the disease-specific molecular clonality marker. *Blood* 2009;114(14):3127-30.
22. Pietra D, Li S, Brisci A, Passamonti F, Rumi E, Theocharides A, Ferrari M, Gisslinger H, Kralovics R, Cremonesi L, Skoda R, Cazzola M. Somatic mutations of JAK2 exon 12 in patients with JAK2 (V617F)-negative myeloproliferative disorders. *Blood* 2008;111(3):1686-9.
23. Rumi E, Passamonti F, Della Porta MG, Elena C, Arcaini L, Vanelli L, Del Curto C, Pietra D, Boveri E, Pascutto C, Cazzola M, Lazzarino M. Familial chronic myeloproliferative disorders: clinical phenotype and evidence of disease anticipation. *J Clin Oncol* 2007;25(35):5630-5.
24. Rumi E, Passamonti F, Pagano L, Ammirabile M, Arcaini L, Elena C, Flagiello A, Tedesco R, Vercellati C, Marcello AP, Pietra D, Moratti R, Cazzola M, Lazzarino M. Blood p50 evaluation enhances diagnostic definition of isolated erythrocytosis. *J Intern Med* 2009;265(2):266-74.
25. Rumi E, Passamonti F, Picone C, Della Porta MG, Pascutto C, Cazzola M, Lazzarino M. Disease anticipation in familial myeloproliferative neoplasms. *Blood* 2008;112(6):2587-8.
26. Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, Pancrazzi A, Guerini V, Barosi G, Ruggeri M, Specchia G, Lo-Coco F, Delaini F, Villani L, Finotto S, Ammatuna E, Alterini R, Carrai V, Capaccioli G, Di Lollo S, Liso V, Rambaldi A, Bosi A, Barbui T. Characteristics and clinical correlates of MPL 515W>L/K mutation in essential thrombocythemia. *Blood* 2008;112(3):844-7.

IMMUNOTERAPIA CON IL PEPTIDE EGFRvIII NEL GLIOBLASTOMA MULTIFORME E IN ALTRI TUMORI SOLIDI

Gaetano Finocchiaro

Unità di Biochimica e Genetica, Fondazione IRCCS Istituto Neurologico "Carlo Besta", Milano

Riassunto del progetto

L'*Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR) è spesso amplificato e mutato in diversi tumori solidi, in particolare in gliomi maligni e carcinomi dell'ovaio. Esistono varie forme mutanti di HER1/EGFR, ma la variante III (EGFRvIII) rimane sicuramente la più frequente. EGFRvIII risulta dall'eliminazione degli esoni 2-7 e determina un'attivazione costitutiva del recettore, che porta a tumorigenicità, inibizione dell'apoptosi, aumento della motilità cellulare e, in molte linee tumorali, anche radioresistenza. A livello clinico EGFRvIII è un fattore prognostico negativo negli astrocitomi anaplastici e nei glioblastomi (GBM) che sopravvivono un anno o più. La sua espressione è documentata anche nel carcinoma ovarico, mentre il suo ruolo nei carcinomi mammari non è definito in modo univoco. Vista la sua esclusiva espressione nelle cellule tumorali, e non in quelle sane, EGFRvIII è considerato un ottimo potenziale target di terapia.

Il progetto si propone di 1) studiare l'espressione di EGFRvIII in gliomi maligni, carcinomi ovarici e carcinomi mammari, e 2) condurre uno studio clinico di fase I sull'immunoterapia con un peptide corrispondente alla sequenza dell'epitopo EGFRvIII.

Per quanto riguarda il primo obiettivo, tutte le UO hanno fornito risultati sull'espressione di EGFRvIII in glioblastoma multiforme (GBM) e nel cancro alla mammella e all'ovaio, già descritti nel report del II anno. Ulteriori esperimenti sono comunque tuttora in corso.

Per ciò che concerne la conduzione dello studio clinico, viste le problematiche sorte nel reperire il vaccino tramite CellDex e già menzionate nel report del II anno, è stata recentemente contattata l'azienda Inbios (www.inbios.it) che, sotto la responsabilità di G. Morelli (ordinario di chimica presso l'Università di Napoli), ha curato la sintesi del peptide *bulk*. È quindi prevista, nei primi mesi del 2011, una fase di infialamento del peptide presso la farmacia dell'IFO-Istituto Regina Elena di Roma, alla luce della *Nota per l'applicazione dell' articolo 15 del DL.vo 200/2007 in strutture ospedaliere pubbliche o ad esse equiparate, nonché in Istituti di ricovero e cura a carattere scientifico privati* di A. Meneguz (luglio 2008).

Nel frattempo si sta lavorando alla stesura del protocollo dello studio clinico di fase I, multicentrico, che includerà pazienti affetti da recidiva di GBM, operata chirurgicamente e trattata con radioterapia e chemioterapia con temodal secondo il protocollo Stupp (Stupp et al., 2005), e positivi per l'espressione di EGFRvIII. Lo studio sarà costituito da una prima fase di identificazione della dose ottimale tramite il trattamento di piccole coorti consecutive di pazienti con dosi crescenti di vaccino, ed una seconda fase di trattamento di un'ulteriore gruppo di pazienti con la dose ottimale selezionata. L'obiettivo primario dello studio sarà l'analisi della sicurezza del trattamento sperimentale e la raccolta di dati preliminari sull'efficacia. L'espressione di EGFRvIII sarà valutata mediante tecniche di PCR e/o immunoistochimica.

Si stima di poter iniziare lo studio clinico nel marzo 2011.

Stato generale di sviluppo del progetto e conseguimento dei risultati

Come menzionato nel report 2009 l'attività "core" del progetto è stata ostacolata dalla impossibilità di mantenere gli accordi con CellDex per quanto riguarda la disponibilità del peptide EGFRvIII. Abbiamo quindi raggiunto un accordo con l'azienda Inbios, che sotto la responsabilità di G. Morelli (ordinario di chimica presso l'Università di Napoli), ha curato la sintesi del peptide bulk. Tale sintesi rappresenta il progresso più rilevante del progetto ed è rappresentativa dell'attività di tutti le UO coinvolte nel progetto (Istituto Neurologico Besta e Istituto Europeo di Oncologia, Milano; Istituto regina Elena-IFO, Roma). I dati relativi a tale sintesi sono riassunti di seguito.

Attività di sintesi per l'ottenimento del peptide denominato PEPVIII con sequenza: LEEKKGNYVVDH (H-Leu-Glu-Glu-Lys-Lys-Gln-Asn-Tyr-Val-Val-Thr-Asp-His-OH) composto da 13 residui amminoacidici.

È stata effettuata inizialmente la sintesi del peptide in piccola scala, 0.1 mmoli, per la messa a punto della metodologia di sintesi e l'ottenimento dello standard necessario per la successiva sintesi in GMP.

Successivamente si è provveduto alla sintesi in larga scala, scala di sintesi di 50 mmoli, corrispondente ad un grezzo di sintesi teorico di 61 grammi, per consentire l'ottenimento del prodotto purificato e liofilizzato con caratteristiche di grado cGMP.

La sintesi su piccola scala è stata effettuata utilizzando un sintetizzatore automatico di peptidi Syro della Multisynth, mentre la sintesi in larga scala è stata effettuata manualmente in un reattore da 1.0 litri, utilizzando 50 grammi di resina con grado di sostituzione di 1.0 mmol/g.

I derivati degli amminoacidi utilizzati sequenzialmente sono stati i seguenti: Fmoc-His(trt)-OH, Fmoc-Asp(OtBu)-OH, Fmoc-Thr(tBu)-OH, Fmoc-Val-OH, Fmoc-Val-OH, Fmoc-Tyr(tBu), Fmoc-Asn(trt).OH, Fmoc-Gln(trt)-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Lys(Boc)-OH, Fmoc-Glu(OtBu)-OH, Fmoc-Glu(OtBu)-OH, Fmoc-Leu-OH. Tutti gli steps di accoppiamento sono stati eseguiti in dimetilformammide (DMF) utilizzando un eccesso 4 di ogni derivato amminoacidico, e utilizzando come attivanti HOBt e HBTU, entrambi in eccesso 4 e la base diisopropiletildiammina (DIPEA) in eccesso 8. Gli steps di de protezione del gruppo Fmoc sono stati invece eseguiti utilizzando una soluzione di piperidina in DMF al 20%. Al fine di massimizzare il grado di accoppiamento e per eliminare meglio i gruppi che non reagivano si è provveduto ad effettuare sempre un secondo step di accoppiamento, con eccessi dimezzati rispetto al primo, e ad acetilare le funzioni non reagite. Sia gli step di accoppiamento che quelli di de protezione sono stati monitorati mediante test di Kaiser qualitativo e quantitativo.

Il distacco dalla resina e la deprotezione finale è stata eseguita utilizzando una miscela di acido trifluoroacetico, tris-isopropilsilano (TIS) e acqua (96:2:2); successivamente il peptide è stato precipitato con etere e ripreso in acqua per la successiva liofilizzazione.

L'analisi del liofilo, mediante tecniche HPLC e di spettrometria di massa MALDI-tof, ha confermato l'ottenimento del peptide voluto come specie principale nel grezzo ottenuto (superiore al 50%), riscontrando anche un picco in HPLC riconducibile ad un peptide con una delezione, ed un picco riconducibile al peptide ancora con un gruppo protetto.

Si è provveduto successivamente ad individuare le migliori condizioni cromatografiche HPLC (colonna, eluenti, gradiente, flussi, eccetera) per ottenere la migliore separazione del peptide voluto dai derivati peptidici non desiderati. Queste condizioni saranno utilizzate per la successiva purificazione del grezzo ottenuto (circa 54 grammi, invece dei 61 teorici) in condizioni GMP.

Il peptide verrà successivamente trattato da Orpegen (www.orpechem.com) per la produzione in condizioni GMP e prevediamo possa essere disponibile nel marzo 2011. Data la difficoltà di ottenere un prodotto omogeneo GMP dopo coniugazione con KLH si è proceduto ad esperimenti di valutazione nel modello murino GL261 dell'efficacia come adiuvante di montanide (emulsione con il peptide prima dell'inoculo) o di Aldara (crema spalmata in regione inoculo). I dati (esperimento in progress) supportano l'efficacia di Montanide come adiuvante (Montanide® ISA 51VG).

Articolazione del progetto

L'articolazione del progetto è descritta nella Tabella 1.

Tabella 1. Articolazione del progetto Immunoterapia con il peptide EGFRvIII nel glioblastoma multifforme e in altri tumori solidi

Proponente <i>(Coordinatore del progetto)</i>	Unità Operativa (UO) <i>(ente di appartenenza: responsabile)</i>	Gruppi di ricerca afferenti	Responsabile scientifico del gruppo	
Besta <i>(Gaetano Finocchiaro)</i>	UO1 <i>(Besta: Gaetano Finocchiaro)</i>	Besta	Gaetano Finocchiaro	
		Besta	Amerigo Boiardi	
		Besta	Renato Mantegazza	
		Besta	Maria Grazia Bruzzone	
	UO2 <i>(IEO: Maria Rescigno)</i>	IEO	Maria Rescigno	
		IEO	Giuseppe Viale	
		IEO	Giuseppe Curigliano	
		IEO	Nicoletta Colombo	
		IRE	Carmine M. Carapella	
		UO3 <i>(IRE: Carmine Maria Carapella)</i>	IRE	Antonello Vidiri
			IRE	Anna Cianciulli
			Università degli studi Sapienza di Roma	Felice Giangaspero, Mario Piccoli

SVILUPPO VACCINI IDIOTIPICI PER STUDI DI FASE I-II DI IMMUNOTERAPIA “SUBSET SPECIFICA” PER PAZIENTI CON DISORDINI LINFOPROLIFERATIVI A CELLULE B

Riccardo Dolcetti

Dipartimento di Oncologia Medica, Centro di Riferimento Oncologico, Aviano

Riassunto del progetto

Vaccini che abbiano come bersaglio l'idiotipo (Id) di linfomi/leucemie a cellule B rappresentano un approccio immunoterapeutico promettente che potrebbe consentire un miglior controllo clinico di tali neoplasie e con minore tossicità rispetto alle terapie convenzionali. Questa strategia è basata sull'osservazione che le immunoglobuline (Ig) clonotipiche espresse da linfociti B neoplastici presentano determinanti unici che possono fungere da antigeni tumore-specifici. Studi clinici di fase II e III condotti su pazienti con linfoma hanno recentemente dimostrato che vaccini idiotipici paziente-specifici sono in grado di indurre risposte cliniche obiettive ed un incremento della sopravvivenza libera da malattia. Tuttavia, il largo impiego di tali vaccinazioni è ostacolato dal fatto che i vaccini devono essere prodotti singolarmente ed in maniera individualizzata per ciascun paziente, con una notevole complessità di produzione e costi difficilmente sostenibili. La caratterizzazione molecolare di vari istotipi di neoplasie linfoidi ha recentemente fornito evidenze che suggeriscono come tali limitazioni possano essere superate. Infatti, è stato dimostrato che vari istotipi di neoplasie a cellule B possono utilizzare gli stessi segmenti genici Ig, suggerendo che la condivisione di Id simili tra neoplasie di diversi pazienti sia più frequente di quanto ritenuto in passato. In particolare, circa il 20-25% delle leucemie linfatiche croniche (CLL) esprimono, sulla superficie cellulare della loro componente neoplastica, combinazioni “stereotipate” di IgH/IgL con sequenze omologhe anche a livello delle regioni ipervariabili (HCDR3) delle IgH. Studi precedenti del DI proponente hanno dimostrato che la proteina VK3-20, frequentemente espressa in B-NHL HCV-associati, è immunogenica in sistemi *ex vivo* ed è in grado di indurre risposte citotossiche specifiche nei riguardi di proteine VK correlate ed utilizzate anche da altre forme di linfoma/leucemia a cellule B. Ciò fornisce un solido razionale per lo sviluppo di vaccini ricombinanti che utilizzino idiotipi condivisi da differenti neoplasie a cellule B. Il progetto prevede pertanto l'attivazione di uno studio di fase I/II basato sull'utilizzo della proteina idiotipica VK3-20 quale vaccino per il trattamento di linfomi a basso grado di malignità esprimenti catene leggere molecolarmente correlate. Ciò sarà reso possibile dalla stretta interazione con Areta Int., quale partner industriale esterno che svilupperà protocolli di produzione e purificazione della proteina VK3-20 secondo standard GMP. Il progetto consentirà inoltre di identificare e caratterizzare dal punto di vista immunologico altre Ig idiotipiche condivise da sottogruppi di neoplasie linfoidi, comprendenti anche la CLL. Ciò consentirà di definire lo spettro di neoplasie linfoidi per le quali disegnare ed attivare strategie di immunoterapia “cross-reattiva”. Gli approcci diagnostici e terapeutici innovativi derivanti dal trasferimento in campo clinico dei risultati ottenuti saranno rilevanti anche per quanto riguarda disordini linfoproliferativi monoclonali pre-linfomatosi (crioglobulinemia mista di tipo II). Infatti, la possibile applicazione di schemi di vaccinazione “preventiva” con Ig idiotipiche ricombinanti “subset-specifiche” potrebbe rivelarsi di notevole

importanza al fine di impedire o ritardare l'evoluzione di tali forme verso il linfoma maligno conclamato. Il progetto si propone infine la realizzazione di un database multicentrico italiano allo scopo di identificare aspetti di interesse inquadrativo e con forte ricaduta prognostica della CLL.

Stato generale di sviluppo del progetto e conseguimento dei risultati

Il presente progetto si prefigge quale obiettivo primario l'attivazione di uno studio di fase I/II basato sull'utilizzo della proteina idiopica VK3-20 quale vaccino per il trattamento di linfomi a basso grado di malignità esprimenti catene leggere molecolarmente correlate. Grazie all'attività integrata delle varie UO afferenti sono state finora ottenute evidenze pre-cliniche rilevanti a supporto dell'applicazione in campo clinico di tale approccio vaccinale. In particolare:

- L'immunogenicità *ex vivo* di VK3-20 e VK3-15 è stata confermata in un'ampia serie di donatori. È stato possibile ottenere sia cellule T CD4⁺ che CD8⁺ in grado di riconoscere e lisare specificamente le cellule bersaglio, un aspetto di notevole rilevanza applicativa.
- Una proteina VK3-20 prototipica induce risposte T cellulari cross-reattive rispetto a VK3-20 derivate da altri linfomi e anche nei confronti della proteina correlata VK3-15.
- CTL VK3-20-specifici uccidono in modo antigene-specifico e HLA-A*02-ristretto linee di linfoma sia VK3-20+ (DG75) che VK3-15+ (LCL SH9) indicando che tali proteine sono naturalmente processate in cellule linfoidi ed in grado di produrre epitopi immunogenici "cross-reattivi".
- La proteina VK3-20 contiene almeno 25 epitopi in grado di legare i più comuni alleli HLA di Classe I. Sono stati validati 11 epitopi HLA-A*0201 ed è stato dimostrato che tali peptidi sono in grado di indurre CTL specifici *ex vivo* da donatori capaci di lisare anche linee di linfoma sia VK3-20+ che VK3-15+.
- È stato verificato il grado di variabilità interpaziente della sequenza aminoacidica di VK3-20 rispetto alla proteina prototipica selezionata quale vaccino.
- Gli epitopi HLA-A*0201 di VK3-20 sono in gran parte condivisi con proteine VK/VJ espresse da numerose neoplasie linfoidi. CTL specifici per due di questi epitopi "nativi" di VK3-20 sono in grado di riconoscere ed uccidere in modo specifico e HLA-ristretto bersagli autologhi caricati con versioni "cross-reattive" degli stessi peptidi, ma appartenenti a proteine idiopiche non correlate. Ciò suggerisce come VK3-20 contenga versioni "naturalmente eteroclitiche" di diversi epitopi condivisi con altre proteine VK/VJ ampiamente espresse in diverse neoplasie linfoidi.
- Pazienti con linfoma HCV+ mostrano risposte T CD8⁺ specifiche per epitopi di VK3-20 in numero maggiore rispetto a donatori sani in saggi ELISPOT.
- Sono stati costruiti idonei vettori per l'espressione di VK3-20 e VK3-15 che sono stati trasferiti al Partner Industriale esterno che ha sviluppato un nuovo processo di produzione e purificazione "clinical-grade".
- È stata valutata l'immunogenicità della proteina VK3-20 in topi BALB/c. I risultati dimostrano che tutti i topi immunizzati hanno sviluppato una risposta umorale con buoni titoli anticorpali. Inoltre, i sieri sono risultati in grado di riconoscere la proteina in immunoblotting, confermando l'immunogenicità per la branca umorale della la proteina

VK3-20 ricombinante prototipo. Sono stati caratterizzati 2 anticorpi monoclonali specifici per VK3-20 e/o VK3-15.

- Sono stati ottimizzati i modelli animali basati sulla crescita *in vivo* delle linee DG-75 e SH9 impiantate s.c. in topi SCID. Al fine di poter monitorare la crescita e la diffusione tumorale, le cellule DG-75 sono state ingegnerizzate per esprimere EGFP o luciferasi. La down-regulation delle molecole MHC di classe I e II riscontrata nelle cellule DG-75 e SH9 in seguito all'inoculo *in vivo* è stata superata ingegnerizzando le cellule DG-75 con un plasmide esprimente HLA-A*0201. Tali cellule mantengono l'espressione di classe I e II a seguito del recupero dopo il trasferimento *in vivo*. I saggi (Winn Assay) eseguiti *in vivo* in topi SCID hanno confermato che le cellule tumorali mescolate a CTL VK3-20-specifici non sono in grado di produrre crescita neoplastica, a differenza di cellule DG-75 da sole.
- Nel modello Hu-PBL-SCID è stata dimostrata la capacità della vaccinazione con IFN-DC pulsate con VK3-20 di indurre una buona risposta di tipo cellulare sia per i CD8+ che per i CD4+, soprattutto a seguito dell'immunizzazione con VK3-20-KLH, che si è rivelato l'immunogeno più potente. Sono attualmente in corso esperimenti tesi a verificare l'efficacia terapeutica di tale vaccinazione.
- È stata dimostrata la capacità del peptide VK3-20 di indurre l'attivazione delle cellule del sistema innato (monociti, mDC e pDC), sia in soggetti di controllo che HCV+, momento propedeutico essenziale per l'induzione a valle del sistema immunitario adattativo specifico.

Il progetto prevede inoltre l'identificazione di sottogruppi di neoplasie linfoidi caratterizzate dall'espressione di Id ad elevata omologia di sequenza, finalizzata allo sviluppo di vaccini "subset-specifici". La caratterizzazione delle sequenze dei geni IgVH e IgVL inserite nel database dedicato supporta il ruolo di proteine idiotipiche VKIII quali bersagli immunologici di rilevanza terapeutica per diversi disordini linfoproliferativi quali: crioglobulinemia e NHL HCV+, NHL associati ad autoimmunità, NHL della zona marginale non associati ad HCV.

L'analisi di una casistica di leucemie linfatiche croniche (CLL) comprendente più di 1500 casi ha mostrato come il gene IGHV1-69 sia il più frequentemente utilizzato suggerendo come tale proteina idiotipica sia di potenziale rilevanza immunoterapeutica in quanto utilizzabile per scopi vaccinali in un numero relativamente ampio di pazienti. Evidenze finora ottenute:

- Anche IGHV1-69 è in grado di indurre CTL specifici *ex vivo* da donatori sani.
- Sono stati identificati 21 putativi epitopi CTL di IGHV1-69
- È stata disegnata una sequenza "consensus" di IGHV1-69 sulla base delle variazioni interpaziente e tenendo conto degli epitopi CTL identificati. Tale sequenza non comprende il CDR3 che mostra maggiore variabilità.
- Sono stati costruiti vettori per l'espressione della consensus di IGHV1-69 in associazione o meno al CDR3 derivato da un NHL HCV+, che sono stati trasferiti al Partner Industriale esterno per produzione e purificazione delle proteine ricombinanti.
- È stata realizzata la validazione di pentameri HLA contenenti peptidi codificati dalla sequenza IGHV1-69 comunemente espressa in linfomi B HCV-associati e CLL.

Il progetto si propone inoltre la realizzazione di un database multicentrico italiano allo scopo di identificare aspetti di interesse inquadrativo (con forte ricaduta prognostica) e di fisiopatologia della CLL. Sono state raccolte informazioni su circa 1800 pazienti, utilizzate per studi molecolari relativi al "B cell receptor" (BCR), al fine di individuare nuove categorie prognostiche e nuovi target molecolari di terapia, ma anche allo scopo di individuare e validare altri marcatori prognostici immunofenotipici (es. CD49d), citogenetici (es. coinvolgenti p53),

ecc. Sono stati affrontati i seguenti argomenti: i) caratterizzazione molecolare di CLL a cattiva prognosi esprimenti il gene IGHV3-21; ii) identificazione dell'impatto prognostico e caratterizzazione molecolare di CLL esprimenti il gene IGHV3-23, definendo inoltre come il profilo genico globale delle CLL IGHV3-23 sia legato alla modulazione dell'espressione di specifici miR. In questo ambito studi futuri saranno focalizzati nell'identificazione di miR *profile* e *gene expression profile* specifici della stimolazione del Toll like receptor 9 tramite CpG oligo o del BCR tramite IGM solubili o immobilizzate; iii) studio delle interazioni della cellula di LLC con il microambiente attraverso le molecole di superficie CD38 e CD49d; è in corso di approfondimento il ruolo di CD38 come *enhancer* delle attività adesive di CD49d su ligandi specifici (VCAM, fibronectina, ecc.); iv) identificazione del gene MDM4 come associato a resistenza delle cellule di CLL con p53 *wild-type* ad attivatori non genotossici di p53 (es. Nutlin-3).

Al fine di valutare se l'inibizione di hTERT è in grado di sensibilizzare cellule di linfoma all'effetto litico di effettori immuni specifici per antigeni idiotipici, sono stati sviluppati e validati siRNA costituiti da oligonucleotidi anti-hTERT e vettori retrovirali esprimenti short hairpin contro hTERT mRNA.

Nel contesto del Progetto è stato inoltre organizzato il convegno "Cancer Vaccines and Immunogenomics" tenutosi il 21 maggio 2010, presso l'Istituto Tumori di Napoli, Fondazione "G. Pascale".

Articolazione del progetto

L'articolazione del progetto è descritta nella Tabella 1.

Tabella 1. Articolazione del progetto Sviluppo di vaccini idiotipici per studi di fase I-II di immunoterapia "subset-specifica" per pazienti con disordini linfoproliferativi a cellule B

Proponente (Coordinatore del progetto)	Unità Operativa (UO) (ente di appartenenza: responsabile)	Gruppi di ricerca afferenti	Responsabile scientifico del gruppo
CRO (Riccardo Dolcetti)	UO1 (CRO: Riccardo Dolcetti)	CRO	Riccardo Dolcetti
		CRO	Valli De Re
		CRO	Valter Gattei
		CRO	Roberta Maestro
		CRO	Umberto Tirelli
		CRO	Vincenzo Canzonieri
		CRO	Diego Serraino
		INT	Andrea Anichini
		ISS	Maria Ferrantini
	UO2 (IOV: Antonio Rosato)	IOV	Antonio Rosato
		IOV	Stefano Indraccolo
		IOV	Anita De Rossi
	UO3 (Pascale: Franco M. Buonaguro)	Pascale	Franco M. Buonaguro
		Pascale	Giuseppe Castello
		Pascale	Francesco Izzo
		Pascale	Gerardo Botti
		Pascale	Maurizio Montella
		NIH	Francesco M. Marincola
	Ospedale Cotugno, Napoli	Oreste Perrella	

Pubblicazioni conseguite nell'ambito del progetto

Il progetto ha prodotto le seguenti pubblicazioni:

1. Adorno M, Cordenonsi M, Montagner M, Dupont S, Wong C, Hann B, Solari A, Bobisse S, Rondina M, Guzzardo V, Parenti AR, Rosato A, Bicciato S, Balmain A, Piccolo S. A mutant-p53/Smad complex opposes p63 to empower TGF β -induced metastasis. *Cell* 2009;137:87-98.
2. Alaggio R, Bisogno G, Rosato A, Ninfo V, Coffin CM. Undifferentiated sarcoma: does it exist? A clinicopathologic study of 7 pediatric cases and review of literature. *Hum Pathol* 2009;40:1600-10.
3. Banzato A, Rondina M, M elendez-Alafort L, Zangoni E, Nadali A, Renier D, Moschini G, Mazzi U, Zanovello P, Rosato A. Biodistribution imaging of a paclitaxel-hyaluronan bioconjugate. *Nucl Med Biol* 2009;36:525-33.
4. Benedetti D, Bomben R, Dal-Bo M, Marconi D, Zucchetto A, Degan M, Forconi F, Del-Poeta G, Gaidano G, Gattei V. Are surrogates of IGHV gene mutational status useful in B-cell chronic lymphocytic leukemia? The example of Septin-10. *Leukemia* 2008;22(1):224-6.
5. Bilous N, Bomben R, Dal Bo M, Capello D, Forconi F, Laurenti L, Bertoni F, Efremov DG, Marasca R, Del Poeta G, Martina Z, Kryachouk I, Dyagil I, Gaidano G, Chumak A, Gattei V, Abramenko I. Molecular and clinical features of chronic lymphocytic leukemia with stereotyped B-cell receptors in a Ukrainian cohort. *Leuk Lymphoma* 2010;51:822-38.
6. Bobisse S, Rondina MB, Merlo A, Tisato V, Mandruzzato S, Amendola M, Naldini L, Willemsen RA, Debets R, Zanovello P, Rosato A. Reprogramming T lymphocytes for melanoma adoptive immunotherapy by T-cell receptor gene transfer with lentiviral vectors. *Cancer Res* 2009;69:9385-94.
7. Bobisse S, Tisato V, Rondina MB, Merlo A, Amendola M, Naldini L, Willemsen RA, Debets R, Zanovello P, Rosato A. Reprogramming T lymphocytes for melanoma adoptive immunotherapy by T-cell receptor gene transfer with lentiviral vectors. *Cancer Res* 2009;69(24):9385-94.
8. Boffetta P, Dolcetti R. Infectious etiopathogenesis of extranodal lymphomas. In: Cavalli F, Stein H, Zucca E (Ed.). *Extranodal lymphomas*. London, New York: Informa Healthcare; 2008. p. 24-33.
9. Boffetta P, Dolcetti R. Infectious etiopathogenesis of extranodal lymphomas. In: Cavalli F, Stein H, Zucca E (Ed.). *Extranodal lymphomas*. London: Informa Healthcare; 2008; p. 24-33.
10. Bomben R, Dal Bo M, Capello D, Benedetti D, Marconi D, Zucchetto A, Forconi F, Maffei R, Ghia EM, Laurenti L, Bulian P, Del Principe MI, Palermo G, Thorselius M, Degan M, Campanini R, Guarini A, Del PG, Rosenquist R, Efremov DG, Marasca R, Foa R, Gaidano G, Gattei V. Comprehensive characterization of IGHV3-21-expressing B-cell chronic lymphocytic leukemia: an Italian multicenter study. *Blood* 2007;109(7):2989-98.
11. Bomben R, Dal Bo M, Capello D, Francesco Forconi F, Maffei R, Laurenti L, Rossi D, Del Principe MI, Zucchetto A, Bretoni F, Rossi FM, Bulian P, Cattarossi I, Ilariucci F, Sozzi E, Spina V, Zucca E, Degan M, Lauria F, Del Poeta G, Efremov DG, Marasca R, Gaidano G, Gattei V. Molecular and clinical features of chronic lymphocytic leukaemia with stereotyped B cell receptors: results from an Italian multicenter study. *Br J Haematol* 2009;144(4):492-506.
12. Bomben R, Dal-Bo M, Benedetti D, Capello D, Forconi F, Marconi D, Bertoni F, Maffei R, Laurenti L, Rossi D, Del Principe MI, Luciano F, Sozzi E, Cattarossi I, Zucchetto A, Rossi FM, Bulian P, Zucca E, Nicoloso MS, Degan M, Marasca R, Efremov DG, Del Poeta G, Gaidano G, Gattei V. Expression of mutated IGHV3-23 genes in chronic lymphocytic leukemia identifies a disease subset with peculiar clinical and biological features. *Clin Cancer Res* 2010;16:620-8.
13. Bomben R, Dal-Bo M, Capello D, Forconi F, Bertoni F, Maffei R, Laurenti L, Rossi D, Zucca E, Degan M, Marasca R, Efremov DG, Del Poeta G, Gaidano G, Gattei V. IGHD3-3 fails to behave as unfavourable prognostic marker in chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol* 2010;149:299-302.

14. Bulian P, Gaidano G, Del PG, Gattei V. CD49d expression in chronic lymphocytic leukemia: a prognostic parameter and a therapeutic target. *Future Oncol* 2008;4(3):355-8.
15. Bulian P, Tarnani M, Rossi D, Forconi F, Del Poeta G, Bertoni F, Zucca E, Montillo M, Pozzato G, Deaglio S, D'Arena G, Efremov D, Marasca R, Lauria F, Gattei V, Gaidano G, Laurenti L. Multicentre validation of a prognostic index for overall survival in chronic lymphocytic leukaemia. *Hematol Oncol* 2010 Jul 28 (online prima della stampa)
16. Buonaguro L, Petrizzo A, Tornesello M, Napolitano M, Martorelli D, Castello G, Beneduce G, De Renzo A, Perrella O, Romagnoli L, Sousa V, De Re V, Dolcetti R, Buonaguro FM. Immune signatures in human PBMCs of idiotypic vaccine for HCV-related lymphoproliferative disorders. *J Transl Med* 2010;8:18.
17. Buonaguro L, Petrizzo A, Tornesello ML, Buonaguro FM. Translating tumor antigens into cancer vaccines. *Clin Vaccine Immunol* 2011;18:23-34.
18. Caggiari L, Cannizzaro R, De Zorzi M, Canzonieri V, Da Ponte A, De Re V. A new HLA-A*680106 allele identified in individuals with celiac disease from the Friuli area of northeast Italy. *Tissue Antigens* 2008;72(5):491-2.
19. Caggiari L, De Zorzi M, Ahlenstiel G, Rehmann B, De Re V. Identification of new MHC-A, -B, -C alleles in Pan troglodytes. *Tissue Antigens* 2008;72(1):79-83.
20. Caggiari L, De Zorzi M, Rehmann B, De Re V. Identification of a new Patr-B*01 variant, Patr-B*0102, by sequence-based typing in a chimpanzee (Pan troglodytes). *Tissue Antigens* 2010;75:186-8.
21. Caggiari L, Rehmann B, Folgori A, De Re V. Identification of four novel MHC-C alleles in chimpanzees. *Tissue Antigens* 2007;70(1):78-9.
22. Cecco S, Muraro E, Giacomini E, Martorelli D, Lazzarini R, Baldo P, Dolcetti R. Cancer Vaccines in Phase II/III Clinical Trials: State of the Art and Future Perspectives. *Curr Cancer Drug Targets* 2010, Nov 10 (online prima della stampa)
23. Celeghini C, Voltan R, Rimondi E, Gattei V, Zauli G. Perifosine selectively induces cell cycle block and modulates retinoblastoma and E2F1 protein levels in p53 mutated leukemic cell lines. *Invest New Drugs* 2010, Feb 4 (online prima della stampa)
24. Dal Bo M, Bretoni F, Forconi F, Zucchetto A, Bomben R, Marasca R, Deraglio S, Laurenti L, Efremov DG, Gaidano G, Del PG, & Gattei V. Intrinsic and extrinsic factors influencing the clinical course of B-cell chronic lymphocytic leukemia: prognostic markers with pathogenetic relevance. *J Transl Med* 2009;7:76.
25. Dal Bo M, Secchiero P, Degan M, Marconi D, Bomben R, Pozzato G, Gaidano G, Del Poeta G, Forconi F, Zauli G, Gattei V. MDM4 (MDMX) is overexpressed in chronic lymphocytic leukaemia (CLL) and marks a subset of p53 wild-type CLL with a poor cytotoxic response to Nutlin-3. *Br J Haematol* 2010,150:237-9.
26. Dammacco F, Tucci FA, Lauletta G, Gatti P, De Re V, Conteduca V, Sansonno S, Russi S, Marigliò MA, Chironna M, Sansonno D. Pegylated interferon- α , ribavirin, and rituximab combined therapy of hepatitis C virus-related mixed cryoglobulinemia: a long-term study. *Blood* 2010;116:343-53.
27. De Re V, Caggiari L, De Vita S, Mazzaro C, Lenzi M, Galli M, Monti G, Ferri C, Zignego AL, Gabrielli A, Sansonno D, Dammacco F, Libra M, Sacchi N, Talamini R, Spina M, Cannizzaro R, Guidoboni M, Dolcetti R. Genetic insights into the disease mechanisms of type II mixed cryoglobulinemia induced by hepatitis C virus. *Digest Liver Dis* 2007;39:S65-S71.
28. De Re V, Caggiari L, Dolcetti R, De Zorzi M, Simula MP, Toffoli G (GICAT). Immunogenetica delle linfoproliferazioni HCV-associate: il ruolo dell'HLA di classe II. In: *Tumori ed infezione da HIV. Tumori non-diagnostici per AIDS*. (GICAT Monografia 12). Milano: BIOMEDIA Editore; 2007.
29. De Re V, Caggiari L, Monti G, Libra M, Spina M, Dolcetti R, De Zorzi M, Racanelli V, Crovatto M, Toffoli G. HLA DR-DQ combination associated with the increased risk of developing human

- HCV positive non-Hodgkin's lymphoma is related to the type II mixed cryoglobulinemia. *Tissue Antigens* 2010;75:127-35.
30. De Re V, Caggiari L, Simula M.P, De Vita S, Mazzaro C, Lenzi M, Massimo GM, Monti G, Ferri C, Zignego AL, Gabrielli A, Sansonno D, Dammacco F, Libra M, Sacchi N, Talamini R, Spina M, Tirelli U, Cannizzaro R, Dolcetti R. Role of the HLA class II: HCV-related disorders. *Ann N Y Acad Sci* 2007;1107:308-18.
 31. De Re V, Caggiari L, Simula MP, De Vita S, Sansonno D, Dolcetti R. B-cell lymphomas associated with HCV infection. *Gastroenterology* 2007;132(3):1205-7.
 32. De Re V, De Vita S, Sansonno D, Toffoli G. Mixed cryoglobulinemia syndrome as an additional autoimmune disorder associated with risk for lymphoma development. *Blood* 2008;15;111(12):5760.
 33. De Re V, Garziera M. Genetic/molecular insights into the disease mechanisms of type II mixed cryoglobulinemia. In: Dammacco F (Ed.). *HCV Infection and Cryoglobulinemia*. 1st ed. Springer; 2011.
 34. De Re V, Pavan A, Sansonno S, Sansonno D, Racanelli V. Clonal CD27+ CD19+ B cell expansion through inhibition of FC gammaIIIR in HCV(+) cryoglobulinemic patients. *Ann N Y Acad Sci* 2009;1173:326-33.
 35. De Re V, Sansonno D, De Paoli P, Geremia S, Gatti P, Caggiari L, Simula MP, Toffoli G. Recent patents relating to HCV molecules like putative targets for therapeutic intervention. *Recent Patents on DNA & Gene Sequences* 2007;1(3):186-94.
 36. De Re V, Simula MP, Caggiari L, Orzes N, Spina M, Da Ponte A, De Appollonia L, Dolcetti R., Canzonieri V, Cannizzaro R. Proteins specifically hyperexpressed in a coeliac disease patient with aberrant T cells. *Clin Exp Immunol* 2007;148(3):402-9.
 37. De Re V, Simula MP, Cannizzaro R, Sansonno D, Canzonieri V, Gloghini A, Carbone A, Colombatti A, Marin MD, De Zorzi M, Toffoli G. HCV Inhibits antigen processing and presentation and induces oxidative stress response in gastric mucosa. *Proteomics clinical application* 2008;2:1290-9.
 38. De Re V, Simula MP, Pavan A, Garziera M, Marin D, Dolcetti R, de Vita S, Sansonno D, Geremia S, Toffoli G. Characterization of antibodies directed against the immunoglobulin light kappa chain variable chain region (VK) of hepatitis C virus-related type-II mixed cryoglobulinemia and B-cell proliferations. *Ann N Y Acad Sci* 2009;1173:152-60.
 39. De Re V, Simula MP. Molecular features of lymphoproliferation in mixed cryoglobulinemia. In: Dammacco F (Ed.). *HCV Infection and Cryoglobulinemia*. 1st ed. Springer; 2011.
 40. De Re V. Interferon-based therapy for chronic Hepatitis C: current and future perspectives. *Hepatitis Monthly* 2010;10:231-2.
 41. De Zorzi M, Caggiari L, Ahlenstiel G, Rehmann B., De Re V. Description of two new MHC class II DRB1 [Pan troglodytes (Patr)-DRB1] alleles. *Tissue Antigens* 2008;71(5):490-2.
 42. Deaglio S, Vaisitti T, Zucchetto A, Gattei V, Malavasi F. CD38 as a molecular compass guiding topographical decisions of chronic lymphocytic leukemia cells. *Semin Cancer Biol* 2010;20:416-23.
 43. Deambrogi C, De Paoli L, Fangazio M, Cresta S, Rasi S, Spina V, Gattei V, Gaidano G, Rossi D. Analysis of the REL, BCL11A, and MYCN proto-oncogenes belonging to the 2p amplicon in chronic lymphocytic leukemia. *Am J Hematol* 2010;85:541-4.
 44. Del Poeta G, Del Principe MI, Maurillo L, Rossi FM, Buccisano F, Ammatuna E, Simotti C, Zucchetto A, Catalano G, Bulian P, Bruno A, Venditti A, De Fabritiis P, Gattei V, Amadori S. Spontaneous apoptosis and proliferation detected by BCL-2 and CD71 proteins are important progression indicators within ZAP-70 negative chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2010;51:95-106.

45. Dolcetti R, De Rossi A. Telomere/telomerase interplay in virus-driven and virus-independent lymphomagenesis: Pathogenic and clinical implications. *Med Res Rev* 2010, Jun 14 (online prima della stampa)
46. Forconi F, Rinaldi A, Kwee I, Sozzi E, Raspadori D, Rancoita PM, Scandurra M, Rossi D, Deambrogi C, Capello D, Zucca E, Marconi D, Bomben R, Gattei V, Lauria F, Gaidano G, Bertoni F. Genome-wide DNA analysis identifies recurrent imbalances predicting outcome in chronic lymphocytic leukaemia with 17p deletion. *Br J Haematol* 2008;143(4):532-6.
47. Gattei V, Bulian P, Del Principe MI, Zucchetto A, Maurillo L, Buccisano F, Bomben R, Dal-Bo M, Luciano F, Rossi FM, Degan M, Amadori S, Del PG. Relevance of CD49d protein expression as overall survival and progressive disease prognosticator in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2008;111(2):865-73.
48. Libra M, Gloghini A, Malaponte G, Gangemi P, De Re V, Zignego AL, Spandidos DA, Nicoletti F, Stivala F, Carbone A. Prevalence of t(14;18) IGH-BCL2 translocation in mucosa associated lymphoid tissue lymphoma. *J Hepatol* 2008;49(2):170-4.
49. Libra M, Navolanic PM, Nicoletti F, De Re V, Mazzarino MC. Rituximab for treatment of lymphoproliferative disorders associated with hepatitis C virus (HCV) infection. In: Bonavida B (Ed.). *Rituximab-mediated molecular signaling and interaction with chemotherapeutic drugs*. Trivandrum (India): Research Signpost; 2007. p. 19-32.
50. Libra M, Polesel J, Russo AE, De Re V, Cinà D, Serraino D, Nicoletti F, Spandidos DA, Stivala F, Talamini R. Extrahepatic disorders of HCV infection: a distinct entity of B-cell neoplasia? *Int J Oncol* 2010;36:1331-40.
51. Maffei R, Martinelli S, Santachiara R, Rossi D, Guarnotta C, Sozzi E, Zucchetto A, Rigolin GM, Fiorcari S, Castelli I, Fontana M, Coluccio V, Leonardi G, Zucchini P, Tripodo C, Cuneo A, Gattei V, Del Poeta G, Forconi F, Gaidano G, Torelli G, Marasca R. Angiopoietin-2 plasma dosage predicts time to first treatment and overall survival in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2010;116:584-92.
52. Martello G, Rosato A, Ferrari F, Manfrin A, Cordenonsi M, Dupont S, Enzo E, Guzzardo V, Rondina M, Spruce T, Parenti AR, Daidone MG, Bicciato S, Piccolo S. A microRNA targeting Dicer for metastasis control. *Cell* 2010;141:1195-207.
53. Martorelli D, Houali K, Caggiari L, Vaccher E, Barman L, Franchin G, Gloghini A, Pavan A, Da Ponte A, Tedeschi RM, De Re V, Carbone A, Ooka T, De Paoli P, Dolcetti R. Spontaneous T cell responses to Epstein-Barr Virus-encoded BARTF1 protein and derived peptides in patients with nasopharyngeal carcinoma: bases for improved immunotherapy. *Int J Cancer* 2008;123(5):1100-7.
54. Martorelli D, Muraro E, Merlo A, Turrini R, Rosato A, Dolcetti R. Role of CD4+ cytotoxic T lymphocytes in the control of infectious diseases and cancer. *Int Rev Immunol* 2010;29:371-402.
55. Mazzaro C, De Re V, Spina M, Dal Maso L, Festini G, Comar C, Tirelli U, Pozzato G. Pegylated-interferon plus ribavirin for HCV-positive indolent non-Hodgkin lymphomas. *Br J Haematol* 2009;145:255-7.
56. Meléndez-Alafort L, Nadali A, Zangoni E, Banzato A, Rondina M, Rosato A, Mazzi U. Biokinetic and dosimetric studies of 188Re-Hyaluronic Acid: a new radiopharmaceutical for treatment of hepatocellular carcinoma. *Nucl Med Biol* 2009;36:693-701.
57. Merlo A, Turrini R, Dolcetti R, Martorelli D, Muraro E, Comoli P, Rosato A. The interplay between EBV and the immune system: a rationale for adoptive cell therapy of EBV-related disorders. *Haematol-Hematol J* 2010;95:1769-77.
58. Merlo A, Turrini R, Dolcetti R., Zanovello P, Amadori A, Rosato A. Adoptive cell therapy against EBV-related malignancies: a survey of clinical results. *Expert Opin Biol Th* 2008;8(9):1265-94.

59. Merlo A, Turrini R, Bobisse S, Zamarchi R, Alaggio R, Dolcetti R, Mautner J, Zanovello P, Amadori A, Rosato A. Virus-specific cytotoxic CD4⁺ T cells for the treatment of EBV-related tumors. *J Immunol* 2010;184:5895-902.
60. Montrone M, Martorelli D, Rosato A, Dolcetti R. Retinoids as critical modulators of immune functions: new therapeutic perspectives for old compounds. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets* 2009;9(2):113-31.
61. Pasini E, Caggiari L, Dal Maso L, Martorelli D, Guidoboni M, Vaccher E, Barzan L, Franchin G, Gloghini A, De Re V, Sacchi N, Serraino D, Carbone A, Rosato A, Dolcetti R. Undifferentiated nasopharyngeal carcinoma from a nonendemic area: protective role of HLA allele products presenting conserved EBV epitopes. *Int J Cancer* 2009;125(6):1358-64.
62. Pavan A, Spina M, Canzonieri V, Sansonno S, Toffoli G, De Re V. Recent prognostic factors in Diffuse Large B-Cell lymphoma indicate NF-kB pathway as a target for new therapeutic strategies. *Leukemia and Lymphoma* 2008;49(11):2048-58.
63. Ponzoni M, Ferreri AJ, Doglioni C, Dolcetti R. Unconventional therapies in ocular adnexal lymphomas. *Expert Rev Anticancer Ther* 2010;10:1341-3.
64. Quartuccio L, Fabris M, Salvin S, Isola M, Soldano F, Falletti E, Beltrami CA, De Re V, De Vita S. Bone marrow B-cell clonal expansion in type II mixed cryoglobulinaemia: association with nephritis. *Rheumatology* 2007;46(11):1657-61.
65. Rossi D, Bodoni CL, Zucchetto A, Rasi S, De Paoli L, Fangazio M, Rossi FM, Ladetto M, Gattei V, Gaidano G. Low CD49d expression and long telomere identify a chronic lymphocytic leukemia subset with highly favourable outcome. *Am J Hematol* 2010;85:619-22.
66. Rossi D, Cerri M, Capello D, Deambrogi C, Rossi FM, Zucchetto A, De PL, Cresta S, Rasi S, Spina V, Franceschetti S, Lunghi M, Vendramin C, Bomben R, Ramponi A, Monga G, Conconi A, Magnani C, Gattei V, Gaidano G. Biological and clinical risk factors of chronic lymphocytic leukaemia transformation to Richter syndrome. *Br J Haematol* 2008;142(2):202-15.
67. Rossi D, Cerri M, Deambrogi C, Sozzi E, Cresta S, Rasi S, De Paoli L, Spina V, Gattei V, Capello D, Forconi F, Lauria F, Gaidano G. The prognostic value of TP53 mutations in chronic lymphocytic leukemia is independent of Del17p13: implications for overall survival and chemorefractoriness. *Clin Cancer Res* 2009;15(3):995-1004.
68. Rossi D, Spina V, Cerri M, Rasi S, Deambrogi C, De Paoli L, Laurenti L, Maffei R, Forconi F, Bretoni F, Zucca E, Agostinelli C, Cabras A, Ludioni M, Martini M, Magni M, Deraglio S, Ladetto M, Nomdedeu JF, Besson C, Ramponi A, Canzonieri V, Paulli M, Marasca R, Larocca LM, Carbone A, Pileri SA, Gattei V, Gaidano G. Stereotyped B-cell receptor is an independent risk factor of chronic lymphocytic leukemia transformation to Richter syndrome. *Clin Cancer Res* 2009;15(13):4415-22.
69. Rossi D, Zucchetto A, Rossi FM, Capello D, Cerri M, Deambrogi C, Cresta S, Rasi S, De PL, Lobetti BC, Bulian P, Del PG, Ladetto M, Gattei V, Gaidano G. CD49d expression is an independent risk factor of progressive disease in early stage chronic lymphocytic leukemia. *Haematologica* 2008;93(10):1575-9.
70. Rossi FM, Del Principe MI, Rossi D, Irno Consalvo M, Luciano F, Zucchetto A, Bulian P, Bomben R, Dal Bo M, Fangazio M, Benedetti D, Degan M, Gaidano G, Del Poeta G, Gattei V. Prognostic impact of ZAP-70 expression in chronic lymphocytic leukemia: mean fluorescence intensity T/B ratio versus percentage of positive cells. *J Transl Med* 2010;8:23.
71. Rustighi A, Tiberi L, Soldano A, Napoli M, Nuciforo P, Rosato A, Kaplan F, Capobianco A, Pece S, Di Fiore PP, Del Sal G. The prolyl-isomerase Pin1 is a novel Notch1 target that enhances Notch1 activation in cancer. *Nat Cell Biol* 2009;11:133-42.
72. Ruzza P, Rosato A, Nassi A, Rondina M, Zorzini M, Rossi CR, Floreani M, Quintieri L. Synthesis and preliminary *in vitro* biological evaluation of 4-[(4-hydroxyphenyl)sulfanyl]but-3-en-2-one, a

- 4-mercaptophenol derivative designed as a novel bifunctional antimelanoma agent. *J Med Chem* 2009;52:4973-6.
73. Ruzza P, Rosato A, Rossi CR, Floreani M, Quintieri L. Glutathione transferases as targets for cancer therapy. *Anticancer Agents Med Chem* 2009;9:763-77.
 74. Sansonno D, Carbone A, De Re V, Dammacco F. Hepatitis C virus infection, cryoglobulinaemia, and beyond. *Rheumatology* 2007;46(4):572-8.
 75. Sansonno D, Tucci FA, Lauletta G, De Re V, Montrone M, Troiani L, Sansonno L, Dammacco F. Hepatitis C virus productive infection in mononuclear cells from patients with cryoglobulinaemia. *Clin Exp Immunol* 2007;147(2):241-8.
 76. Secchiero P, di Iasio MG, Melloni E, Voltan R, Celeghini C, Tiribelli M, Dal Bo M, Gattei V, Zauli G. The expression levels of the pro-apoptotic XAF-1 gene modulate the cytotoxic response to Nutlin-3 in B chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 2010;24:480-3.
 77. Secchiero P, Melloni E, di Iasio MG, Tiribelli M, Rimondi E, Corallini F, Gattei V, Zauli G. Nutlin-3 up-regulates the expression of Notch1 in both myeloid and lymphoid leukemic cells, as part of a negative feedback antiapoptotic mechanism. *Blood* 2009;113(18):4300-8.
 78. Simula MP, Caggiari L, Gloghini A, De Re V. HCV-related immunocytoma and type II mixed cryoglobulinemia-associated autoantigens. *Ann Ny Acad Sci* 2007;1110:121-30.
 79. Simula MP, De Re V. HCV-induced oxidative stress and mitochondrial dysfunction: A focus on recent advances in proteomics. *Proteomics – Clinical Applications* 2010;4:782-93.
 80. Spessotto P, Zucchetto A, Degan M, Wasserman B, Danussi C, Bomben R, Perris R, Canzonieri V, Radillo O, Colombatti A, Gattei V. Laminin-332 (Laminin-5) is the major motility ligand for B cell chronic lymphocytic leukemia. *Matrix Biol* 2007;26(6):473-84.
 81. Terrin L, Trentin L, Degan M, Corradini I, Bertorelle R, Carli P, Maschio N, Bo MD, Noventa F, Gattei V, Semenzato G, De RA. Telomerase expression in B-cell chronic lymphocytic leukemia predicts survival and delineates subgroups of patients with the same igVH mutation status and different outcome. *Leukemia* 2007;21(5):965-72.
 82. Zauli G, di Iasio MG, Secchiero P, Dal Bo M, Marconi D, Bomben R, Del PG, Gattei V. Exposure of B cell chronic lymphocytic leukemia (B-CLL) cells to nutlin-3 induces a characteristic gene expression profile, which correlates with nutlin-3-mediated cytotoxicity. *Curr Cancer Drug Targets* 2009;9(4):510-8.
 83. Zibellini S, Capello D, Forconi F, Marcattili P, Rossi D, Rattotti S, Franceschetti S, Sozzi E, Cencini E, Marasca R, Baldini L, Tucci A, Bertoni F, Passamonti F, Orlandi E, Varettoni M, Merli M, Rizzi S, Gattei V, Tramontano A, Paulli M, Gaidano G, Arcaini L. Stereotyped patterns of B-cell receptor in splenic marginal zone lymphoma. *Haematologica* 2010;95:1792-6.
 84. Zucchetto A, Benedetti D, Tripodo C, Bomben R, Dal Bo M, Marconi D, Bossi F, Lorenzon D, Degan M, Rossi FM, Rossi D, Bulian P, Franco V, Del PG, Deaglio S, Gaidano G, Tedesco F, Malavasi F, Gattei V. CD38/CD31, the CCL3 and CCL4 chemokines, and CD49d/vascular cell adhesion molecule-1 are interchained by sequential events sustaining chronic lymphocytic leukemia cell survival. *Cancer Res* 2009;69(9):4001-9.
 85. Zucchetto A, Cattarossi I, Nanni P, Zaina E, Prato G, Gilestro M, Marconi D, Bulian P, Rossi FM, Del Vecchio L, Omedè P, Geuna M, Del Poeta G, Gattei V. Cluster analysis of immunophenotypic data: The example of chronic lymphocytic leukemia. *Immunol Lett* 2011;134:137-44.
 86. Zucchetto A, Tripodo C, Benedetti D, Deaglio S, Gaidano G, Del Poeta G, Gattei V. Monocytes/macrophages but not T lymphocytes are the major targets of the CCL3/CCL4 chemokines produced by CD38(+)/CD49d(+) chronic lymphocytic leukaemia cells. *Br J Haematol* 2010;150:111-3

Nel 2010 è stato prodotto un opuscolo per i pazienti dal titolo “Crioglobulinemia mista”, a cura del GISC (Gruppo Italiano per lo Studio delle Crioglobulinemie).

APPLICAZIONE DELLA CHEMIOTERAPIA ALLA RIMODULAZIONE DELLA RISPOSTA IMMUNE ANTITUMORALE: STUDIO DEI MECCANISMI E *PROOF-OF-CONCEPT* NELL'UOMO

Enrico Proietti

Dipartimento di Biologia Cellulare e Neuroscienze, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Riassunto del progetto

Il presente progetto si propone di verificare attraverso studi clinici *proof-of-concept* la capacità del pre-trattamento con chemioterapici di potenziare la risposta immune contro il tumore.

Sebbene l'importanza del microambiente sulla crescita tumorale sia ormai ampiamente riconosciuta, la maggior parte degli interventi terapeutici nel cancro è ancora disegnata per agire esclusivamente in modo diretto contro le cellule tumorali. Solo di recente, la ricerca si è orientata verso la comprensione delle interazioni tumore/microambiente, riconsiderando l'uso di alcuni chemioterapici per i loro effetti sulla omeostasi del sistema emopoietico e linfopoietico, a prescindere dalla loro azione diretta contro il tumore.

Diversi studi hanno dimostrato che la chemioterapia antineoplastica può essere vantaggiosamente combinata con strategie di immunoterapia. Alcuni dei meccanismi ipotizzati riguardano la capacità di chemioterapici di ridurre la risposta immunitaria regolatoria, di promuovere la risposta attiva mediante l'induzione di fattori emopoietici e linfopoietici, di incrementare la disponibilità di antigeni tumorali e agire sulle cellule deputate al loro processamento (*Antigen Presenting Cells*, APC).

L'immunoterapia adottiva è una strategia terapeutica basata sull'infusione di elevate quantità di linfociti attivati *ex vivo* con IL-2 (LAK) insieme alla somministrazione di alte dosi di IL-2.

Finora questa strategia terapeutica è stata in grado di indurre regressioni tumorali solo in una piccola frazione di pazienti con melanoma metastatico, ma al prezzo di una considerevole tossicità. È stato rilevante il contributo della chemioterapia linfoablattiva, non mieloablattiva, al successo dell'immunoterapia adottiva: essa, infatti, crea un ambiente depleto di linfociti in cui sono assenti le cellule immunosoppressive, mentre le citochine omeostatiche (IL-2, IL-7) restano a disposizione delle cellule infuse.

In un primo studio in pazienti con melanoma o carcinoma squamoso della testa e del collo, la risposta immune contro il tumore sarà stimolata mediante vaccinazione con cellule dendritiche autologhe inoculate direttamente nella lesione tumorale dopo un preventivo trattamento chemioterapico. In questi pazienti sarà monitorata la risposta immunologica antitumorale, inoltre, al momento di massima risposta immune i linfociti circolanti di questi pazienti saranno prelevati mediante aferesi e congelati per essere successivamente reinfusi dopo trattamento con ciclofosfamide (Cy). In un secondo trial, in pazienti con carcinoma dell'ovaio o con carcinoma del colon retto, i linfociti isolati dal sangue saranno espansi *in vitro* ed "educati" a riconoscere gli antigeni tumorali mediante opportuni metodi di coltura e, quindi, reinfusi nello stesso paziente dopotratamento con Cy e fludarabina.

Studi preclinici in modelli animali affiancheranno lo studio principale per fornire indicazioni complementari sui meccanismi di modulazione delle risposte immuni antitumorali da parte dei

diversi agenti chemioterapici. In particolare, sarà studiato il ruolo dei sistemi di riparazione al danno genotossico da chemioterapici sull'induzione di meccanismi omeostatici del sistema linfo-emopoietico; sarà studiato l'effetto dei chemioterapici sui linfociti T regolatori e, infine, sarà studiata l'importanza del microambiente tumorale sull'azione citotossica dei linfociti infiltranti il tumore.

Il *core* dello studio è rappresentato da due studi clinici di fase I-II per lo sviluppo di protocolli di terapia combinata che includono trattamenti integrati di chemioterapia e immunoterapia.

L'immunoterapia si avvarrà della messa a punto e validazione di metodiche per la preparazione di un vaccino antitumorale basato sull'uso di cellule dendritiche coltivate in presenza di interferon alfa (IFN-DC) e caricate con corpi apoptotici di cellule di melanoma o inoculate direttamente nella lesione tumorale preventivamente trattata con chemioterapia per indurre la formazione di corpi apoptotici. Nell'ambito di questo studio si intende standardizzare metodi esistenti e mettere a punto nuovi metodi di valutazione dei correlati immunologici della risposta antitumorale.

Saranno eseguiti studi di genomica per identificare elementi coinvolti negli effetti del trattamento chemioterapico sull'omeostasi del sistema linfo-emopoietico e valutare l'impatto di polimorfismi di geni immuno-relati sulla modulazione della risposta al vaccino. Il primo dei due studi si avvarrà dell'esperienza clinica già maturata dai ricercatori dell'ISS in uno studio appena concluso con dacarbazina (DTIC) e vaccino su pazienti con melanoma. Il secondo studio sarà focalizzato sull'isolamento, espansione e reinfusione dopo trattamento linfodepletivo, di linfociti autologhi educati *ex vivo* contro il tumore, in pazienti con carcinoma dell'ovaio o del colon-retto. Entrambi gli studi avranno come *end point* primari la standardizzazione dei metodi di preparazione delle DC o dei TIL (*Tumor-Infiltrating Lymphocytes*) in condizioni GMP (*Good Manufacturing Practice*), la valutazione della tossicità e tollerabilità dei trattamenti e la valutazione della loro capacità di indurre risposte immunitarie significative. *End point* secondari saranno: lo studio e la standardizzazione dei correlati immunologici della risposta antitumorale, la definizione dei profili genici indotti dai trattamenti chemioterapici e la valutazione del ruolo dei polimorfismi di alcuni geni immuno-relati e, infine, la valutazione dell'efficacia del trattamento in termini di intervallo libero da malattia e di sopravvivenza complessiva.

Stato generale di sviluppo del progetto e conseguimento dei risultati

Sulla base di esperienze recenti è stato possibile riconsiderare l'uso di alcuni chemioterapici non più soltanto per i loro effetti diretti sulla cellula tumorale ma anche per gli effetti sull'organismo ed in particolare sul sistema emopoietico e linfopoietico. In particolare, alcuni chemioterapici hanno mostrato di avere la capacità di ridurre la risposta immunitaria soppressiva operata dal tumore nel così detto *cancer immunoediting*, come anche la capacità di promuovere la risposta immunitaria attiva mediante l'induzione di fattori emopoietici e linfopoietici e, ancora, di incrementare la disponibilità di antigeni tumorali ed agire sulla maturazione delle cellule deputate al processamento di questi ultimi (APC).

Il progetto attuale si è proposto di approfondire la comprensione puntuale di questi meccanismi con studi in modelli sperimentali di tumore e nell'uomo, attraverso l'applicazione ai pazienti oncologici di nuove strategie di combinazione di chemio e immunoterapia in trial clinici controllati. Tutto questo attraverso la collaborazione indipendente ma complementare di tre Unità Operative composte a loro volta da diversi gruppi di ricerca.

L'UO1 si è assunta l'impegno di svolgere ricerche nell'uomo, mediante studi clinici, e in modelli sperimentali animali *in vivo* e *in vitro*. Lo studio clinico che prevedeva la combinazione di chemioterapia e somministrazione intratumorale di cellule dendritiche (DC) autologhe provenienti da pazienti con melanoma avanzato (stadio IIIb/IVa di malattia) e carcinoma squamoso della testa e del collo è stato disegnato e il protocollo sottoposto al giudizio delle autorità regolatorie è pronto per essere avviato. Anche la "cell factory GMP" in cui produrre le cellule ha subito il giudizio delle autorità regolatorie ed è pronta per iniziare la sua attività. Questo studio è stato preceduto, per motivi organizzativi, da uno studio di combinazione di chemioterapia con DTIC e vaccinazione convenzionale basata sull'uso di peptidi di antigeni melanoma-associati. Tale studio, che ha già arruolato 14 pazienti dei 50 previsti, sta fornendo il materiale necessario per definire le migliori modalità di monitoraggio immunologico e per consentire la validazione dell'analisi molecolare mediante *microarray* della modulazione degli mRNA indotta dalla chemioterapia e dalla vaccinazione. La piattaforma per l'analisi mediante *microarray* è stata già messa a punto da Eleonora Aricò, I campioni di linfociti dei primi pazienti trattati sono stati già raccolti e l'mRNA estratto. Allo stesso tempo, studi condotti in modelli animali hanno permesso di mettere a punto la metodica di analisi dei livelli di DNA 8 oxaguanina e della instabilità dei micro satelliti (Margherita Bignami). Al contrario, l'analisi mediante spettroscopia di risonanza magnetica nucleare effettuata nel modello tumorale utilizzato, non ha mostrato alterazioni di pH intracellulare ed extracellulare significative né durante la crescita tumorale né in seguito a trattamento con chemioterapico, sebbene una lieve riduzione del pH sia stata osservata in seguito a somministrazione di omeprazolo; riduzione, peraltro non correlabile con un aumento di efficacia terapeutica della chemio-immunoterapia (Franca Podo). Gli studi condotti sul modello murino di Tumore di Friend (FLC) hanno mostrato l'azione della ciclofosfamide nel ridurre il numero e la funzionalità dei linfociti T regolatori e l'importanza del ruolo dell'IFN alfa in questo fenomeno (Gino Doria). Anche il fattore di trascrizione IRF-1, che ugualmente svolge un ruolo importante nella riduzione dei linfociti T regolatori, media l'azione della ciclofosfamide nel ridurre il numero di questa particolare sottoclasse di linfociti (Angela Battistini).

L'UO2 è costituita da un gruppo interdisciplinare che vede la stretta collaborazione tra la Dermatologia Oncologica ISG (Caterina Catricalà), l'UO clinica dell'Oncologia Medica A (Virginia Ferraresi) e l'Unità del Laboratorio di Immunologia dell'Istituto Regina Elena per la cura dei tumori (Paola Nisticò), che ha l'obiettivo di reclutare pazienti di melanoma III/IV stadio, da trattare con terapie combinate di DTIC e immunoterapia. Dalla correlazione tra l'attività funzionale di centinaia di cloni e l'analisi delle sequenze della catena beta del TCR, eseguita sia a livello della risposta spontanea che in quella indotta dai due diversi trattamenti, è stato dimostrato che l'inoculo della DTIC un giorno prima della vaccinazione è in grado di diversificare il repertorio dei linfociti CD8+ Melan-A-specifici, e che tale evento è correlabile ad una migliore risposta clinica. Sono in corso studi volti a individuare criteri di predittività di risposta clinica a terapie vaccinali o a terapie combinate, mediante la valutazione del repertorio spontaneo dei pazienti. Inoltre, il gruppo di Ornella Franzese dell'Università Tor Vergata, afferente a questa UO, ha analizzato *in vitro* il ruolo della temozolomide (metabolita attivo della dacarbazina) nella modulazione di pathway di senescenza di linfociti T CD8+. Linfociti T CD8+ esposti a TMZ hanno evidenziato un aumento della fosforilazione di Akt in corrispondenza di Ser 473, dei livelli totali di chinasi, e dei livelli della subunità p65 di NF-kB. Esperimenti sono in corso per studiare gli effetti della dacarbazina sulla funzionalità linfocitaria e su un'eventuale protezione dal meccanismo di senescenza replicativa.

L'UO3 ha portato avanti gli studi preclinici e clinici di immunoterapia dei tumori, come unica terapia o in combinazione con altre terapie oncologiche standard. Il gruppo di Licia Rivoltini ha svolto studi di fase II in pazienti affetti da melanoma, carcinoma prostatico o carcinoma renale, ottenendo i seguenti risultati: 1. la somministrazione di ciclofosfamide a basse

dosi (300 mg/m²) non determina modulazione negativa della frequenza di T regolatorie (Treg) e di cellule mieloidi soppressorie (MDSC) in pazienti affetti da melanoma o carcinoma prostatico; 2. la somministrazione di chemioterapia in associazione con IL-2 e bevacizumab in pazienti con carcinoma renale metastatico determina una significativa diminuzione della frequenza delle Treg nel sangue periferico dei pazienti che poi svilupperanno risposta clinica al trattamento, suggerendo come questo parametro rappresenti un possibile fattore predittivo di beneficio clinico; 3. in pazienti affetti da melanoma metastatico l'aggiunta degli inibitori di pompa protonica alla somministrazione di chemioterapia (cisplatino) determina una significativa riduzione delle MDSC circolanti associata ad un miglioramento della sopravvivenza. L'UO Rivoltini ha inoltre in corso analoghi studi mirati ad evidenziare possibili modulazioni delle componenti cellulari immunomodulatorie (Treg e MDSC) in pazienti sottoposti a bioterapie quali Ipilimumab, BRAF o MEK inhibitors, e TKI inhibitors.

Il gruppo di Maria Rescigno si è concentrata sul modello spontaneo di tumore intestinale APCmin/+, valutando l'espressione di geni infiammatori nell'infiltrato leucocitario del tumore e nel microambiente tumorale: questi tumori sono caratterizzati da un aumento dell'infiltrato leucocitario soprattutto di tipo Gr1 e questo correla con un aumento di espressione di chemochine coinvolte nel loro richiamo. Questo aumento è accompagnato da una drastica riduzione dei linfociti B e CD8, ma non CD4. Questi ultimi sono caratterizzati da un aumento di linfociti polarizzati verso Th17. Siccome anche nella milza si osserva una drastica riduzione dei linfociti B e dei linfociti T CD8, è possibile che le variazioni di popolazioni leucocitarie possano essere dovute alla mutazione sistemica del gene APC e non allo sviluppo del tumore. La riduzione dei linfociti B potrebbe svolgere un ruolo importante nella risposta alla Salmonella che è caratterizzata da una forte componente anticorpale. Sono in corso attualmente esperimenti di immunizzazione dei topi con Salmonella, e valutazione della risposta anticorpale e della risposta antitumorale nei topi immunizzati.

Articolazione del progetto

L'articolazione del progetto è descritta nella Tabella 1.

Tabella 1. Articolazione del progetto Applicazione della chemioterapia alla rimodulazione della risposta immune antitumorale: studio dei meccanismi e *proof-of-concept* nell'uomo

Proponente (<i>Cordinatore del progetto</i>)	Unità Operativa (UO) (<i>ente di appartenenza: responsabile</i>)	Gruppi di ricerca afferenti	Responsabile scientifico del gruppo
ISS (<i>Enrico Proietti</i>)	UO1 (<i>ISS: Enrico Proietti</i>)	ISS	Enrico Proietti
		ISS	Angela Battistini
		ISS	Margherita Bignami
		ISS	Franca Podo
		ISS	Eleonora Aricò
	UO2 (<i>IRE: Paola Nisticò</i>)	CNR	Gino Doria
		IRE	Paola Nisticò
		IRE	Piergiorgio Natali
		IRE	Virginia Ferraresi
		Istituto S. Gallicano Università di Roma Tor Vergata	Caterina Catricalà Ornella Franzese
	UO3 (<i>HSR: Marco Bregni</i>)	HSR	Marco Bregni
		INT	Licia Rivoltini
		IEO	Maria Rescigno

Pubblicazioni conseguite nell'ambito del progetto

Il progetto ha prodotto le seguenti pubblicazioni:

1. Barkholt L, Bregni M. Current immunotherapy for solid tumors. *Immunotherapy* 2009;1:483-93.
2. Battistini A. Interferon regulatory factors in hematopoietic cell differentiation and immune regulation. *J Interferon Cytokine Res* 2009;29:765-80.
3. Bracci L, La Sorsa V, Belardelli F, Proietti E Type I interferons as vaccine adjuvants against infectious diseases and cancer. *Expert Rev Vaccines* 2008;7(3):373-81.
4. Bracci L, Proietti E, Belardelli F. IFN-alpha and novel strategies of combination therapy for cancer. *Ann N Y Acad Sci* 2007;1112:256-68.
5. Bracci L, Schumacher R, Provenzano M, Adamina M, Rosenthal R, Groeper C, Zajac P, Iezzi G, Proietti E, Belardelli F, Spagnoli GC. Efficient stimulation of T cell responses by human IFN-alpha-induced dendritic cells does not require Toll-like receptor triggering. *J Immunother* 2008;31(5):466-74.
6. Casorelli I, Pannellini T, De Luca G, Degan P, Chiera F, Iavarone I, Giuliani A, Butera A, Boirivant M, Musiani P, Bignami M. The Mutyh base excision repair gene influences the inflammatory response in a mouse model of ulcerative colitis. *PLoS One* 2010;5:e12070.
7. Giammarioli AM, Maselli A, Casagrande A, Gambardella L, Gallina A, Spada M, Giovannetti A, Proietti E, Malorni W, Pierdominici M. Pyrimethamine induces apoptosis of melanoma cells via a caspase and cathepsin double-edged mechanism *Cancer Res* 2008;68(13):5291-300.
8. Maio M, Nicolay HJ, Ascierto PA, Belardelli F, Camerini R, Colombo MP, Queirolo P, Ridolfi R, Russo V, Fonsatti E, Parmiani G; NIBIT. Sixth annual meeting of the Italian network for tumor biotherapy (NIBIT), Siena, 16-18 October 2008. *Cancer Immunol Immunother* 2010;59:1895-901.
9. Moschella F, Proietti E, Capone I, Belardelli F. Combination strategies for enhancing the efficacy of immunotherapy in cancer patients. *NY Acad Sci* 2010;1194:169-78.
10. Nisticò P, Capone I, Palermo B, Del Bello D, Ferraresi V, Moschella F, Aricò E, Valentini M, Bracci L, Cognetti F, Ciccarese M, Vercillo G, Roselli M, Fossile E, Tosti ME, Wang E, Marincola F, Imberti L, Catricalà C, Natali PG, Belardelli F, Proietti E. Chemotherapy enhances vaccine-induced antitumor immunity in melanoma patients. *Int J Cancer* 2009;124(1):130-9.
11. Pace L, Vitale S, Dettori B, Palombi C, La Sorsa V, Belardelli F, Proietti E, Doria G. APC activation by IFN-alpha decreases regulatory T cell and enhances Th cell functions. *J Immunol* 2010;184:5969-79.
12. Palermo B, Del Bello D, Sottini A, Serana F, Ghidini C, Gualtieri N, Ferraresi V, Catricalà C, Belardelli F, Proietti E, Natali PG, Imberti L, Nisticò P. Dacarbazine treatment before peptide vaccination enlarges T-cell repertoire diversity of melan-a-specific, tumor-reactive CTL in melanoma patients. *Cancer Res* 2010;70:7084-92.
13. Saccheri F, Pozzi C, Avogadri F, Barozzi S, Faretta M, Fusi P, Rescigno M. Bacteria-induced gap junctions in tumors favor antigen cross-presentation and antitumor immunity. *Sci Transl Med* 2010;2:44ra57.
14. Schiavoni G, Sistigu A, Valentini M, Mattei F, Sestili P, Spadaro F, Sanchez M, Lorenzi S, D'Urso MT, Belardelli F, Gabriele L, Proietti E, Bracci L. Cyclophosphamide synergizes with type I interferons through systemic dendritic cell reactivation and induction of immunogenic tumor apoptosis. *Cancer Res* 2010, Dec 13 (online prima della stampa)

IDENTIFICAZIONE DI MARCATORI PER LA PREDIZIONE DELLA RISPOSTA A NUOVI FARMACI ANTITUMORALI (INIBITORI DI HDAC, TIROSINO CHINASI E POMPE IONICHE)

Pier Giuseppe Pelicci

Dipartimento di Oncologia Sperimentale, Istituto Europeo di Oncologia, Milano

Riassunto del Progetto

La caratterizzazione sistematica delle alterazioni genetiche e funzionali dei tumori ha consentito di identificare numerosi bersagli molecolari per la generazione di nuovi farmaci (farmaci molecolari). I primi studi clinici eseguiti con tali farmaci hanno confermato le proprietà attese di efficacia e scarsa tossicità. In generale, però, i farmaci molecolari si sono dimostrati attivi in una frazione modesta dei pazienti trattati, verosimilmente in quei casi nei quali lo specifico bersaglio molecolare è accessibile e/o biologicamente rilevante.

L'obiettivo di questo programma di ricerca è la identificazione di marcatori biologici e molecolari di predizione della risposta clinica ad alcuni dei farmaci molecolari disponibili: inibitori di istone-deacetilasi, HDACi (VPA e SAHA); inibitori delle tirosino chinasi, TKi (herceptin e imatinib); inibitori delle pompe ioniche (PPI) in selezionati tipi di tumore (tumori della mammella, melanomi, leucemie mieloidi e glioblastomi). I tumori inseriti nello studio vengono caratterizzati per l'espressione del bersaglio e, ove appropriato, per il suo stato di attivazione o per la presenza di alterazioni genetiche. La sensibilità ai farmaci molecolari selezionati viene analizzata sia sul "bulk" delle cellule tumorali che su colture di cellule staminali dello stesso tumore. Lo studio si avvale di modelli preclinici di neoplasia: i) *modelli animali*, comprendenti topi transgenici (leucemie mieloidi acute ottenute mediante transgenizzazione delle proteine di fusione PML-RAR e AML1-ETO; leucemia mieloide cronica esprimente bcr-abl; tumore mammario esprimente erbB2; melanomi sovraesprimenti B-Raf) e xenotrapianti dei corrispondenti tumori umani in topi immunodeficienti. ii) *campioni umani*, comprendenti colture primarie di tumore (per esempio cellule epiteliali mammarie e di melanoma), colture di cellule tumorali staminali (mammosfere, neurosfere, melanosfere e LTC-IC) e campioni biotipici dagli stessi tumori.

La attività sperimentale è articolata in tre fasi:

Fase 1: Valutazione della attività biologica (crescita cellulare, apoptosi, senescenza, ciclo cellulare), biochimica (effetto sulle vie di segnalazione downstream allo specifico bersaglio molecolare: HDAC, TK, pompe ioniche) e molecolare (profili di espressione) di ciascun farmaco nelle varie colture primarie di tumore e nei modelli murini transgenici disponibili. Lo scopo di questi studi è di portare alla identificazione di bersagli critici della risposta e/o potenziali marcatori.

Fase 2: Valutazione dell'espressione dei marcatori di risposta nelle biopsie dei tumori, mediante ibridazione in situ e immunohistochimica.

Fase 3: Validazione della efficacia predittiva dei marcatori selezionati mediante studi correlativi su xenotrapianti di tumori umani. Stiamo anche conducendo studi preliminari per la caratterizzazione del bersaglio molecolare di nuovi farmaci (ET-43) potenzialmente attivi nei confronti di liposarcomi esprimenti la proteina di fusione FUS-CHOP.

Le attività di ricerca di questo programma sono ripartite in tre unità operative di cui sono rispettivamente Responsabili Scientifici Pier Giuseppe Pelicci, Maria Grazia Daidone e Gaetano Finocchiaro. Ad ogni UO afferiscono più gruppi di ricerca con specifica *expertise*.

Stato generale di sviluppo del progetto e conseguimento dei risultati

Il programma nel complesso ha continuato a svilupparsi con successo lungo le linee proposte, conseguendo notevoli risultati, come dimostrato dal consistente numero di pubblicazioni (26) in prestigiose riviste internazionali anche per il 2010:

– *Risposta agli HDACi in tumori mammari e melanomi e glioblastomi*

Precedentemente abbiamo dimostrato che tumori acetilati sono resistenti all'azione degli HDACi mentre quelli ipoacetilati sono sensibili. Abbiamo approfondito maggiormente l'analisi bioinformatica, concentrata in due fasi. Una prima fase di selezione dei geni in base alla loro differente espressione in tumori resistenti e sensibili, ed una seconda fase di ulteriore riduzione di queste *signature* geniche in modo da ottenere combinazioni allo stesso tempo altamente predittive ma costituite da un numero di geni il più esiguo possibile. In questo modo il nostro sistema può prevedere, sulla base dello stato di acetilazione degli istoni, se un determinato tumore risponderà al trattamento con HDACi. Siamo in attesa di nuovi campioni di tumori primari per poter procedere con la validazione sperimentale finale. Abbiamo anche continuato a testare gli HDACi VPA e SAHA sulle mammosfere (colonie sferiche che crescono in sospensione e originano dall'espansione clonale delle cellule staminali mammarie). I farmaci sono stati utilizzati a diverse concentrazioni ed in entrambi i casi il trattamento ad alte dosi ha mostrato un effetto tossico sia sulle cellule staminali che sui progenitori, mentre a basse dosi i farmaci non hanno influenzato la crescita delle sfere. È ora in programma il trattamento di cellule staminali tumorali con basse dosi dei due farmaci, per verificare una potenziale tossicità sulle cellule tumorali a dosi che non hanno effetti sulle cellule normali. Per quel che riguarda il melanoma ci siamo concentrati sullo studio dei meccanismi che consentono la crescita, la migrazione e l'invasione delle cellule di melanoma attraverso la creazione *in vitro* di un modello di *melanoma genesis* a partenza da melanociti umani immortalizzati mediante la sovraespressione di hTERT e spegnimento del gene Rb. Queste cellule verranno successivamente trasformate in melanomi invasivi mediante sovraespressione di geni mutati frequentemente nel melanoma, quali BRAF e NRAS, ed il potenziale metastatico verrà analizzato mediante esperimenti *in vivo*.

Come da programma abbiamo effettuato esperimenti di ChIP in linee di neurosfere da glioblastoma per studiare 4 dei geni descritti come target del complesso PRC2 in cellule staminali embrionali e in tumori aggressivi: TRIM9, VDR, MYOB5B and EFNA3. Questo ci ha permesso di validarli come target diretti sia di HDAC1 che di EZH2. Abbiamo anche isolato e caratterizzato altre linee di neurosfere di glioblastoma per l'espressione di geni afferenti ai complessi Polycomb/HDAC e di proteine antagoniste ad attività istone demetilasi. Tre linee di neurosfere di glioblastoma già completamente caratterizzate sono state trattate con due HDACi: SAHA ed ITF-2357. ITF-2357 è risultato più efficace, a parità di concentrazione, nell'inibire la proliferazione cellulare e nell'induzione dell'espressione di due dei quattro geni target di EZH2 precedentemente identificati.

- *Rai e glioblastomi*
Abbiamo osservato che il silenziamento di Rai in cellule staminali tumorali isolate da pazienti diversi provoca una diminuzione significativa della migrazione e invasione cellulare, favorendo la sopravvivenza. La deplezione di Rai sembra associata a un'alterazione di molteplici vie di segnalazione, che stiamo ora approfondendo.
- *Caratterizzazione dei componenti della famiglia di p53 (p63 e p73)*
L'obiettivo principale del terzo anno di ricerche è stato quello di continuare la caratterizzazione a livello biochimico e cellulare della regolazione dell'espressione dei componenti della famiglia di p53 (p63 e p73) dimostrando in tumori mammari di origine duttale il ruolo fisiologico del gene omeobox OTX1, che specificatamente e solo nel processo oncogenico appare controllato dal fattore di trascrizione p53. Si è anche continuato lo studio della regolazione post traduzionale dei fattori di trascrizione appartenenti alla famiglia di p53 e dei meccanismi di morte cellulare dovuta alla modificazione patologica o farmacologica delle proteine che formano i canali di comunicazione, dimostrando che alcuni mutanti di connessina 26 inducono morte per necrosi deregolando i flussi di calcio.
- *Deregolazione di recettori tirosin-chinasici-Inibitori delle tirosino chinasi- Caratterizzazione preclinica di nuovi composti*
Evidenze cliniche di risposta a farmaci inibitori di tirosin-chinasi sono state riportate in associazione ai profili upstream/downstream per: tumore fibroso solitario, cordoma, sarcoma alveolare e dermatofibrosarcoma protuberans. In adenocarcinomi polmonari si è osservata attivazione di recettori appartenenti alla famiglia di EGFR e PDGFR oltre a FGFR3 e RON, sono stati indagati i geni PTEN, PI3K, KRAS, BRAF e TP53 e si è osservata deregolazione in almeno uno di questi nell'80% dei casi. Nei GIST il *molecular modeling* ha evidenziato associazione tra la mutazione di KIT (L576P) e resistenza primaria ad Imatinib, mentre due differenti mutazioni a livello del PDGFRA sono indicative di risposta al farmaco. Nel trattamento neoadiuvante del carcinoma mammario, Trastuzumab sembra principalmente agire attraverso un'attività citostatica antiproliferativa che cessa al termine della somministrazione, come mostra il nostro studio multicentrico nel tumore metastatico HER2-positivo. HDACi sono in grado di potenziare l'efficacia di inibitori di HSP90 modulando stato di acetilazione e funzionalità della proteina HSP90. Si è anche valutata l'efficacia di terapie mirate a colpire la componente staminale tumorale in diversi modelli di *tumor grafts* polmonari, somministrando sia *ex vivo* che *in vivo* trattamenti di combinazione con cisplatino e agenti differenzianti.
- *Trabectedin nei liposarcomi mixoidi.*
Si è continuata la valutazione dell'effetto del farmaco ET-743/Yondelis come modulatore della proteina infiammatoria PTX3 che è prodotta ad alti livelli nei soft tissue sarcomi, soprattutto nei liposarcomi mixoidi, caratterizzati dal trascritto di fusione FUS-CHOP, confermando la down-modulazione di PTX3 selettivamente solo nelle cellule tumorali FUS-CHOP-positive. Conferma dell'efficacia di questo farmaco si è osservata anche *in vivo* in topi con xenotrapianti di liposarcomi umani ed in pazienti con liposarcoma. PTX3, quindi, si configura come interessante marcatore biologico dell'attività del farmaco nei liposarcomi FUS-CHOP-positivi.
- *Inibitori di pompa protonica (PPI)*
Si è evidenziata l'induzione di una morte cellulare non convenzionale dopo trattamento con PPI, con caratteristiche differenti nei diversi istotipi tumorali umani, accomunati tuttavia da un blocco degli eventi trascrizionali. Nel melanoma umano, la cui sensibilità a

PPI è indipendente dallo stato di B-RAF, si osserva una upregolazione di una delle subunità della V-ATPasi esclusivamente a carico delle lesioni metastatiche, più responsive ai PPI in quanto maggiormente acidificanti.

Articolazione del progetto

L'articolazione del progetto è descritta nella Tabella 1.

Tabella 1. Articolazione del progetto Identificazione di marcatori per la predizione della risposta a nuovi farmaci antitumorali (inibitori di HDAC, tirosino chinasi e pompe ioniche)

Proponente (Coordinatore del progetto)	Unità Operativa (UO) (ente di appartenenza: responsabile)	Gruppi di ricerca afferenti	Responsabile scientifico del gruppo
IEO (Pier Giuseppe Pelicci)	UO1 (IEO: Pier Giuseppe Pelicci)	IEO	Pier Giuseppe Pelicci
		IEO	Saverio Minucci
		IEO	Susanna Chiocca
		IEO	Salvatore Pece
		IEO	Giuseppina Bonizzi
		IEO	Luisa Lanfrancone
		Humanitas	Paola Allavena
		IDI	Alessandro Terrinoni
		INT	Maria Grazia Daidone
	UO2 (INT: Maria Grazia Daidone)	INT	Angela Greco
		INT	Sylvie Ménard
		INT	Gabriella Sozzi
		INT	Franco Zunino
		INT	Silvana Pilotti
		ISS	Stefano Fais
	UO3 (Besta: Gaetano Finocchiaro)	Besta	Gaetano Finocchiaro
		Besta	Maurizio Gelati
		IEO	Giuliana Pelicci

Pubblicazioni conseguite nell'ambito del progetto

Il progetto ha prodotto le seguenti pubblicazioni:

1. Airoidi I, Di Carlo E, Cocco C, Caci E, Cilli M, Sorrentino C, Sozzi G, Ferrini S, Vicente Galiotta JL, Ribatti D, Pistoia V. Targeting of IL-12 to human non small cell lung cancer counters tumors growth *in vivo*. *PlosOne* 2009;4(7):6119.
2. Allavena P, Garlanda C, Borrello MG, Sica A, Mantovani A. Pathways connecting inflammation and cancer. *Curr Opin Genet Dev* 2008;18(1):3-10.
3. Bertolini G, Luca Roz L, Perego P, Tortoreto M, Fontanella E, Gatti E, Pratesi G, Fabbri A, Andriani F, Tinelli S, Roz E, Caserini R, Lo Vullo S, Camerini T, Mariani L, Delia D, Calabrò E, Pastorino U, Sozzi G. Highly tumorigenic lung cancer CD133 positive cells display stem-like features and are spared by cisplatin treatment. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106(38):16281-6.
4. Biancotto C, Frigè G, Minucci S. Histone modification therapy of cancer. *Adv Genet* 2010;70:341-86.

5. Botrugno OA, Santoro F, Minucci S. Histone deacetylase inhibitors as a new weapon in the arsenal of differentiation therapies of cancer. *Cancer Lett* 2009;280:134-44.
6. Bruzzone MG, Eoli M, Cuccarini V, Grisoli M, Valletta L, Finocchiaro G. Genetic signature of adult gliomas and correlation with MRI features. *Expert Rev Mol Diagn* 2009;9(7):709-20.
7. Caccia D, Miccichè F, Cassinelli G, Mondellini P, Casalini P, Bongarzone I. Dasatinib reduces FAK phosphorylation increasing the effects of RPI-1 inhibition in a RET/PTC1-expressing cell line. *Mol. Cancer* 2010;9:278.
8. Cassinelli G, Favini E, Degl'Innocenti D, Salvi A, De Petro G, Pierotti MA, Zunino F, Borrello M.G, Lanzi C. RET/PTC1-driven neoplastic transformation and proinvasive phenotype of human thyrocytes involve Met induction and β -catenin nuclear trans location. *Neoplasia* 2009;11:10-21.
9. Cassinelli G, Ronchetti D, Laccabue D, Mattioli M, Cuccuru G, Favini E, Nicolini V, Greco A, Neri A, Zunino F, Lanzi C. Concomitant downregulation of proliferation/survival pathways dependent on GFG-R3, JAK2 and BCMA in human multiple myeloma cells by multi-kinase targeting. *Biochem Pharmacol* 2009;78:1139-47.
10. Cincinelli R, Cassinelli G, Dallavalle S, Lanzi C, Merlini L, Botta M., Tuccinardi T, Martinelli A, Penco S, Zunino F. Synthesis, modeling, and RET protein kinase inhibitory activity of 3- and 4-substituted β -carbolin-1-ones. *J. Med. Chem* 2008; 51:7777-87.
11. Colotta F, Allavena P, Sica A, Garlanda C, Mantovani A. Cancer-related inflammation, the seventh hallmark of cancer: links to genetic instability. *Carcinogenesis* 2009;30(7):1073-81.
12. Conca E, Negri T, Gronchi A, Fumagalli E, Tamborini E, Pavan GM, Fermeglia M, Pierotti MA, Pricl S, Pilotti S. Activate and resist: L576P-KIT in GIST. *Mol Cancer Ther* 2009;8:2491-5.
13. Cuomo A, Moretti S, Minucci S, Bonaldi T. SILAC-based proteomic analysis to dissect the "histone modification signature" of human breast cancer cells. *Amino Acids* 2010, Jul 9 (online prima della stampa)
14. Dallavalle S, Cincinelli R, Nannei R, Merlini L, Morini G, Penco S, Pisano C, Vesci L, Barbarino M, Zuco V, De Cesare M, Zunino F. Design, synthesis, and evaluation of biphenyl-4-yl-acrylohydroxamic acid derivatives as histone deacetylase (HDAC) inhibitors. *Eur J Med Chem* 2009;44:1900-12.
15. De Milito A, Canese, Marino ML, Iero M, Villa A, Borghi M, Venturi G, Lozupone F, Iessi E, Logozzi M, Della Mina P, Santinami M, Rodolfo M, Podo F, Rivoltini L, Fais S. pH-dependent antitumor activity of proton pump inhibitors against human melanoma is mediated by inhibition of tumor acidity. *Int J Cancer* 2009 Oct 28 (online prima della stampa).
16. Di Micco R, Sulli G, Dobрева M, Lontos M, Botrugno O, Dal Zuffo R, d'Ario G, Montani E, Mercurio C, Hahn WC, Gorgoulis V, Minucci S, d'Adda di Fagagna F. Interplay between oncogene-induced DNA Damage Response and heterochromatin in senescence and cancer. *Nature* (inviato per la pubblicazione).
17. Dileo P, Pricl S, Tamborini E, Negri T, Stacchiotti S, Gronchi A, Posocco P, Laurini E, Coco P, Fumagalli E, Casali PG, Pilotti S. Imatinib response in two GIST patients carrying two hitherto functionally uncharacterized PDGFRA mutations: An imaging, biochemical and molecular modeling study. *Int J Cancer* 2011;128:983-90.
18. Erreni M, Solinas G, Brescia P, Osti D, Zunino F, Colombo P, Destro A, Roncalli M, Mantovani A, Draghi R, Levi D, Rodriguez Y Baena R, Gaetani P, Pelicci G, Allavena P. Human glioblastoma tumours and neural cancer stem cells express the chemokine CX3CL1 and its receptor CX3CR1. *Eur J Cancer* 2010;46:3383-92.
19. Gatti L, Beretta GL, Cossa G, Zunino F, Perego P. ABC transporters as potential targets for modulation of drug resistance. *Mini-Rev Med Chem* 2009;9:1102-12.
20. Germano G, Frapolli R, Simone M, Tavecchio M, Erba E, Pesce S, Pasqualini F, Grosso F, Sanfilippo R, Casali PG, Gronchi A, Viridis E, Tarantino E, Pilotti S, Greco A, Nebuloni M,

- Galmarini CM, Tercero JC, Mantovani A, D'Incalci M, Allavena P. Antitumor and anti-inflammatory effects of trabectedin on human myxoid liposarcoma cells. *Cancer Res* 2010;70:2235-44.
21. Ghedini GC, Ciravolo V, Tortoreto M, Giuffrè S, Bianchi F, Campiglio M, Mortarino M, Figini M, Coliva A, Carcangiu ML, Zambetti M, Piazza T, Ferrini S, Ménard S, Tagliabue E, Pupa SM. Role of soluble HER2 extracellular domain in HER2-mediated tumor growth and in response to Trastuzumab. *J Cell Physiol* 2010;225:256-65.
 22. Giommarelli C, Zuco V, Favini E, Pisano C, Dal Piaz F, De Tommasi N, Zunino F. The enhancement of antiproliferative and proapoptotic activity of HDAC inhibitors by curcumin is mediated by Hsp90 inhibition. *Cell Mol Life Sci* 2010;67:995-1004.
 23. Hulleman E, Quarto M, Vernell R, Masserdotti G, Colli E, Kros JM, Levi D, Gaetani P, Tunici P, Finocchiaro G, Baena RR, Capra M, Helin K. A role for the transcription factor HEY1 in glioblastoma. *J Cell Mol Med* 2009;13(1):136-46.
 24. Laghi L, Bianchi P, Miranda E, Balladore E, Pacetti V, Grizzi F, Allavena P, Torri V, Repici A, Santoro A, Mantovani A, Roncalli M, Malesci A. CD3+ cells at the invasive margin of deeply invading (pT3-T4) colorectal cancer and risk of post-surgical metastasis: a longitudinal study. *Lancet Oncol* 2009;10(9):877-84.
 25. Lanzi C, Cassinelli G, Nicolini V, Zunino F. Targeting RET for thyroid cancer therapy. *Biochem Pharmacol* 2009;77:297-309.
 26. Lozupone F, Perdicchio M, Brambilla D, Borghi M, De Milito A, Meschini S, Barca S, Marino ML, Logozzi M, Federici C, Iessi E, Fais S. The human homologue of Dictyostelium discoideum phg1A is expressed by human metastatic melanoma cells. *EMBO Rep* 2009;10(12):1348-54.
 27. Magnifico A, Albano L, Delia D, Castiglioni F, Campaner S, Fontanella E, Ménard S, Tagliabue E. Tumor-initiating cells of HER2-positive carcinoma cell lines express the highest oncoprotein levels and are sensitive to Trastuzumab. *Clin Cancer Res* 2009;15(6):2010-21.
 28. Martelli MP, Sozzi G, Hernandez L, Pettrossi V, Navarro A, Conte D, Gasparini P, Perrone F, Modena P, Pastorino U, Carbone A, Fabbri A, Sidoni A, Nakamura S, Gambacorta M, Fernández PL, Ramirez J, Chan JKC, Grigioni Wf, Campo E, Pileri SA, Falini B. EML4-ALK rearrangement in non-small cell lung cancer and non-tumor lung tissues. *Am J Pathol* 2009;174(2):661-70.
 29. Mellai M, Caldera V, Annovazzi L, Chiò A, Lanotte M, Cassoni P, Finocchiaro G, Schiffer D. MGMT promoter hypermethylation in a series of 104 glioblastomas. *Cancer Genomics Proteomics* 2009;6(4):219-27.
 30. Menghini R, Casagrande V, Cardellini M, Martelli E, Terrinoni A, Amati F, et al. MicroRNA 217 modulates endothelial cell senescence via silent information regulator 1. *Circulation* 2009;120:1524-32.
 31. Mercurio C, Minucci S, Pelicci PG. Histone deacetylases and epigenetic therapies of hematological malignancies. *Pharmacol Res* 2010;62:18-34.
 32. Negri T, Tamborini E, Dagrada GP, Greco A, Staurengo S, Guzzo M, Locati LD, Carbone A, Pierotti MA, Licitra L, Pilotti S. TRK-A, HER-2/neu, and KIT Expression/Activation Profiles in Salivary Gland Carcinoma. *Transl Oncol* 2008;1:121-8.
 33. Negri T, Virdis E, Brich S, Bozzi F, Tamborini E, Tarantino E, Jocollè G, Cassinelli G, Grosso F, Sanfilippo R, Casalini P, Greco A, Pierotti MA, Pilotti S. Functional mapping of receptor tyrosine kinases in myxoid liposarcoma. *Clin Cancer Res* 2010;16:3581-93.
 34. Ortensi B, Osti D, Pellegatta S, Pisati F, Brescia P, Zunino F, Levi D, Gaetani P, Ferri A, Nicolis S, Finocchiaro G, Pelicci G. Rai is a new regulator of neural progenitor migration and glioblastoma invasion. *Cell Stem Cell* (inviato per la pubblicazione).

35. Orzan F, Pellegatta S, Poliani L, Pisati F, Caldera V, Menghi F, Kapetis D, Marras C, Schiffer D, Finocchiaro G. Enhancer of zeste 2 (ezh2) is up-regulated in malignant gliomas and in glioma stem-like cells. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2010, Oct 8 (online prima della stampa)
36. Pagani IS, Terrinoni A, Marengi L, Zucchi I, Chiaravalli AM, Serra V, Rovera F, Sirchia S, Dionigi G, Mozzo M, Frattini A, Ferrari A, Capella C, Pasquali F, Curto FL, Albertini A, Melino G, Porta G. The mammary gland and the homeobox gene Otx1. *Breast J* 2010;16:S53-6.
37. Paradiso A, Mangia A, Orlando C, Verderio P, Belfiglio M, Marchetti A, Bertario L, Chiappetta G, Gion M, *et al.* The Integrated Oncology Program of the Italian Ministry of Health. Analytical and clinical validation of new biomarkers for early diagnosis: network, resources, methodology, quality control, and data analysis. *Int J Biol Markers* 2009;24(3):119-29.
38. Parolini I, Federici C, Raggi C, Lugini L, Palleschi S, de Milito A, Coscia C, Iessi E, Logozzi MA, Molinari A, Colone M, Tatti M, Sargiacomo M, Fais S. Microenvironmental pH is a key factor for exosome traffic in tumor cells. *J Biol Chem* 2009;284(49):34211-22.
39. Pasini L, Turco MY, Luzi L, Aladowicz E, Fagiani E, Lanfrancone L. Melanoma: targeting signaling pathways and RaLP. *Expert Opin Ther Targets* 2009;13(1):93-104.
40. Passarella D, Comi D, Vanossi A, Paganini G, Colombo F, Ferrante L, Zuco V, Danieli B, Zunino F. Histone deacetylase and microtubules as targets for the synthesis of releasable conjugate compounds. *Bioorg Med Chem Lett* 2009;19:6358-63.
41. Pece S, Tosoni D, Confalonieri S, Mazzarol G, Vecchi M, Ronzoni S, Bernard L, Viale G, Pelicci PG, Di Fiore PP. Biological and molecular heterogeneity of breast cancers correlates with their cancer stem cell content. *Cell* 2010;140:62-73.
42. Perego P, Cossa G, Zuco V, Zunino F. Modulation of cell sensitivity to antitumor agents by targeting survival pathways. *Biochem Pharmacol* 2010;10:1459-65.
43. Perrone F, Da Riva L, Orsenigo M, Losa M, Jocollè G, Millefanti C, Pastore E, Gronchi A, Pierotti MA, Pilotti S. PDGFRA, PDGFRB, EGFR and downstream signalling activation in malignant peripheral nerve sheath tumour. *Neuro Oncology* 2009;11(6):725-36.
44. Perrone F, Jocollè G, Pennati M, Deraco M, Baratti D, Brich S, Orsenigo M, Tarantino E, De Marco C, Bertan C, Cabras A, Bertulli R, Pierotti MA, Zaffaroni N, Pilotti S. Receptor tyrosine kinase and downstream signalling analysis in diffuse malignant peritoneal mesothelioma. *Eur J Cancer* 2010;46:2837-48.
45. Peschiaroli A, Scialpi F, Bernassola F, Pagano M, Melino G. The F-box protein FBXO45 promotes the proteasome-dependent degradation of p73. *Oncogene* 2009;28(35):3157-66.
46. Peschiaroli A, Scialpi F, Bernassola F, Sherbini el SE, Melino G. The E3 ubiquitin ligase WWP1 regulates Δ Np63-dependent transcription through Lys63 linkages. *Biochem Biophys Res Commun* 2010;402:425-30.
47. Peschiaroli A, Skaar J, Pagano M, Melino G. The ubiquitin-specific protease USP47 is a novel beta-TRCP interactor regulating cell survival. *Oncogene* 2010;29:1384-93.
48. Porta C, Larghi P, Rimoldi M, Grazia Totaro M, Allavena P, Mantovani A, Sica A. Cellular and molecular pathways linking inflammation and cancer. *Immunobiology* 2009;214(9-10):761-77.
49. Rivetti di Val Cervo P, Tucci P, Majid A, Lena MA, Agostini M, Bernardini S, Candi E, Cohen G, Nicotera P, Dyer MJ, Melino G. p73, miR106b, miR34a, and Itch in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2009;113(25):6498-9.
50. Rossi M, Inoue S, Walewska R, Knight RA, Dyer MJ, Cohen GM, Melino G. Caspase cleavage of Itch in chronic lymphocytic leukemia cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2009;379(3):659-64.
51. Solinas G, Germano G, Mantovani A, Allavena P. Tumor-associated macrophages (TAM) as major players of the cancer-related inflammation. *J Leukoc Biol* 2009;86(5):1065-73.

52. Solinas G, Marchesi F, Garlanda C, Mantovani A, Allavena P. Inflammation-mediated promotion of invasion and metastasis. *Cancer Metastasis Rev* 2010;29:243-8.
53. Stacchiotti S, Marrari A, Tamborini E, Palassini E, Viridis E, Messina A, Crippa F, Morosi C, Gronchi A, Pilotti S, Casali PG. Response to imatinib plus sirolimus in advanced chordoma. *Ann Oncol* 2009;20:1886-94.
54. Stacchiotti S, Negri T, Palassini E, Conca E, Gronchi A, Morosi C, Messina A, Pastorino U, Pierotti MA, Casali PG, Pilotti S. Sunitinib malate and figitumumab in solitary fibrous tumor: patterns and molecular bases of tumor response. *Mol Cancer Ther* 2010;9:1286-97.
55. Stacchiotti S, Negri T, Zaffaroni N, Palassini E, Morosi C, Brich S, Conca E, Bozzi F, Cassinelli G, Gronchi A, Casali PG, Pilotti S. Sunitinib in advanced alveolar soft part sarcoma: evidence of a direct antitumor effect. *Annals of Oncology* 2011 Jan 17 (online prima della stampa)
56. Stacchiotti S, Pedeutour F, Negri T, Conca E, Marrari A, Palassini E, Collini P, Keslair F, Morosi C, Gronchi A, Pilotti S, Casali PG. Dermatofibrosarcoma protuberans-derived fibrosarcoma: clinical history, biological profile and sensitivity to imatinib. *Int J Cancer* 2010 Dec 2 (online prima della stampa).
57. Stacchiotti S, Tamborini E, Marrari A, Brich S, Arisi Rota S, Orsenigo M, Crippa F, Morosi C, Gronchi A, Pierotti MA, Casali PG, Pilotti S. Response to sunitinib malate in advanced alveolar soft part sarcoma (ASPS). *Clin Cancer Res* 2009;15(3):1096-104.
58. Tamborini E, Viridis E, Negri T, Orsenigo M, Brich S, Conca E, Gronchi A, Stacchiotti S, Manenti G, Casali PG, Pierotti MA, Pilotti S. Analysis of receptor tyrosine kinases (RTKs) and downstream pathways in chordomas. *Neuro Oncol* 2010;12:776-89.
59. Terrinoni A, Codispoti A, Serra V, Didona B, Bruno E, Nisticò R, Giustizieri M, Alessandrini M, Campione E, Melino G. Connexin 26 (GJB2) mutations, causing KID Syndrome, are associated with cell death due to calcium gating deregulation. *Biochem Biophys Res Commun* 2010;394:909-14
60. Terrinoni A, Pagani IS, Zucchi I, Chiaravalli AM, Serra V, Rovera F, Sirchia S, Dionigi G, Miozzo M, Frattini A, Ferrari A, Capella C, Pasquali F, Lo Curto F, Albertini A, Melino G. OTX1 Expression in Breast Cancer is Regulated by p53. *Oncogene* (in corso di stampa)
61. Thaler F, Colombo A, Mai A, Amici R, Bigogno C, Boggio R, Cappa A, Carrara S, Cataudella T, Fusar F, Gianti E, di Ventimiglia SJ, Moroni M, Munari D, Pain G, Regalia N, Sartori L, Vultaggio S, Dondio G, Gagliardi S, Minucci S, Mercurio C, Varasi M. Synthesis and biological evaluation of N-hydroxyphenylacrylamides and N-hydroxypyridin-2-ylacrylamides as novel histone deacetylase inhibitors. *J Med Chem* 2010;53:822-39.
62. Vanoli F, Chiolo I, Robert T, Barlow J, Rothstein R, Oronza A, Botrugno O, Minucci S, Foiani M. Class I and II deacetylases influence the DNA damage response and link double strand break processing with autophagy. *Nature* (inviato per la pubblicazione).
63. Vernole P, Muzi A, Volpi A, Dorio AS, Terrinoni A, Shah GM, *et al.* Inhibition of homologous recombination by treatment with BVDU (brivudin) or by RAD51 silencing increases chromosomal damage induced by bleomycin in mismatch repair-deficient tumour cells. *Mutat Res* 2009;664:39-47.
64. Yin D, Ogawa S, Kawamata N, Tuncici P, Finocchiaro G, Eoli M, Ruckert C, Huynh T, Liu G, Kato M, Sanada M, Jauch A, Dugas M, Black KL, Koeffler HP. High-resolution genomic copy number profiling of glioblastoma multiforme by single nucleotide polymorphism DNA microarray. *Mol Cancer Res* 2009;7(5):665-77.
65. Zuco V, Benedetti V, Zunino F. ATM- and ATR-mediated response to DNA damage induced by a novel camptothecin, ST1968. *Cancer Lett* 2010;292:186-96.

IL MICROAMBIENTE TUMORALE COME BERSAGLIO TERAPEUTICO

Alessandro Gianni

Struttura complessa Oncologia Medica 3, Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori, Milano

Riassunto del Progetto

La terapia dei tumori, sviluppatasi a partire dagli anni '50, si basa quasi esclusivamente sull'impiego di farmaci dotati di citotossicità diretta nei confronti della cellula tumorale. Questo approccio riflette largamente le modalità di screening impiegate fino a pochi anni or sono nella ricerca di composti ad attività antitumorale, consistenti nel testare l'attività antiproliferativa di un gran numero di composti empiricamente selezionati su linee cellulari coltivate *in vitro*. All'opposto, *in vivo* la crescita tumorale è influenzata in modo determinante dalle cellule che costituiscono il microambiente tumorale. Lo stroma co-evolve con il tumore e concorre a formare un microambiente sfavorevole alle terapie sia dal punto di vista strutturale sia fornendo fattori di sopravvivenza. I principali attori cellulari del microambiente tumorale sono i fibroblasti dello stroma, le cellule del sistema immunitario sia innato che adattativo, e le cellule della rete vascolare e linfatica. A questi si associano i componenti della matrice extracellulare che hanno sia funzione strutturale che regolatoria. La maggiore comprensione della biologia della crescita tumorale *in vivo*, ed il riconoscimento del ruolo critico giocato dal microambiente, incoraggia oggi la ricerca di trattamenti in cui il bersaglio non sia la cellula tumorale, ma le cellule del microambiente con funzioni di supporto. Promettenti risultati clinici sono stati osservati in alcuni tumori umani con farmaci capaci di inibire le cellule endoteliali (talidomide nel mieloma, bevacizumab nei tumori epiteliali) o i B linfociti (rituximab nel linfoma di Hodgkin classico, CD20-negativo). Queste osservazioni, anche se preliminari e perfettibili, rappresentano un'importante prova di principio a favore di strategie terapeutiche dirette contro il microambiente. Se combinate con la chemioterapia tradizionale possono potenziarne l'efficacia favorendone l'attività citotossica e/o la biodistribuzione del farmaco al tumore.

Gli obiettivi del progetto mirano: 1) ad acquisire conoscenza sulla biologia del microambiente tumorale fino al livello della nicchia per identificare nuovi bersagli terapeutici, 2) a studiare i meccanismi responsabili di effetti biologici o di efficacia terapeutica in neoplasie in cui è ipotizzabile un ruolo del microambiente, e 3) a validare, in studi clinici di fase I/II, gli effetti del targeting di cellule dello stroma e l'efficacia dei farmaci impiegati.

Stato generale di sviluppo del progetto e conseguimento dei risultati

L'attività delle UO coinvolte nel progetto si è incentrata su due aspetti principali:

1. Studi preclinici

(studi preclinici che hanno esplorato il ruolo del microambiente tumorale nella genesi, nella progressione e nella terapia dei tumori)

Il microambiente dei tumori solidi è caratterizzato dalla presenza di cellule e mediatori infiammatori i quali contribuiscono al continuo rimodellamento tissutale, alla neoangiogenesi alla progressione e invasione tumorale. Pertanto, il microambiente del tumore non soltanto può contribuire alla genesi e alla progressione neoplastica ma rappresenta un potenziale bersaglio terapeutico. Gli studi preclinici eseguiti nel corso del progetto hanno investigato molteplici aspetti del ruolo del microambiente.

La proteina SPARC è un possibile bersaglio terapeutico data la sua capacità di regolare l'assemblaggio della matrice e l'espressione dell'integrina $\beta 1$. Per valutare se SPARC ha un ruolo nel modulare la sensibilità ai farmaci, sono state inoculate linee di carcinoma mammario in topi SPARC-KO. Poiché SPARC è prodotta sia dalle cellule stromali che dalle cellule tumorali ne è stato valutato il ruolo distinto nella risposta alla doxorubicina (DXR). I risultati ottenuti indicano che: 1) la deposizione di matrice extracellulare è una funzione che dipende da SPARC di origine midollare; 2) SPARC prodotta dalle cellule tumorali influenza l'aggressività del tumore; 3) tumori con alto indice mitotico (SPARC-deficienti) non necessitano della matrice per crescere e rispondono alla DXR sia in presenza (topi WT) che assenza (topi SPARC KO) di SPARC nella matrice; 4) tumori iper-esprimenti SPARC dipendono da SPARC prodotto dalla matrice per crescere e per rispondere alla DXR.

Il microambiente tumorale nel melanoma avanzato è stato convenzionalmente ritenuto ostile verso la generazione della risposta immunitaria. In contrasto con questo modello, è stata identificata in melanomi primitivi VGP e in metastasi linfonodali e sottocutanee una popolazione di linfociti T $CD8^+$ allo stadio più precoce del differenziamento ad effettori citolitici. Questa popolazione è stata definita inizialmente in base all'espressione di FOXP3 e CD25 e all'assenza di markers di cellule regolatorie, anergiche o senescenti. Questo subset mostra un profilo *antigen experienced* di tipo EM1. I linfociti $CD8^+ FOXP3^+$ producono IFN- γ , riconoscono il tumore autologo, ed esprimono Ki-67 all'analisi ex-vivo.

Sono proseguite le ricerche sul ruolo delle catepsine, in particolare della catepsina B (CatB), nella modulazione del microambiente e della aggressività del melanoma metastatico. Il CA074, un inibitore della CatB, nella sua forma *cell-permeant* sembra infatti agire modulando negativamente l'autofagia (un meccanismo citoprotettivo alternativo all'apoptosi) mentre nella forma *non cell-permeant*, modifica il microambiente extracellulare, inibendo il movimento e la migrazione cellulare, determinando una minore aggressività metastatica. Inoltre, una serie di nuovi potenziali e specifici inibitori di CatB, alcuni già sintetizzati dal nostro gruppo (in collaborazione con l'Università di Siena) e ora in screening in sistemi *in vitro*, sono stati individuati in silico.

È stato dimostrato che Trabectedin in topi immunodeficienti xenotrapiantati con liposarcomi mixoidi umani riduce significativamente l'espressione di CCL2 e CXCL8, così come l'infiltrazione dei macrofagi e la densità dei vasi tumorali. È stato inoltre approfondito il peculiare e selettivo effetto citotossico che Trabectedin ha nei confronti del lineage monocitario, che origina i macrofagi tumore-associati (TAM). In topi inoculati con il sarcoma singenico MN/MCA1 e trattati con Trabectedin si è osservata una significativa riduzione dei monociti del sangue e dei macrofagi splenici. All'interno dei tumori il numero di TAM e di vasi è significativamente minore. L'attività anti-tumorale di Trabectedin potrebbe quindi coinvolgere il microambiente tumorale, soprattutto macrofagi e rete vascolare.

È stata valutata l'attività anti-tumorale della vasostatina-1 e della cromogranina-A (CgA) in modelli animali sia da sole che in combinazione con NGR-TNF. Entrambe le

proteine sono risultate in grado di inibire significativamente la crescita tumorale in modelli murini di fibrosarcoma e linfoma. In modelli animali è stato dimostrato che sia la CgA sia la vasostatina-1 sono in grado di inibire gli effetti sinergici dell'NGR-TNF con la doxorubicina. La somministrazione contemporanea di CgA e NGR-TNF non sembra quindi essere un valido approccio per il trattamento del cancro.

Sono stati completati gli studi sul ruolo di Cdk2 nella soppressione della senescenza cellulare indotta dall'attivazione dell'oncogene c-myc, rimarcando la potenziale importanza terapeutica di questa molecola, la cui inibizione riattiva il processo di senescenza nelle cellule esprimenti l'oncogene. È in corso lo sviluppo di modelli preclinici, *in vitro* ed *in vivo*, al fine di valutare la risposta in tumori c-myc dipendenti a farmaci che rappresentino potenziali inibitori di Cdk2. Risultati preliminari indicherebbero che, analogamente a quanto osservato nel caso di Cdk2, Chk1, una chinasi che regola la risposta cellulare allo stress replicativo, è essenziale per la sopravvivenza di tumori "c-myc dipendenti".

2. Studi clinici

(studi clinici di chemioimmunoterapia o con farmaci antiangiogenetici aventi l'obiettivo di bersagliare sia le cellule neoplastiche che le cellule del microambiente tumorale)

Il linfoma di Hodgkin (LH) è caratterizzato istologicamente dalla presenza di un numero limitato di cellule tumorali (cellule di Hodgkin/Reed-Sternberg) che rappresentano meno del 5% delle cellule del tessuto linfoide e sono circondate da un numero preponderante di cellule infiammatorie, in particolare linfociti T e B. L'eliminazione di queste cellule dal microambiente potrebbe sottrarre alla cellula di Hodgkin/Reed-Sternberg fattori indispensabili alla sua sopravvivenza con conseguente arresto maturativo e morte cellulare. È proseguito l'arruolamento in uno studio clinico di fase III da condurre in pazienti con LH in stadio precoce che vengono randomizzati a ricevere chemioterapia secondo lo schema ABVD seguito da radioterapia oppure ABVD supplementato con l'anticorpo monoclonale anti-CD20 Rituximab.

Articolazione del progetto

L'articolazione del progetto è descritta nella Tabella 1.

Tabella 1. Articolazione del progetto Il microambiente tumorale come bersaglio terapeutico

Proponente (<i>Cordinatore del progetto</i>)	Unità Operativa (UO) (<i>ente di appartenenza: responsabile</i>)	Gruppi di ricerca afferenti	Responsabile scientifico del gruppo
INT (Alessandro M. Gianni)	UO1 (INT: Alessandro M. Gianni)	INT	Alessandro M. Gianni
		INT	Andrea Anichini
		INT	Mario P. Colombo
		INT	Elda Tagliabue
	UO2 (IEO: Pier Giuseppe Pelicci)	IEO	Pier Giuseppe Pelicci
		IEO	Giuliana Pelicci
		IEO	Bruno Amati
		ISS	Walter Malorni
	UO3 (Humanitas: Paola Allavena)	Humanitas	Paola Allavena
		HSR	Angelo Corti

Pubblicazioni conseguite nell'ambito del progetto

Il progetto ha prodotto le seguenti pubblicazioni:

1. Allavena P, Garlanda C, Borrello MG, Sica A, Mantovani A. Pathways connecting inflammation and cancer. *Curr Opin Genet Dev* 2008;18:3-10.
2. Allavena P, Sica A, Garlanda C, Mantovani A. The Yin-Yang of tumor-associated macrophages in neoplastic progression and immune surveillance. *Immunol Rev* 2008;222:155-61.
3. Allavena P, Sica A, Solinas G, Porta C, Mantovani A. The inflammatory micro-environment in tumor progression: the role of tumor-associated macrophages. *Crit Rev Oncol Hematol* 2008;66:1-9.
4. Angelone T, Quintieri AM, Goumon Y, Di Felice V, Filice E, Gattuso A, Mazza R, Corti A, Tota B, Metz-Boutigue MH, Cerra MC. Cytoskeleton mediates negative inotropism and lusitropism of chromogranin A-derived peptides (human vasostatin1-78 and rat CgA(1-64) in the rat heart. *Regul Pept* 2010;165:78-85.
5. Anichini A, Molla A, Vegetti C, Bersani I, Zappasodi R, Arienti F, Ravagnani F, Maurichi A, Patuzzo R, Santinami M, Pircher H, Di Nicola M, Mortarini R. Tumor-reactive CD8+ early effector T cells identified at tumor site in primary and metastatic melanoma. *Cancer Res* 2010;70:8378-87.
6. Bellone M, Mondino A, Corti A. Vascular targeting, chemotherapy and active immunotherapy: teaming up to attack cancer. *Trends Immunol* 2008;29:235-41.
7. Bergamaschi A, Tagliabue E, Sorlie T, Naume B, Triulzi T, Orlandi R, Tammi R, Giercksky H, Nesland JM, Ménard S, Borresen-Dale AL. Extracellular matrix signature identifies breast cancer subgroups with different clinical outcome. *J Pathol* 2008;214:357-67.
8. Campaner S, Doni M, Hydbring P, Verrecchia A, Bianchi L, Sardella D, Schleker T, Perna D, Tronnersjö S, Murga M, Fernandez-Capetillo O, Barbacid M, Lars-Gunnar Larsson LG, Amati B. Cdk2 suppresses cellular senescence induced by the myc oncogene. *Nature Cell Biology* 2010;12(1):54-9.
9. Campaner S, Doni M, Verrecchia A, Fagà G, Bianchi L, Amati B. Myc, Cdk2 and cellular senescence: Old players, new game. *Cell Cycle* 2010;9:3655-61.
10. Chiesa C, Botta F, Coliva A, Maccauro M, Devizzi L, Guidetti A, Carlo-Stella C, Seregni E, Gianni AM, Bombardieri E. Absorbed dose and biologically effective dose in patients with high-risk non-Hodgkin's lymphoma treated with high-activity myeloablative 90Y-ibritumomab tiuxetan (Zevalin®). *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2009;36:1745-57.
11. Colotta F, Allavena P, Sica A, Garlanda C, Mantovani A. Cancer-related inflammation, the seventh hallmark of cancer: links to genetic instability. *Carcinogenesis* 2009;30:1073-81.
12. Corti A, Curnis F, Arap W, Pasqualini R. The neovasculature homing motif NGR: more than meets the eye. *Blood* 2008;112:2628-35.
13. Cretich M, Longhi R, Corti A, Damin F, Carlo GD, Sadini V, Chiari M. Epitope mapping of human chromogranin a by peptide microarrays. *Methods Mol Biol* 2009;570:221-32.
14. Crippa L, Gasparri A, Sacchi A, Ferrero E, Curnis F, Corti A. Synergistic damage of tumor vessels with ultra-low dose endothelial-monocyte activating polypeptide-II and neovasculature-targeted TNF α . *Cancer Res* 2008;68:1154-61.
15. Curnis F, Cattaneo A, Longhi R, Sacchi A, Gasparri AM, Pastorino F, Di Matteo P, Traversari C, Bachi A, Ponzoni M, Rizzardì GP, Corti A. Critical role of flanking residues in NGR-to-isoDGR transition and CD13/Integrin receptor switching. *J Biol Chem* 2010;285:9114-23.

16. Curnis F, Sacchi A, Gasparri A, Longhi R, Bachi A, Doglioni C, Bordignon C., Traversari C, Rizzardi GP, Corti A. Isoaspartate-glycine-arginine: a new tumor vasculature targeting motif. *Cancer Res* 2008;68:7073-82.
17. Degli Esposti M, Tour J, Ouasti S, Ivanova S, Matarrese P, Malorni W, Khosravi-Far R. Fas death receptor enhances endocytic membrane traffic converging into the Golgi region. *Mol Biol Cell* 2009;20:600-15.
18. Del Vecchio M, Mortarini R, Canova S, Di Guardo L, Pimpinelli N, Sertoli MR, Bedognetti D, Queirolo P, Morosini P, Perrone T, Bajetta E, Anichini A. Bevacizumab plus fotemustine as first line treatment in metastatic melanoma patients: clinical activity and modulation of angiogenesis and lymphangiogenesis factors. *Clin Cancer Res* 2010;16:5862-72.
19. Devizzi L, Guidetti A, Tarella C, Magni M, Matteucci P, Seregini E, Chiesa C, Bombardieri E, Di Nicola M, Carlo-Stella C, Gianni AM. High-dose yttrium-90-ibritumomab tiuxetan with tandem stem-cell reinfusion: an outpatient preparative regimen for autologous hematopoietic cell transplantation. *J Clin Oncol* 2008;26:5175-82.
20. Di Comite G, Previtali P, Rossi CM, Dell'Antonio G, Rovere-Querini P, Praderio L, Dagna L, Corti A, Doglioni C, Maseri A, Sabbadini MG, Manfredi AA. High blood levels of chromogranin A in giant-cell arteritis identify patients refractory to corticosteroid treatment. *Ann Rheum Dis* 2009;68:293-5.
21. Di Comite G, Rossi CM, Marinosci A, Lolmede K, Baldissera E, Aiello P, Mueller RB, Herrmann M, Voll RE, Rovere-Querini P, Sabbadini MG, Corti A, Manfredi AA. Circulating chromogranin A reveals extra-articular involvement in patients with rheumatoid arthritis and curbs TNF- α -elicited endothelial activation. *J Leukoc Biol* 2009;85:81-7.
22. Di Nicola M, Zappasodi R, Carlo-Stella C, Mortarini R, Pupa SM, Magni M, Devizzi L, Matteucci P, Baldassari P, Ravagnani F, Cabras A, Anichini A, Gianni AM. Vaccination with autologous tumor-loaded dendritic cells induces clinical and immunological responses in indolent B-cell lymphoma patients with relapsed and measurable disease: a pilot study. *Blood* 2009;113:18-27.
23. Dondossola E, Gasparri A, Bachi A, Longhi R, Metz-Boutigue MH, Tota B, Helle KB, Curnis F, Corti A. Role of vasostatin-1 C-terminal region in fibroblast cell adhesion. *Cell Mol Life Sci* 2010;67:2107-18.
24. Federici C, Brambilla D, Lozupone F, Matarrese P, de Milito A, Lugini L, Iessi E, Cecchetti S, Marino M, Perdicchio M, Logozzi M, Spada M, Malorni W, Fais S. Pleiotropic function of ezrin in human metastatic melanomas. *Int J Cancer* 2009;124:2804-12.
25. Germano G, Frapolli R, Simone M, Tavecchio M, Erba E, Pesce S, Pasqualini F, Grosso F, Sanfilippo R, Casali PG, Gronchi A, Viridis E, Tarantino E, Pilotti S, Greco A, Nebuloni M, Galmarini CM, Tercero JC, Mantovani A, D'Incalci M, Allavena P. Antitumor and anti-inflammatory effects of trabectedin on human myxoid liposarcoma cells. *Cancer Res* 2010;70:2235-44.
26. Giammarioli AM, Maselli A, Casagrande A, Gambardella L, Gallina A, Spada M, Giovannetti A, Proietti E, Malorni W, Pierdominici M. Pyrimethamine induces apoptosis of melanoma cells via a caspase and cathepsin double-edged mechanism. *Cancer Res* 2008;68:5291-300.
27. Giammarioli AM, Vona R, Gambardella L, Ascione B, Maselli A, Barbati C, Tinari A, Malorni W. Interferon-gamma bolsters CD95/Fas-mediated apoptosis of astrogloma cells. *FEBS J* 2009;276:5920-35.
28. Gregorc V, G Citterio, G Vitali, A Spreafico, P Scifo, A Borri, G Donadoni, G Rossoni, A Corti, F Caligaris Cappio, A Del Maschio, A Esposito, F De Cobelli, F Dell'Acqua, A Troysi, P Bruzzi, A Lambiase, C Bordignon. Defining the optimal biological dose of NGR-hTNF, a selective vascular targeting agent, in advanced solid tumours. *Eur J Cancer* 2010;46:198-206.

29. Gruszka AM, Lavorgna S, Consalvo MI, Ottone T, Martinelli C, Cinquanta M, Ossolengo G, Pruneri G, Buccisano F, Divona M, Cedrone M, Ammatuna E, Venditti A, de Marco A, Lo-Coco F, Pelicci PG. A monoclonal antibody against mutated nucleophosmin 1 for the molecular diagnosis of acute myeloid leukemias. *Blood* 2010;116:2096-102.
30. Kroemer G, Galluzzi L, Vandenabeele P, Abrams J, Alnemri ES, Baehrecke EH, Blagosklonny MV, El-Deiry WS, Golstein P, Green DR, Hengartner M, Knight RA, Kumar S, Lipton SA, Malorni W, Nuñez G, Peter ME, Tschopp J, Yuan J, Piacentini M, Zhivotovsky B, Melino G. Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009. *Cell Death Differ* 2009;16:3-11
31. Laghi L, Bianchi P, Miranda E, Balladore E, Pacetti V, Grizzi F, Allavena P, Torri V, Repici A, Santoro A, Mantovani A, Roncalli M, Malesci A. CD3+ cells at the invasive margin of deeply invading (pT3-T4) colorectal cancer and risk of post-surgical metastasis: a longitudinal study. *Lancet Oncol* 2009;10:877-84.
32. Lavazza C, Carlo-Stella C, Giacomini A, Cleris L, Righi M, Sia D, Di Nicola M, Magni M, Longoni P, Milanese M, Francolini M, Gloghini A, Carbone A, Formelli F, Gianni AM. Human CD34+ cells engineered to express membrane-bound tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) target both tumor cells and tumor vasculature. *Blood* 2010;115:2231-40.
33. Malorni W, Farrace MG, Matarrese P, Tinari A, Ciarlo L, Mousavi-Shafaei P, D'Eletto M, Di Giacomo G, Melino G, Palmieri L, Rodolfo C, Piacentini M. The adenine nucleotide translocator 1 acts as a type 2 transglutaminase substrate: implications for mitochondrial-dependent apoptosis. *Cell Death Differ* 2009;16:1480-92.
34. Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature* 2008;454:436-44.
35. Marchesi F, Piemonti L, Fedele F, Destro A, Roncalli M, Albarello, Doglioni, Anselmo, Doni, Bianchi, Laghi, Malesci, Cervo, Malosio, Reni, Zerbi, Di Carlo, Mantovani A, Allavena P. The Chemokine Receptor CX3CR1 Is Involved in the Neural Tropism and Malignant Behavior of Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Cancer Res* 2008;68:9060-9.
36. Maselli A, Matarrese P, Straface E, Canu S, Franconi F, Malorni W. Cell sex: a new look at cell fate studies. *FASEB J* 2009;23:978-84.
37. Matarrese P, Ascione B, Ciarlo L, Vona R, Leonetti C, Scarsella M, Mileo AM, Catricalà C, Paggi MG, Malorni W. Cathepsin B inhibition interferes with metastatic potential of human melanoma: an *in vitro* and *in vivo* study. *Mol Cancer* 2010;9:207.
38. Matarrese P, Ciarlo L, Tinari A, Piacentini M, Malorni W. Xeno-cannibalism as an exacerbation of self-cannibalism: a possible fruitful survival strategy for cancer cells. *Curr Pharm Des* 2008;14:245-52.
39. Matarrese P, Manganelli V, Garofalo T, Tinari A, Gambardella L, Ndebele K, Khosravi-Far R, Sorice M, Esposti MD, Malorni W. Endosomal compartment contributes to the propagation of CD95/Fas-mediated signals in type II cells. *Biochem J* 2008;413:467-78.
40. Mortarini R, Vegetti C, Molla A, Arienti F, Ravagnani F, Maurichi A, Patuzzo R, Santinami M, Anichini A. Impaired STAT Phosphorylation in T Cells from Melanoma Patients in Response to IL-2: Association with Clinical Stage. *Clin Cancer Res* 2009;15:4085-94.
41. Porta C, Larghi P, Rimoldi M, Grazia Totaro M, Allavena P, Mantovani A, Sica A. Cellular and molecular pathways linking inflammation and cancer. *Immunobiology* 2009;214:761-77.
42. Righi M, Giacomini A, Lavazza C, Sia D, Carlo-Stella C, Gianni AM. A computational approach to compare microvessel distributions in tumors following antiangiogenic treatments. *Lab Invest* 2009;89:1063-70.
43. Sangaletti S, Colombo MP. Matricellular proteins at the crossroad of inflammation and cancer. *Cancer Lett* 2008;267:245-253.

44. Sangaletti S, Di Carlo E, Gariboldi S, Miotti S, Cappetti B, Parenza M, Brekken RA, Chiodoni C, Colombo MP. Macrophage-derived SPARC bridges tumor cell-extracellular matrix interactions toward metastasis. *Cancer Res* 2008;68:9050-59.
45. Savino MT, Ortensi B, Ferro M, Ulivieri C, Fanigliulo D, Paccagnini E, Lazzi S, Osti D, Pelicci G, Baldari CT. Rai acts as a negative regulator of autoimmunity by inhibiting antigen receptor signaling and lymphocyte activation. *J Immunol* 2009;182:301-8.
46. Solinas G, Germano G, Mantovani A, Allavena P. Tumor-associated macrophages (TAM) as major players of the cancer-related inflammation. *J Leukoc Biol* 2009;86:1065-73.
47. Solinas G, Marchesi F, Garlanda C, Mantovani A, Allavena P. Inflammation-mediated promotion of invasion and metastasis. *Cancer Metastasis Rev* 2010;29:243-8.
48. Sorice M, Matarrese P, Manganelli V, Tinari A, Giammarioli AM, Mattei V, Misasi R, Garofalo T, Malorni W. Role of GD3-CLIPR-59 association in lymphoblastoid T cell apoptosis triggered by CD95/Fas. *PLoS One* 2010;5:e8567.
49. Spitaleri A, Mari S, Curnis F, Traversari C, Longhi R, Bordignon C, Corti A, Rizzardi GP, Musco G. Structural basis for the interaction of isoDGR with the RGD-binding site of alphav/beta3 integrin. *J Biol Chem* 2008;283:19757-68.
50. Tinari A, Giammarioli AM, Manganelli V, Ciarlo L, Malorni W. Analyzing morphological and ultrastructural features in cell death. *Methods Enzymol* 2008;442:1-26.
51. Viale A, De Franco F, Orleth A, Cambiaghi V, Giuliani V, Bossi D, Ronchini C, Ronzoni S, Muradore I, Monestiroli S, Gobbi A, Alcalay M, Minucci S, Pelicci PG. Cell-cycle restriction limits DNA damage and maintains self-renewal of leukaemia stem cells. *Nature* 2009;457:51-6.
52. Viale A, Pelicci PG. Awakening stem cells from dormancy: growing old and fighting cancer. *EMBO Mol Med* 2009;1:88-91.
53. Ye Y, Tinari A, Malorni W, Lockshin RA, Zakeri Z. Activation of cyclin-dependent kinase 5 is a consequence of cell death. *J Biomed Biotechnol* 2009;2009:805709.

SVILUPPO DI NUOVI FARMACI CAPACI DI ALTERARE IL MICROAMBIENTE TUMORALE E RIPRISTINARE LA RISPOSTA IMMUNE ANTI-TUMORALE

Vincenzo Bronte
Istituto Oncologico Veneto (IRCCS), Padova

Riassunto del Progetto

Lo scopo principale del presente progetto è stato quello di definire le attività biologiche, i meccanismi d'azione e le possibili sinergie fra nuove molecole di sintesi in grado di alterare lo stato infiammatorio mantenuto dalla crescita/progressione neoplastica e responsabile dell'inibizione della risposta dei linfociti T tumore-specifici. Queste molecole sono state sviluppate grazie ad una collaborazione stretta tra IOV, Istituto Humanitas e Dipartimento di Scienza e Tecnologia del farmaco dell'Università di Torino. L'Unità Fondazione Santa Lucia ha collaborato a questa parte del progetto, insieme alle altre Unità, concentrandosi sulla definizione di potenziali biomarcatori sui linfociti infiltranti i tumori prostatici e sui linfociti del sangue periferico di pazienti con diagnosi di carcinoma prostatico.

Le molecole sono state oggetto di due brevetti, uno depositato ed uno in corso di deposito, e, pertanto, rappresentano un prodotto unico nel panorama farmacologico internazionale. Accanto a questi composti, abbiamo anche valutato l'azione di inibitori di oncogeni studiati dai gruppi afferenti all'Istituto Superiore di Oncologia (ISO), con lo scopo di capire se, alterando programmi trascrizionali controllati da oncogeni, sia possibile influire sullo stato infiammatorio tumore-associato ed esplorare possibili sinergie tra questi nuovi composti. L'obiettivo principale si è articolato in una serie di obiettivi secondari.

1. *Progettazione, sintesi e modulazione strutturale di nuovi farmaci NO-donatori e loro caratterizzazione chimico-fisica e funzionale.*

Valutazione dell'azione di farmaci NO-donatori sui meccanismi soppressori indotti in modelli sperimentali murini; valutazione dell'azione di farmaci NO-donatori sull'attività di linfociti T infiltranti il tumore in colture d'organo di tumori umani; caratterizzazione delle modifiche fenotipiche e funzionali apportate da farmaci NO-donatori a popolazioni cellulari umane e murine appartenenti all'immunità innata ed acquisita; analisi dell'azione di farmaci NO-donatori sull'angiogenesi tumore-indotta e sulla permeabilità dei vasi tumorali a proteine plasmatiche e cellule infiammatorie.

2. *Nuove terapie biologiche integrate: studi in vitro ed in vivo.*

Valutazione in colture tumorali d'organo di inibitori di oncogeni: studio dell'azione sul microambiente infiammatorio tumorale; studio di inibitori sintetici di oncogeni in associazione con farmaci NO-donatori: analisi di potenziali effetti sinergici *in vitro* ed in modelli tumorali sperimentali.

Le Unità IFOM ed IEO si sono concentrate sull'effetto di farmaci convenzionali e dei nuovi composti sulla proliferazione dei vasi ematici e linfatici nel tumore, attraverso un largo repertorio di anticorpi contro marcatori specifici e la messa a punto di nuovi saggi di migrazione cellulare; inoltre, l'unità IFOM ha valutato l'effetto di questi composti sul controllo della permeabilità vascolare dei vasi intratumorali e dell'infiltrazione delle cellule infiammatorie.

Unità dell'IFOM hanno anche studiato nuove molecole coinvolte nell'angiogenesi come strumenti di classificazione diagnostica e target di intervento terapeutico.

Stato generale di sviluppo del progetto e conseguimento dei risultati

Il principale obiettivo di questo progetto è lo sviluppo di nuovi adiuvanti per l'immunoterapia di pazienti oncologici. Abbiamo sviluppato nuove molecole in grado di interferire con le vie metaboliche coinvolte nella produzione di specie reattive dell'azoto (RNS). Infatti, durante la loro progressione, i tumori diventano refrattari alle armi del sistema immunitario. È risaputo che il microambiente tumorale presenta profonde modifiche nel metabolismo di amminoacidi come L-arginina che portano ad una aumentata produzione di RNS, e perossinitriti in particolare. La conoscenza di questi meccanismi, complessi e parzialmente interconnessi, offre nuovi bersagli per un approccio farmacologico integrato e mirato a liberare i linfociti T tumore specifici dalle influenze negative del sistema tumorale.

Abbiamo disegnato e testato una nuova classe di NO-donatori: queste molecole sono caratterizzate da una parte furossanica legata tramite un ponte estere alla funzione carbossilica dell'acido salicilico. Abbiamo studiato un centinaio di composti ed identificato diverse molecole attive *in vitro*. I saggi di screening si sono basati su due semplici metodiche, valutando la capacità di questi composti di ripristinare l'attività proliferativa e citossica di linfociti T CD8⁺ in condizioni di forte immunosoppressione dovuta a produzione di RNS, caratteristica tipica del microambiente tumorale.

Questa fase di screening *in vitro* ci ha permesso di individuare dei composti leader da utilizzare in una successiva fase operativa *in vivo*. In questi esperimenti si è scelto di iniziare con un modello tumorale murino molto aggressivo e si è somministrato il farmaco dal giorno successivo all'inoculo del tumore e per 9 giorni a seguire. Il tumore è stato analizzato in immunostochimica per la presenza di nitrotirosine, utilizzando questo come marcatore dell'azione di RNS sui tessuti tumorali. Uno dei composti analizzati, AT38, si è dimostrato molto efficace nel ridurre in maniera significativa la percentuale di cellule positive per nitrotirosine, un'azione importante ed un obiettivo centrale del nostro studio. Abbiamo mostrato, infatti, la presenza di nitrotirosine in diversi tumori umani, che suggerisce una produzione locale di perossinitriti. In questi tumori, inoltre, si può evidenziare anche una peculiare distribuzione delle cellule T che rimangono confinate ai margini esterni della lesione stessa. Abbiamo, quindi, ipotizzato che nel microambiente tumorale le RNS possano modificare alcune chemochine, alterando la loro struttura e, conseguentemente la loro funzione chemoattraente. Una chemochina rilevante nell'immunologia dei tumori è CCL2, che è in grado di agire come stimolo chemotattico per i linfociti T citotossici (i quali sopprimono la crescita tumorale) e per le cellule mielo-monocitarie (che sopprimono la risposta antitumorale e favoriscono lo sviluppo del tumore). I nostri dati sperimentali hanno dimostrato che, dopo trattamento con i perossinitriti, la chemochina CCL2 perde la capacità di attrarre i linfociti T, mentre è ancora in grado di reclutare cellule mielo-monocitarie. L'analisi mediante spettrometria di massa della proteina modificata dal trattamento con perossinitriti, ha permesso di identificare specifici residui aminoacidici bersaglio dell'azione delle RNS.

Per verificare che l'incapacità dei linfociti T di infiltrare la massa tumorale fosse correlata alla presenza di perossinitriti nel microambiente, è stato utilizzato il farmaco AT38, descritto in precedenza. Come anticipato, l'analisi immunostochimica ha evidenziato che i topi trattati con questo farmaco mostrano una diminuzione delle nitrotirosine nel tumore, indicando che tale composto è attivo nel bloccare la produzione locale di perossinitriti. Gli stessi tumori

presentano, inoltre, un aumento significativo del numero di cellule T (CD3/CD8) nel cuore della massa tumorale, suggerendo che una diminuzione consistente delle RNS nel tumore favorisce l'ingresso dell'infiltrato T citotossico nella lesione neoplastica.

La forma modificata di CCL2, non è riconosciuta dai convenzionali anticorpi monoclonali. I nostri dati suggeriscono che il trattamento con AT38, è in grado di "smascherare" la presenza di CCL2 nel tumore, azione legata alla diminuzione delle RNS, responsabili della modificazione della proteina nel sito tumorale. Al fine di identificare ed isolare *in vivo* questa chemochina nitrata il nostro gruppo ha prodotto anticorpi specifici contro i residui di CCL2 selettivamente modificati dall'azione dei perossinitriti.

I nostri dati suggeriscono che AT38 è un composto attivo nel rendere il microambiente tumorale favorevole all'ingresso di linfociti citotossici tumore-specifici. Date queste evidenze, si può pertanto puntare sull'utilizzo di questo farmaco come adiuvante nell'immunoterapia dei tumori. Sulla base di questi dati abbiamo, infatti, avviato esperimenti di immunoterapia combinata. L'approccio scelto è stato quello del trasferimento adottivo di linfociti citotossici attivati e tumore specifici, in quanto questo è l'approccio immunoterapeutico al momento più promettente. Sono stati utilizzati due tipi di antigeni tumorali: un antigene non naturale (OVA, utilizzando una linea tumorale ingegnerizzata per esprimere questa proteina) ed uno tipicamente espresso in molti tumori (telomerasi). In entrambi i casi, l'immunoterapia basata solo su trasferimento adottivo di linfociti citotossici attivati si è dimostrata inefficace. Al contrario, l'immunoterapia combinata, che prevedeva un ciclo di trattamento con il farmaco AT38 prima della somministrazione dei linfociti T, ha dato ottimi risultati in termini di sopravvivenza ed eliminazione permanente del tumore.

Il progetto ha, quindi, raggiunto gli obiettivi principali prefissati. Inoltre, siamo anche riusciti ad avviare la sintesi e lo studio preliminare *in vitro* della seconda generazioni di farmaci attivi, molecole che dovrebbero consentire di veicolare meglio AT38 in soluzione (pro-drugs). Questi farmaci sono oggetto di domanda di brevetto in fase di valutazione.

Articolazione del progetto

L'articolazione del progetto è descritta nella Tabella 1.

Tabella 1. Articolazione del progetto Sviluppo di nuovi farmaci capaci di alterare il microambiente tumorale e ripristinare la risposta immune anti-tumorale

Proponente (Coordinatore del progetto)	Unità Operativa (UO) (ente di appartenenza: responsabile)	Gruppi di ricerca afferenti	Responsabile scientifico del gruppo
IOV (Vincenzo Bronte)	UO1 (IOV: Vincenzo Bronte)	IOV	Vincenzo Bronte
		Università Degli Studi di Torino	Alberto Gasco
		Istituto Superiore di Oncologia Istituto Superiore di Oncologia, Univ. degli Studi di Genova	Giancarlo Vecchio Silvio Parodi
	UO2 (IRCCS Fondazione S. Lucia: Luca Battistini)	IRCCS Fondazione S. Lucia.,	Luca Battistini
		IRCCS Fondazione S. Lucia	Giovanna Borsellino
	UO3 (Humanitas: Antonella Viola)	Humanitas	Antonella Viola
		Humanitas	Antonio Sica
		IFOM	Elisabetta Dejana
		IEO	Francesco Bertolini

Pubblicazioni conseguite nell'ambito del progetto

Il progetto ha prodotto le seguenti pubblicazioni:

1. Abraham S, Yeo M, Montero-Balaguer M, Paterson H, Dejana E, Marshall CJ, Mavria G. VE-cadherin mediated cell-cell interaction suppresses sprouting via signaling to MLC2 phosphorylation. *Curr Biol* 2009;19(8):668-74.
2. Agliano A, Martin-Padura I, Marighetti P, Mancuso P, Rabascio C, Pruneri G, Shultz LD, Bertolini F. Human acute leukemia cells injected in NOD/LtSz-scid/IL-2Rgamma null mice generate a faster and more efficient disease compared to other NOD/scid-related strains. *Int J Cancer* 2008;123:2222-7.
3. Angelini DF, Zambello R, Galandrini R, Diamantini A, Placido R, Micucci F, Poccia F, Semenzato G, Borsellino G, Santoni A, Battistini L. NKG2A inhibits NKG2C effector functions of $\{\gamma\}$ $\{\delta\}$ T cells: implications in health and disease. *J Leukoc Biol* 2011;89:75-84.
4. Avignolo C, Bagnasco L, Biasotti B, Melchiori A, Tomati V, Bauer I, Salis A, Chiossone L, Mingari MC, Orecchia P, Carnemolla B, Neri D, Zardi L, Parodi S. Internalization via Antennapedia Protein Transduction Domain (PTD) of a scFv antibody toward c-Myc protein. *FASEB J* 2008;2:1-9.
5. Avilla E, Guarino V, Visciano C, Liotti F, Svelto M, Krishnamoorthy G, Franco R, Melillo RM. Activation of TYRO3/AXL tyrosine kinase receptors in thyroid cancer. *Cancer Res* (inviato per la pubblicazione).
6. Bagnasco L, Tortolina L, Biasotti B, Castagnino N, Ponassi R, Tomati V, Nieddu E, Stier G, Malacarne D, Parodi S. Inhibition of a protein-protein interaction between INI1 and c-Myc by small peptidomimetic molecules inspired by Helix-1 of c-Myc: identification of a new target of potential antineoplastic interest. *FASEB J* 2007;21:1256-63.
7. Bertolini F. Chemotherapy and the tumor microenvironment: the contribution of circulating endothelial cells. *Cancer Metastasis Review* 2008;27:95-101.
8. Bertolini F. Biomarkers for angiogenesis and antiangiogenic drugs in clinical oncology. *Breast* 2009;18S3:S48-50.
9. Bertolini F, Mancuso P, Braidotti P, Shaked Y, Kerbel RS. The multiple personality disorder phenotype(s) of circulating endothelial cells in cancer. *Biochim Biophys Acta Reviews Cancer* 2009;1796:27-32.
10. Bertolini F, Marighetti P, Shaked Y. Cellular and soluble markers of tumor angiogenesis: from patient selection to the identification of the most appropriate post-resistance therapy. *Biochim Biophys Acta* 2010;1806:131-7.
11. Birdsey GM, Dryden NH, Amsellem V, Gebhardt F, Sahnun K, Haskard DO, Dejana E, Mason JC, Randi AM. The transcription factor Erg regulates angiogenesis and endothelial apoptosis through VE-cadherin. *Blood* 2008;111(7):3498-506.
12. Bono A, Bianchi PP, Locatelli A, Calleri A, Quarna J, Antoniotti P, Rabascio C, Mancuso P, Andreoni B, Bertolini F. Angiogenic cells, macroparticles and RNA transcripts in laparoscopic vs open surgery for colorectal cancer. *Cancer Biol Ther* 2010;10:682-5.
13. Bronte V, Mocellin S. Suppressive influences in the immune response to cancer. *J Immunother* 2009;32:1-11.
14. Bronte V. Myeloid-derived suppressor cells in inflammation: uncovering cell subsets with enhanced immunosuppressive functions. *Eur J Immunol* 2009;39:2670-2.
15. Bronte V. Th17 and cancer: friends or foes? *Blood* 2008;112:214.

16. Calleri A, Bono A, Bagnardi V, Quarna J, Mancuso P, Rabascio C, Dellapasqua S, Campagnoli E, Shaked Y, Goldhirsch A, Colleoni M, Bertolini F. Predictive potential of angiogenic growth factors and circulating endothelial cells in breast cancer patients receiving metronomic chemotherapy plus bevacizumab. *Clin Cancer Res* 2009;15(24):7652-7.
17. Castagnino N, Tortolina L, Balbi A, Pesenti R, Montagna R, Ballestrero A, Soncini D, Nencioni A and Parodi S. Dynamic simulations of pathways downstream of ERBB-family, including mutations and treatments: concordance with experimental results. *Current Cancer Drug Targets* 2010;10:737-57.
18. Castagnino N, Tortolina L, Montagna R, Pesenti R, Balbi A and Parodi S. *Simulations of the EGFR - KRAS - MAPK signaling network. Virtual mutations and virtual treatments with inhibitors have more important effects than a 10 times range of normal parameters and rates fluctuations.* In: Masulli F, Peterson LE, Tagliaferri R (Ed.). CIBB'09 Proceedings of the 6th international conference on computational intelligence methods for bioinformatics and biostatistics. Springer; 2010. p. 151-64.
19. Castellone MD, De Falco V, Rao DM, Bellelli R, Muthu M, Basolo F, Fusco A, Gutkind JS, Santoro M. The beta-catenin axis integrates multiple signals downstream from RET/papillary thyroid carcinoma leading to cell proliferation. *Cancer Res* 2009;69(5):1867-76.
20. Cera MR, Fabbri M, Molendini C, Corada M, Orsenigo F, Rehberg M, Reichel CA, Krombach F, Pardi R, Dejana E. JAM-A promotes neutrophil chemotaxis by controlling integrin internalization and recycling. *J Cell Sci* 2009;122(2):268-77.
21. Cermenati S, Moleri S, Cimbro S, Corti P, Del Giacco L, Amodeo R, Dejana E, Koopman P, Cotelli F, Beltrame M. Sox18 and Sox7 play redundant roles in vascular development. *Blood* 2008;111:2657-66.
22. Contento RL, Molon B, Boullaran C, Pozzan T, Manes S, Marullo S, Viola A. CXCR4-CCR5: a couple modulating T-cell functions. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America* 2008;105:10101-6.
23. Corada M, Nyqvist D, Orsenigo F, Caprini A, Giampietro C, Taketo MM, Iruela-Arispe ML, Adams RH, Dejana E. The Wnt/beta-catenin pathway modulates vascular remodeling and specification by upregulating Dll4/Notch signaling. *Dev Cell* 2010;18:938-49.
24. Dejana E. The role of wnt signaling in physiological and pathological angiogenesis. *Circ Res* 2010;107:943-52.
25. Dejana E, Orsenigo F, Lampugnani MG. The role of adherens junctions and VE-cadherin in the control of vascular permeability. *J Cell Sci* 2008;121(13):2115-22.
26. Dejana E, Orsenigo F, Molendini C, Baluk P, McDonald DM. Organization and signaling of endothelial cell-to-cell junctions in various regions of the blood and lymphatic vascular trees. *Cell Tissue Res* 2009;335(1):17-25.
27. Dejana E, Tournier-Lasserre E, Weinstein BM. The Control of Vascular Integrity by Endothelial Cell Junctions: Molecular Basis and Pathological Implications. *Dev Cell* 2009;16(2):209-221.
28. Dellapasqua S, Bertolini F, Bagnardi V, Campagnoli E, Scarano E, Torrisi R, Shaked Y, Mancuso P, Goldhirsch A, Rocca A, Pietri E, Colleoni M. Metronomic cyclophosphamide and capecitabine combined with bevacizumab in advanced breast cancer: clinical and biological activity. *J Clin Oncol* 2008;26:4899-905.
29. Dolcetti L, Marigo I, Mantelli B, Peranzoni E, Zanovello P, Bronte V. Myeloid-derived suppressor cell role in tumor-related inflammation. *Cancer Lett* 2008;267(2):216-25.
30. Dolcetti L, Peranzoni E, Ugel S, Marigo I, Fernandez Gomez A, Mesa C, Geilich M, Winkels G, Traggiari E, Casati A, Grassi F, Bronte V. Hierarchy of immunosuppressive strength among myeloid-derived suppressor cell subsets is determined by GM-CSF. *Eur J Immunol* 2010;40(1):22-35.

31. Dolcetti L, Peranzoni E, Ugel S, Marigo I, Fernandez Gomez A, Mesa C, Geilich M, Winkels G, Traggiai E, Casati A, Grassi F, Bronte V. Hierarchy of immunosuppressive strength among myeloid-derived suppressor cell subsets is determined by GM-CSF. Frontline paper. *Eur J Immunol* 2009;40:22-35.
32. Fernández A, Mesa C, Marigo I, Dolcetti L, Clavell M, Oliver L, Fernández LE, Bronte V. Inhibition of tumor-induced myeloid-derived suppressor cell function by a nanoparticulated adjuvant. *J Immunol* 2011;186:264-74.
33. Fiorenzo P, Mongiardi MP, Dimitri D, Cozzolino M, Ferri A, Montano N, Trevisi G, Maira G, Battistini L, Falchetti ML, Levi A, Pallini R. HIF1-positive and HIF1-negative glioblastoma cells compete *in vitro* but cooperate in tumor growth *in vivo*. *Int J Oncol* 2010;36:785-91.
34. François M, Caprini A, Hosking B, Orsenigo F, Wilhelm D, Browne C, Paavonen K, Karnezis T, Shayan R, Downes M, Davidson T, Tutt D, Cheah KS, Stacker SA, Muscat GE, Achen MG, Dejana E, Koopman P. Sox18 induces development of the lymphatic vasculature in mice. *Nature* 2008;456(7222):643-7.
35. Galli R, Starace D, Busà R, Angelini DF, Paone A, De Cesaris P, Filippini A, Sette C, Battistini L, Ziparo E, Riccioli A. TLR stimulation of prostate tumor cells induces chemokine-mediated recruitment of specific immune cell types. *J Immunol* 2010;184:6658-69.
36. Ghiotto F, Fais F, Tenca C, Tomati V, Morabito F, Casciaro S, Verri A, Parodi S, Bruno S. Apoptosis of B-cell chronic lymphocytic leukemia cells induced by a novel BH3 peptidomimetic. *Cancer Biology & Therapy* 2009;8:261-9.
37. Gri G, Piconese S, Frossi B, Manfredi V, Merluzzi S, Tripodo C, Viola A., Odom S., Rivera J, Colombo MP, Pucillo CE. 2008. CD4+CD25+ regulatory T cells suppress mast cell degranulation and allergic responses through OX40-OX40L interaction. *Immunity* 2008;29(5):771-81.
38. Grohmann U, Bronte V. Control of immune response by amino acid metabolism. *Immunol Rev* 2010;236:243-64.
39. Guarino V, Castellone MD, Avilla E, Melillo RM. Thyroid cancer and inflammation. *Mol Cell Endocrinol* 2010;321:94-102.
40. Hermans K, Claes F, Vandeveld W, Zheng W, Geudens I, Orsenigo F, De Smet F, Gjini E, Anthonis K, Ren B, Kerjaschki D, Autiero M, Ny A, Simons M, Dewerchin M, Schulte-Merker S, Dejana E, Alitalo K, Carmeliet P. Role of syndectin in lymphatic development in zebrafish and frogs. *Blood* 2010;116:3356-66.
41. Kerbel RS, Benezra R, Lyden DC, Hattori K, Heissig B, Nolan D, Mittal V, Bertolini F, Rafii S. Endothelial progenitors are cellular hubs essential for neo-angiogenesis of certain aggressive tumors and metastatic transition. *Proceedings of the National Academy of Science USA* 2008;105(34):E54; author reply E55.
42. Lampugnani MG, Orsenigo F, Rudini N, Maddaluno L, Boulday G, Chapon F, Dejana E. CCM1 regulates vascular-lumen organization by inducing endothelial polarity. *J Cell Sci* 2010;123:1073-80.
43. Li H, Raia V, Bertolini F, Price DK, Figg WD. Circulating endothelial cells as a therapeutic marker for thalidomide in combined therapy with chemotherapy drugs in a human prostate cancer model. *BJU International* 2008;101:884-8.
44. Liebner S, Corada M, Bangsow T, Babbage J, Taddei A, Czupalla CJ, Reis M, Felici A, Wolburg H, Fruttiger M, Taketo MM, von Melchner H, Plate KH, Gerhardt H, Dejana E. Wnt/beta-catenin signaling controls development of the blood-brain barrier. *J Cell Biol* 2008;183(3):409-17.
45. Lodyga M, De Falco V, Bai XH, Kapus A, Melillo RM, Santoro M, Liu M. XB130, a tissue-specific adaptor protein that couples the RET/PTC oncogenic kinase to PI 3-kinase pathway. *Oncogene* 2009;28(7):937-49.

46. Mancuso P, Antoniotti P, Quarna J, Calleri A, Rabascio C, Tacchetti C, Braidotti P, Wu H, Zurida AJ, Saronni L, Cheng JB, Shalinsky DR, Heymach JV, Bertolini F. Validation of a standardized method for enumerating circulating endothelial cells and progenitors: flow cytometry, molecular and ultrastructural analyses. *Clinical Cancer Research* 2009;15:267-73.
47. Mancuso P, Bertolini F. Circulating endothelial cells as biomarkers in clinical oncology. *Microvascular Res* 2010;79:224-8.
48. Mancuso P, Calleri A, Bertolini F, Tacchetti C, Heymach JV, Shalinsky DR. Quantification of Circulating Endothelial Cells by Flow Cytometry. *Clin Cancer Res* 2009;15:3640.
49. Mancuso P, Martin-Padura I, Calleri A, Marighetti P, Quarna J, Braidotti P, Bertolini F. Circulating perivascular progenitors, a target of PDGFR inhibition. *Int J Cancer* 2010, Dec 2 (online prima della stampa)
50. Mandruzzato S, Solito S, Falisi E, Francescato S, Chiarion-Sileni V, Mocellin S, Zanon A, Rossi CR, Nitti D, Bronte V, Zanovello P. IL4Ralpha+ myeloid-derived suppressor cell expansion in cancer patients. *J Immunol* 2009;182:6562-8.
51. Marigo I, Bosio E, Solito S, Mesa C, Fernandez A, Dolcetti L, Ugel S, Sonda N, Biciato S, Falisi E, Calabrese F, Basso G, Zanovello P, Cozzi E, Mandruzzato S, Bronte V. Tumor-induced tolerance and immune suppression depend on C/EBPb transcription factor. *Immunity* 2010;32:790-802.
52. Marigo I, Dolcetti L, Serafini P, Zanovello P, and Bronte V. Tumor-induced tolerance and immune suppression by myeloid-derived suppressor cells. *Immunol Rev* 2008;222:162-79.
53. Marinelli M, Gianesin B, Avignolo C, Minganti V, Parodi S. Iron overload detection in rats by means of a susceptometer operating at room temperature. *Phy Med Biol* 2008;53:6849-60.
54. Martini M, Testi MG, Pasetto M, Picchio MC, Innamorati G, Mazzocco M, Ugel S, Cingarlini S, Bronte V, Zanovello P, Krampera M, Mosna F, Cestari T, Riviera AP, Brutti N, Barbieri O, Matera L, Tridente G, Colombatti M, Sartoris S. IFN-gamma-mediated upmodulation of MHC class I expression activates tumor-specific immune response in a mouse model of prostate cancer. *Vaccine* 2010;28:3548-57.
55. Martin-Padura I, Agliano A, Marighetti P, Porretti L, Bertolini F. Gender-related efficiency in NSG mice engraftment. *Blood* 2010;116:2616-7.
56. Martin-Padura I, Bertolini F. Circulating endothelial cells as biomarkers for angiogenesis in tumor progression. *Front Biosci (Schol Ed)* 2009;1:304-18.
57. Martin-Padura I, Bertolini F. The circulating endothelial cell in cancer: towards marker and target identification. *Curr Pharm Des* 2008;14(36):3780-9
58. Mazzone M, Dettori D, Leite de Oliveira R, Loges S, Schmidt T, Jonckx B, Tian YM, Lanahan AA, Pollard P, Ruiz de Almodovar C, De Smet F, Vinckier S, Aragonés J, Debackere K, Luttun A, Wyns S, Jordan B, Pisacane A, Gallez B, Lampugnani MG, Dejana E, Simons M, Ratcliffe P, Maxwell P, Carmeliet P. Heterozygous deficiency of PHD2 restores tumor oxygenation and inhibits metastasis via endothelial normalization. *Cell* 2009;136(5):839-51.
59. Melillo RM, Guarino V, Avilla E, Galdiero MR, Liotti F, Prevete N, Rossi FW, Basolo F, Ugolini C, de Paulis A, Santoro M, Marone G. Mast cells play a protumorigenic role in human thyroid cancer. *Oncogene* 2010;29:6203-15.
60. Mennuni C, Ugel S, Mori F, Cipriani B, Iezzi M, Pannellini T, Lazzaro D, Ciliberto G, La Monica N, Zanovello P, Bronte V, Scarselli E. Preventive vaccination with telomerase controls tumor growth in genetically engineered and carcinogen-induced mouse models of cancer. *Cancer Res* 2008;68(23):9865-74.
61. Murakami M, Francavilla C, Torselli I, Corada M, Maddaluno L, Sica A, Matteoli G, Iliev ID, Mantovani A, Rescigno M, Cavallaro U, Dejana E. Inactivation of junctional adhesion molecule-A enhances antitumoral immune response by promoting dendritic cell and T lymphocyte infiltration. *Cancer Res* 2010;70:1759-65.

62. Nyqvist D, Giampietro C, Dejana E. Deciphering the functional role of endothelial junctions by using *in vivo* models. *EMBO Rep* 2008;9(8):742-745.
63. Peranzoni E, Marigo I, Dolcetti L, Ugel S, Sonda N, Taschin E, Mantelli B, Bronte V, Zanovello P. Role of arginine metabolism in immunity and immunopathology. *Immunobiology* 2008;212:795-812.
64. Peranzoni E, Zilio S, Marigo I, Dolcetti L, Zanovello P, Mandruzzato S, Bronte V. Myeloid-derived suppressor cell heterogeneity and subset definition. *Curr Opin Immunol* 2010;22:238-44.
65. Persano L, Moserle L, Esposito G, Bronte V, Barbieri V, Iafrate M, Gardiman MP, Larghero P, Pfeffer U, Naschberger E, Stürzl M, Indraccolo S, Amadori A. Interferon-alpha counteracts the angiogenic switch and reduces tumor cell proliferation in a spontaneous model of prostatic cancer. *Carcinogenesis* 2009;30:851-60.
66. Ponassi R, Biasotti B., Tomati V, Bruno S, Poggi A, Malacarne D, Cimoli G, Salis A, Pozzi S, Miglino M, Damonte G, Cozzini P, Spyraiki F, Campanini B, Bagnasco L, Castagnino N, Tortolina L, Mumot A, Frassoni F, Daga A, Cilli M, Piccardi F, Monfardini I, Perugini M, Zoppoli G, D'Arrigo C, Pesenti R, Parodi S. A novel Bim-BH3-derived Bcl-XL inhibitor *Cell Cycle* 2008;7(20):1-14.
67. Porta C, Rimoldi M, Raes G, Brys L, Ghezzi P, Di Liberto D, Dieli F, Ghisletti S, Natoli G, De Baetselier P, Mantovani A, Sica A. Tolerance and M2 (alternative) macrophage polarization are related processes orchestrated by p50 nuclear factor kappaB. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106(35):14978-83.
68. Rudini N, Dejana E. Adherens junctions. *Curr Biol* 2008;18(23):R1080-2.
69. Rudini N, Felici A, Giampietro C, Lampugnani MG, Corada M, Swirsding K, Garrè M, Liebner S, Letarte M, ten Dijke P, Dejana E. VE-cadherin is a critical endothelial regulator of TGF-beta signalling. *EMBO J* 2008;27(7):993-1004.
70. Ruggero K, Corradin A, Zanovello P, Amadori A, Bronte V, Ciminale V, D'Agostino DM. Role of microRNAs in HTLV-1 infection and transformation. *Mol Aspects Med* 2010;31:367-82.
71. Salerno P, De Falco V, Tamburrino A, Nappi TC, Vecchio G, Schweppe R, Bollag G, Santoro M, Salvatore G. Cytostatic activity of ATP-competitive kinase inhibitors in BRAF mutant thyroid carcinoma cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:450-5.
72. Salerno P, Garcia-Rostan G, Piccinin S, Bencivenga TC, Doglioni C, Basolo F, Maestro R, Fusco A, Santoro M, Salvatore G. Twist1 plays a pleiotropic role in determining the anaplastic thyroid cancer phenotype. *JCEM* (inviato per la pubblicazione).
73. Shaked Y, Henke E, Roodhart J, Mancuso P, Langenberg M, Colleoni M, Daenen LG, Man S, Xu P, Emmenegger U, Tang T, Zhu Z, Witte L, Strieter RM, Bertolini F, Voest E, Benezra R, Kerbel RS. Rapid chemotherapy-induced acute endothelial progenitor cell mobilization: Implications for antiangiogenic drugs as chemosensitizing agents. *Cancer Cell* 2008;14:1263-73.
74. Shaked Y, Tang T, Woloszynek J, Daenen LG, Man S, Xu P, Cai S, Armeit JM, Voest EE, Chaplin D, Smythe J, Harris A, Nathan P, Judson I, Rustin G, Bertolini F, Link DC, Kerbel RS. Contribution of G-CSF to the acute mobilization of endothelial precursor cells by vascular disrupting agents. *Cancer Research* 2009;69:7524-8.
75. Strilić B, Kucera T, Eglinger J, Hughes MR, McNagny KM, Tsukita S, Dejana E, Ferrara N, Lammert E. The molecular basis of vascular lumen formation in the developing mouse aorta. *Dev Cell* 2009;17:505-15.
76. Taddei A, Giampietro C, Conti A, Orsenigo F, Breviario F, Pirazzoli V, Potente M, Daly C, Dimmeler S, Dejana E. Endothelial adherens junctions control tight junctions by VE-cadherin-mediated upregulation of claudin-5. *Nat Cell Biol* 2008;10(8):923-34.
77. Torregrossa L, Faviana P, Filice ME, Materazzi G, Miccoli P, Vitti P, Fontanini G, Melillo RM, Santoro M, Basolo F. CXC chemokine receptor 4 immunodetection in the follicular variant of

- papillary thyroid carcinoma: comparison to galectin-3 and hector battifora mesothelial cell-1. *Thyroid* 2010;20:495-504.
78. Tortolina L, Castagnino N, Montagna R, Pesenti R, Balbi A, Parodi, S. Signaling networks. Simulations of biochemical interactions. Applications to molecular oncology. In: Nicolini C, LaBaer J (Ed.). *Functional proteomics and nanotechnology-based microarrays*. Vol. II, chapter 11. Pan Stanford Publishing; 2010. (Pan Stanford Series on Nanobiotechnology).
 79. Tosello V, Zamarchi R, Merlo A, Gorza M, Piovan E, Mandruzzato S, Bronte V, Wang X, Ferrone S, Amadori A, Zanovello P. Differential expression of constitutive and inducible proteasome subunits in human monocyte-derived DC differentiated in the presence of IFN-alpha or IL-4. *Eur J Immunol* 2009;39:56-66.
 80. Turowski P, Martinelli R, Crawford R, Wateridge D, Papageorgiou AP, Lampugnani MG, Gamp AC, Vestweber D, Adamson P, Dejana E, Greenwood J. Phosphorylation of vascular endothelial cadherin controls lymphocyte emigration. *J Cell Sci* 2008;121:29-37.
 81. Ugel S, Delpozzo F, Desantis G, Papalini F, Simonato F, Sonda N, Zilio S, Bronte V. Therapeutic targeting of myeloid-derived suppressor cells. *Curr Opin Pharmacol* 2009;9:470-81.
 82. Ugel S, Scarselli E, Iezzi M, Mennuni C, Pannellini T, Calvaruso F, Cipriani B, De Palma R, Ricci-Vitiani L, Peranzoni E, Musiani P, Zanovello P, Bronte V. Autoimmune B cell lymphopenia following successful adoptive therapy with telomerase-specific T lymphocytes. *Blood* 2010;115:1374-84.
 83. Ugel S, Zoso A, De Santo C, Li Y, Marigo I, Ugel S, Zanovello P, Scarselli E, Cipriani B, Schneck JP, Oelke M., Bronte V. *In vivo* administration of artificial antigen-presenting cells activates low-avidity T cells for treatment of cancer. *Cancer Res* 2009;69:9376-84.
 84. Vetrano S, Rescigno M, Cera MR, Correale C, Rumio C, Doni A, Fantini M, Sturm A, Borroni E, Repici A, Locati M, Malesci A, Dejana E, Danese S. Unique role of junctional adhesion molecule-a in maintaining mucosal homeostasis in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2008;135(1):173-84.
 85. Viola A, Luster AD. Chemokines and their receptors: drug targets in immunity and inflammation. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 2008;48:171-97.
 86. Viola A, Molon B, Contento RL. Chemokines: coded messages for T cell missions. *Frontiers in Biosciences* 2008;13:6341-53.
 87. Vitiello L, Masci AM, Montella L, Perna F, Angelini DF, Borsellino G, Battistini L, Merola G, De Palma R, Spadaro G, Cosentini E, Palmieri G, Racioppi L. Thymoma-associated immunodeficiency: a syndrome characterized by severe alterations in NK, T and B-cells and progressive increase in naive CD8+ T Cells. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2010;23:307-16.
 88. Zoppoli G, Cea M, Soncini D, Fruscione F, Rudner J, Moran E, Caffa I, Bedognetti D, Motta G, Ghio R, Ferrando F, Ballestrero A, Parodi S, Belka C, Patrone F, Bruzzone S, Nencioni A. Potent synergistic interaction between the Nampt inhibitor APO866 and the apoptosis activator TRAIL in human leukemia cells. *Experimental Hematology* 2010;38:979-88.
 89. Zoppoli G, Moran E, Soncini D, Cea M, Garuti A, Rocco I, Cirmena G, Grillo V, Bagnasco L, Icardi G, Ansaldi F, Parodi S, Patrone F, Ballestrero A, Nencioni A. Ras-induced resistance to lapatinib is overcome by MEK inhibition. *Current Cancer Drug Targets* 2010;10:168-75.

Brevetti conseguiti nell'ambito del progetto

Viola A, Bronte E, Crosetti M, Lazzarato L, Fruttero R, Gasco A. Nitric oxide furoxan derivative compounds endowed with antitumoral activity. PCT/EP2009/000206.

RECETTORI PER CHEMOCHINE COME MARCATORI BIOLOGICI E MOLECOLARI DI RISPOSTA CLINICA E TARGET DIAGNOSTICO TERAPEUTICO

Stefania Scala

Dipartimento di Immunologia Clinica, Istituto Tumori Napoli, Fondazione G. Pascale, Napoli

Riassunto del Progetto

Recentemente è stato identificato un ruolo dell'asse chemochine-recettori per chemochine nelle neoplasie umane. Principalmente il recettore CXCR4 e la relativa chemochina, CXCL12 sono stati descritti in numerose neoplasie. CXCL12 è una chemochina di tipo C-X-C che interagisce con un recettore specifico, CXCR4, un recettore a sette-domini transmembrane, associato ad una proteina G-. Cellule di neoplasia mammaria esprimono elevati livelli di CXCR4 e la specifica chemochina, CXCL12, è massimamente espressa ai luoghi di metastasi di neoplasia mammaria. Trattamento con anticorpi neutralizzanti per CXCR4 riducono drammaticamente la metastasi. Anche nel modello di melanoma, carcinoma del colon, carcinoma renale, del colon retto, del polmone, glioblastoma, carcinoma della prostata l'asse CXCR4/CXCL12 ha dimostrato un ruolo centrale nella metastatizzazione. Pertanto il ruolo dei recettori per chemochine e relativi ligandi ha un ruolo cruciale nel processo di metastatizzazione. Recentemente inoltre abbiamo dimostrato un ruolo prognostico per l'espressione del recettore CXCR4 in associazione all'espressione del VEGF nelle neoplasie del colon retto ed un valore prognostico per l'espressione del CXCR4 nel melanoma primitivo. Lo Stromal Derived Factor-1 (SDF-1) è una chemochina secreta dalle cellule stromali del midollo osseo. L'SDF-1 genera un *signaling* in seguito all'interazione con il recettore di membrana CXCR4, e tale via di trasduzione del segnale svolge un ruolo chiave nel controllo dell'emopoiesi e dell'organizzazione del sistema linfoide. Recenti evidenze, prodotte nel nostro e in altri laboratori, hanno dimostrato che il livello di espressione di CXCR4 sui blasti leucemici di leucemia mieloide acuta (LMA) rappresenta un fattore prognostico negativo.

Partendo da tali osservazioni, l'obiettivo principale del progetto è stato quello di determinare il ruolo funzionale della chemochina SDF-1 e del suo recettore di membrana CXCR4, ossia dell'asse CXCR4/SDF-1, nella LMA ed in alcuni tumori solidi (melanoma e glioblastoma), con particolare attenzione al compartimento staminale. In sintesi, il progetto si è proposto di valutare l'effetto dell'attivazione del segnale generato a partire dal recettore CXCR4 nella modulazione della capacità proliferativa, di adesione e migrazione delle cellule tumorali e di valutare l'efficacia di strategie terapeutiche in grado di spegnere tale segnale, cioè di inibitori del recettore CXCR4, su modelli tumorali *in vivo*.

Per definire i meccanismi alla base e evincere strategie inibenti saranno condotti studi sia nel carcinoma prostatico umano (*in vitro*) sia nel modello murino di sviluppo spontaneo del carcinoma prostatico TRAMP (transgenic adenocarcinoma of the mouse prostate). Inoltre, numerose evidenze sperimentali suggeriscono che 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. L'espressione di recettori per chemochina, ed in particolare del CXCR4 è stata descritta diffusamente su cellule staminali neoplastiche. Verrà pertanto valutato l'analisi del sistema CXCR4-SDF1 a livello delle cellule staminali tumorali,

con l'intento di dimostrarne la rilevanza nei tumori primitivi e nelle metastasi. Valutare l'espressione di chemochine e recettori per le cellule staminali tumorali (CSCs), o sfere, ottenute da vari tumori solidi, in particolare tumori del polmone, del colon, melanoma e glioblastoma. I livelli di espressione, in particolare del recettore CXCR4 saranno valutati anche su cellule più differenziate ottenute mediante coltura delle sfere in condizioni differenzianti oppure direttamente sulle cellule tumorali ottenute dalla dissociazione di campioni tumorali freschi. In parallelo verranno effettuati studi simili nelle leucemie acute mieloidi nelle quali è stato possibile dimostrare che i livelli di espressione del CXCR4 rappresentano un fattore prognostico negativo. Da tali evidenze consegue che l'antagonismo del segnale mediato da CXCR4 attraverso peptidi e/o piccole molecole potrebbero rappresentare un interessante approccio terapeutico. Valutazione di potenziali strategie terapeutiche innovative in grado di ridurre i livelli di espressione di CXCR4 sulle CSCs, quindi potenzialmente di ridurre la capacità invasiva, e il processo di "homing" delle CSCs nella "nicchia" metastatica attraverso identificazione e sintesi di specifici antagonisti peptidici e/o piccole molecole.

Il progetto proposto indicherà un nuovo approccio terapeutico inibendo l'asse del CXCR4. Inoltre, l'identificazione di un nuovo bersaglio terapeutico potrebbe essere rapidamente trasferita in studi clinici con inibitori del CXCR4.

Stato generale di sviluppo del progetto e conseguimento dei risultati

Recentemente è stato identificato un ruolo dell'asse chemochine-recettori per chemochine nelle neoplasie umane. In particolare, il recettore CXCR4 si propone come un valido e possibile target molecolare per inibire la diffusione metastatica. Attraverso "rationale design" sono stati quindi disegnati peptidi potenzialmente interagenti con il recettore CXCR4. I peptidi sono stati disegnati sulla base di una sequenza triamminoacidica presente alla estremità amminoterminale del ligando del CXCR4, CXCL12. La stessa sequenza è stata identificata, sebbene invertita, nella sequenza del vMIP-II, chemokine-like a funzione inibitoria, secreta dall'herpes virus Kaposi sarcoma-associato HHV8. Sul nucleo centrale amminoacidico sono stati disegnati 20 peptidi sulla base della sequenza CXCL12 e vMIP-II. Tali peptidi sono stati valutati *in vitro* per la capacità di inibire l'attività del recettore CXCR4. Inibizione del binding, della mobilitazione del calcio, della migrazione CXCL12-dipendente e dell'induzione di P-Erk CXCL12-dipendente sono state valutate per i 20 peptidi. Quattro peptidi sono stati identificati come inibitori della funzione recettoriale e sono stati valutati *in vivo* per un possibile inibizione della diffusione metastatica e crescita neoplastica in sistemi murini e xenograft. I saggi di attività farmacologica hanno evidenziato un'attività biologica dei peptidi a 7 termini sintetizzati nel verso della sequenza di SDF-1 molto più elevata rispetto a quelli ottenuti con gli stessi residui nel verso di vMIP-II, mentre i cicli a 5 termini hanno esibito andamento opposto. Studi di risonanza magnetica nucleare (NMR) bidimensionale in soluzione sono stati condotti. Grazie alla recente disponibilità della struttura cristallografica del recettore CXCR4 è stato possibile intraprendere la modellazione di complessi ligando-recettore più affidabili rispetto a quelli ottenuti in precedenza. Peptidi inibitori del CXCR4 legando specificamente il recettore, target prognostico e terapeutico, possono essere impiegati come possibili sonde diagnostiche. A tale scopo uno dei peptidi inibitori è stato marcato con un fluorocromo ideale per *in vivo* targeting. Peptidi inibitori del CXCR4 sono stati inoltre valutati per la capacità di incrementare la mobilitazione di precursori ematopoietici in analogia all'inibitore di CXCR4, AMD3100, attualmente approvato dall'FDA nei "poor mobilizer". Peptidi inibitori del CXCR4 inducono

una robusta e duratura mobilitazione di neutrofili, incremento nella formazione di colonie ed una mobilitazione midollare in un modello murino in confronto all'AMD3100. Incoraggianti prospettive quindi sono ipotizzabili nell'utilizzo di tali peptidi come induttori della mobilitazione di precursori ematopoietici.

L'espressione di CXCR4 è stata valutata in campioni di pazienti affetti da melanoma metastatico, con una serie di marcatori putativi della cellula staminale tumorale. All'interno della popolazione con caratteristiche di staminalità isolate dal melanoma, solo una piccola percentuale di cellule, l'1-2%, esprime il recettore CXCR4. Le cellule CXCR4+ sono state isolate mediante "sorting" e le due popolazioni così ottenute, CXCR4+ e CXCR4-, sono state analizzate per la loro capacità migratoria *in vitro* e tumorigenica/metastatica *in vivo* e nonostante *in vitro* le cellule positive per CXCR4 abbiano maggiore capacità migratoria in studi *in vivo*, realizzati mediante inoculo i.v. in topi nudi, sia le cellule esprimenti il CXCR4 sia le cellule non esprimenti il recettore presentano un livello paragonabile di invasività nel generare le caratteristiche lesioni polmonari dei melanomi metastatici. Meccanismi regolatori dell'espressione del CXCR4 riguardano anche i microRNA. miR146a, del miR-219 e del miR-222 sono stati identificati quali fattori in grado di modulare l'espressione del recettore. miR-222 - già correlato alla progressione del melanoma attraverso la modulazione del recettore per lo Stem Cell Factor, c-kit, e dell'inibitore del ciclo cellulare p27Kip - è stato identificato quale target il fattore trascrizionale Ets-1, che regola l'espressione di geni prometastatici, CD44 e CXCR4. Nelle leucemie mieloidi acute (LMA) l'espressione del CXCR4 è ridotta in cellule leucemiche attraverso l'inibitore AMD3100. Inibizione dell'asse CXCR4/SDF-1 sensibilizza le cellule leucemiche al trattamento chemioterapico. L'ipossia (5% o 1% di O₂) regola in maniera opposta l'espressione di CXCR4 e del miR146a. Inoltre CXCR4 viene fortemente "upmodulato" nel passaggio dai progenitori emopoietici CD34+ ai monociti in concomitanza con una diminuzione dei livelli di miR146a. CXCR4 è stato valutato in una linea T linfoblastoide umana (CEM) in presenza di un inibitore di PC-plc, fosfolipasi C specifica per fosfatidilcolina. L'inibitore induce una significativa internalizzazione di CXCR4 suggerendo un legame tra il catabolismo della PC e l'asse CXCR4/CXCL12. Dati confermati microscopia confocale a scansione laser su cellule di glioblastoma (U87) esposte all'inibitore di PC-plc. In cellule U87 è stato valutato *in vitro* il potenziale migratorio ed invasivo in seguito a stimolazione dell'asse CXCR4/SDF-1. SDF-1 incrementa l'attività migratoria delle cellule U87 di circa il 15%, ma non le capacità invasive in Matrigel. Il peptide PhE-7, antagonista specifico di CXCR4 sviluppato da UO1, riduce per oltre la metà la capacità migratoria e per circa un quarto l'invasività delle cellule U87 con efficienza superiore all'AMD3100. In modelli orto topici di glioblastoma con cellule U87, non hanno tuttavia confermato la superiorità del peptide PhE-7 rispetto ad AMD3100 e hanno constatato che l'efficacia del trattamento non dipende dalla dose di farmaco somministrato. CXCL12 è stato valutato nel carcinoma prostatico umano (*in vitro*) sia nel modello murino di sviluppo spontaneo del carcinoma prostatico TRAMP. 90 carcinomi prostatici testati per immunisto chimica con l'anticorpo monoclonale anti CXCR4 UMB-2, hanno mostrato in 73% una reattività citoplasmatica granulare. In alcuni casi di carcinoma prostatico con alto score di Gleason si è osservata reattività per CXCR4 nei vasi intratumorali. In cellule staminali tumorali è stato riscontrato che mentre l'espressione di CXCR4 era assente o marginale in cellule staminali da prostate sane o da organi affetti da PIN, CXCR4 era presente nel 30% circa delle cellule staminali ottenute da adenocarcinomi infiltranti. Inoltre, l'espressione di CXCR4 nella linea di CST originata da un adenocarcinoma disseminato alle vescicole seminali si associava alla mancata espressione di molecole MHC di classe I. Al contrario le cellule negative per CXCR4 erano positive per MHC I. L'espressione di CXCR4 veniva persa invece in CST da tumore neuroendocrino (TNE) androgeno-indipendente ed altamente metastatizzante. L'analisi citofluorimetrica ha permesso di osservare che sia le CST

derivate da lesioni PIN sia quelle derivate dall'invasione delle vescicole seminali esprimevano abbondantemente CD62L. CST da lesione PIN inoculate in peritoneo migrano nei linfonodi paraortici e non nella milza, rene, polmoni. Cellule staminali tumorali sono state isolate utilizzando specifiche condizioni di coltura e sono state sottoposte a profilo trascrizionale tramite microarrays.

Articolazione del progetto

L'articolazione del progetto è descritta nella Tabella 1.

Tabella 1. Articolazione del progetto Recettori per chemochine come marcatori biologici e molecolari di risposta clinica e target terapeutico

Proponente (Coordinatore del progetto)	Unità Operativa (UO) (ente di appartenenza: responsabile)	Gruppi di ricerca afferenti	Responsabile scientifico del gruppo
Pascale (Stefania Scala)	UO1 (Pascale: Stefania Scala)	Pascale	Alfredo Siani
		Pascale	Stefania Scala
		Pascale	Vincenzo Rosario Iaffaioli
		Pascale	Paolo del Rio
		Pascale	Claudio Arra
	UO2 (ISS: Ruggero Marchiano De Maria)	CNR	Pietro Omodeo
		CNR	Stefania de Luca
		ISS	Alessandra Carè
		ISS	Ugo Testa
		ISS	Franca Podo
	UO3 (HSR: Matteo Bellone)	ISS	Giuseppe Arancia
		HSR	Matteo Bellone
		HSR	Rossella Galli
		HSR	Claudio Doglioni
		HSR	

Pubblicazioni conseguite nell'ambito del progetto

Il progetto ha prodotto le seguenti pubblicazioni:

1. D'Alterio C, Cindolo L, Portella L, Polimeno MN, Consales C, Riccio A, Cioffi M, Franco R, Chiodini P, Carteni G, Mirone V, Longo N, Marra L, Perdonà S, Claudio L, Mascolo M, Staibano, Falsaperla M, Puglisi M, Martignoni G, Ficarra V, Castello G, Scala S. Differential role of CD133 and CXCR4 in renal cell carcinoma. *Cell Cycle* 2010;15:4492-500.
2. D'Alterio C, Consales C, Polimeno MN, Franco R, Cindolo L, Portella L, Cioffi M, Calemma R, Carteni G, Longo N, Pucci L, Marra L, Claudio L, Perdonà S, Pignata S, Facchini G, Ottaiano A, Costantini S, Castello G, Scala S. Concomitant CXCR4 and CXCR7 Expression Predicts Poor Prognosis in Renal Cancer. *Curr Cancer Drug Targets* 2010;10:772-81.
3. Felicetti F, Errico MC, Bottero L, Segnalini P, Stoppacciaro A, Biffoni M, Felli N, Mattia G, Petrini M, Colombo MP, Peschle C, Carè A. The promyelocytic leukemia zinc finger-microRNA-221/-222 pathway controls melanoma progression through multiple oncogenic mechanisms. *Cancer Res* 2008;68(8):2745-54.

4. Felicetti F, Errico MC, Segnalini P, Mattia G, Carè A. MicroRNA-221 and -222 pathway controls melanoma progression. *Expert Rev Anticancer Ther* 2008;8(11):1759-65.
5. Ierano C, Giuliano P, D'Alterio C, Cioffi M, Mettavier V, Portella L, Napolitano M, Barbieri A, Arra C, Liguori G, Franco R, Palmieri G, Rozzo C, Pacelli R, Castello G, Scala S. A point mutation (G574A) in the chemokine receptor CXCR4 detected in human cancer cells enhances migration. *Cell Cycle* 2009;8(8):1228-37.
6. Labbaye C, Spinello I, Quaranta MT, Pelosi E, Pasquini L, Petrucci E, Biffoni M, Nuzzolo ER, Billi M, Foà R, Brunetti E, Grignani F, Testa U, Peschle C. A three-step pathway comprising PLZF/miR-146a/CXCR4 controls megakaryopoiesis. *Nat Cell Biol* 2008;10:788-801.
7. Napolitano M, Ottaiano A, Mauro F, Ierano C, Satriano R, Pacelli R, Franco R, De Angelis V, Castello G, Scala S. CD4(+)CD45RA(+)CXCR4 (+) lymphocytes are inversely associated with progression in stages I-III melanoma patients. *Cancer Immunol Immunother* 2010;59(4):511-7.
8. Spinello I, Quaranta MT, Riccioni R, Riti V, Pasquini L, Boe A, Pelosi E, Vitale A, Foà R, Testa U, Labbaye C. MicroRNA-146a and AMD3100, two ways to control CXCR4 expression in Acute Myeloid Leukemias. *Leukemia* (inviato per la pubblicazione).

Presentazioni a Meeting nazionali e/o internazionali:

1. Cecchetti S, Ricci A, Iorio E, Pisanu M, Paris L, Portella L, Scala S, Podo F. Links between CXCR4/CXCL12 axis and phosphatidylcholine cycle in a human lymphoblastoid cell line. In: *SIC 2009 Annual Meeting abstracts - 51° Congresso Nazionale della Società Italiana di Cancerologia - Cancer research in the technological post-industrial era*, November 23-26, Milano. Poster P46.
2. Portella L, Napolitano M, Consales C, D'Alterio C, Polimero M, Cioffi M, Vitale RM, Amodeo P, De Luca S, Monfregola L, Castello G, Scala S. *In vitro* and *in vivo* functional characterization of new cycle-peptides inhibitors for C-X-C chemokine receptor-4 (CXCR4). In: *SIC 2009 Annual Meeting abstracts - 51° Congresso Nazionale della Società Italiana di Cancerologia - Cancer research in the technological post-industrial era*, November 23-26, Milano. Poster P79.
3. Ricci A, Cecchetti S, Iorio E, Pisanu M, Paris L, Portella L, Scala S, Podo F. Relationship between CXCR4/CXCL12 axis and phosphatidylcholine cycle in a human lymphoblastoid cell line monitored by 1H MRS. In: *ESMRMB 2009 Congress*, October 1-3, Antalya (Turkey). Peer-reviewed abstract n. 652.

Brevetti conseguiti nell'ambito del progetto

Scala S, Amodeo P, Vitale RM, DeLuca S, Castello G, Siani A. "Peptidi ciclici che legano il recettore CXCR4 e relativi usi in campo medico e diagnostico" Numero MI2010A 000093.

SVILUPPO DI NUOVE TERAPIE NEI SARCOMI MUSCOLOSCHIELETRICI: IMMUNOTERAPIA E TARGET TERAPIA A CONFRONTO

Piero Picci

Dipartimento di Oncologia Muscoloscheletrica, Istituti Ortopedici Rizzoli, Bologna

Riassunto del progetto

I sarcomi muscoloscheletrici rappresentano un gruppo di tumori relativamente rari per i quali esiste una grandissima esigenza di nuovi schemi di trattamento che associno ad una più elevata probabilità di guarigione anche effetti di tossicità collaterale a lungo termine ridotti rispetto a quelli delle terapie antitumorali usate correntemente.

Al fine di raggiungere questo scopo, si possono prendere in considerazione diversi approcci terapeutici innovativi tra cui l'utilizzazione di anticorpi monoclonali, che sta assumendo in questi ultimi anni un ruolo di primo piano nel trattamento di tumori solidi precedentemente considerati incurabili. Ciò è dovuto ad una serie di fattori che includono elevata efficacia e buona tollerabilità dell'immunoterapia, se comparata con analoghi trattamenti antitumorali. Inoltre, dai dati presenti in letteratura e derivanti da numerose sperimentazioni cliniche, risulta evidente che la buona risposta al trattamento basato sulla sola somministrazione dell'anticorpo monoclonale in pazienti affetti da tumori solidi metastatici (es. Herceptin-Genentech, per il carcinoma mammario metastatico HER-2/neu+; Herbitux- ImClone e Avastin-Genentech, per il carcinoma metastatico coloretale) diventa eccellente se combinata con chemioterapie specifiche. Alla luce di queste osservazioni e considerando la natura estremamente aggressiva dei sarcomi muscoloscheletrici, emerge la necessità di verificare se un'immunoterapia combinata con la somministrazione di chemioterapici specifici sia una strategia di cura efficace e sufficientemente sicura.

Nel corso della prima fase di questo progetto verranno quindi valutate in parallelo le potenzialità di tre diversi approcci immunoterapeutici indirizzati contro le molecole CD99 e Fibronectina, oltre che contro il proteoglicano NG2. Simultaneamente, si analizzerà l'efficacia preclinica di un nuovo agente antitumorale di recente sintesi, il 6-(7-nitro-2,1,3-benzoxadiazol-4-ylthio)texano (NBDHEX), diretto contro l'enzima glutatione trasferasi, coinvolto nella detossificazione dei principali farmaci utilizzati nei regimi di polichemioterapia dei tumori muscoloscheletrici, che è risultato essere molto attivo in diverse linee cellulari di tumori umani.

Sulla base dei risultati ottenuti nella prima fase (primi 24 mesi) del programma di ricerca, la seconda parte dello studio (25-36 mesi) prevederà lo sviluppo dell'approccio che ha dato i migliori risultati preclinici (con produzione in GMP - *Good Manufacturing Practice* -, se e dove necessario) oltre che il completamento degli studi tossicologici e di farmacocinetica al fine di arrivare, al termine del progetto, ad avere tutti i prerequisiti per avviare uno studio clinico di fase I-II nei sarcomi muscoloscheletrici.

L'articolazione del programma di ricerca in due fasi distinte e successive, delle quali la prima è propedeutica alla seconda, consentirà di finalizzare le risorse dell'ultimo anno del progetto alla strategia terapeutica risultata più promettente e con le migliori caratteristiche di attuazione in uno studio clinico controllato di fase I-II.

Inoltre, un ulteriore valore aggiunto di questo progetto è rappresentato dal fatto che le diverse UO coinvolte sono altamente specializzate nello studio dei sarcomi muscoloscheletrici e/o nei vari campi d'indagine previsti dal programma di ricerca, da cui ne consegue un'elevata complementarità delle rispettive conoscenze e competenze.

Obiettivi del progetto sono:

1. *Generazione di un anticorpo umano specifico per CD99 utilizzabile clinicamente*
 - selezione di anticorpi monoclonali ricombinanti umani in forma di single chain fragment variable (scFv) diretti verso epitopi extracellulari del CD99;
 - aumento dell'affinità degli scFv-CD99 specifici per mezzo di processi di maturazione e generazione di minianticorpi divalenti e/o di IgG intere mediante ingegneria genetica;
 - analisi *in vitro* e *in vivo* per valutare l'efficacia antitumorale degli anticorpi isolati e per verificarne la potenziale applicabilità terapeutica e le interazioni con i più comuni chemioterapici.
2. *Valutazione pre-clinica dell'efficacia di NBDHEX*
 - analisi dell'efficacia *in vitro* di NBDHEX e delle interazioni con i chemioterapici convenzionali;
 - analisi del meccanismo di morte cellulare indotto dal trattamento con NBDHEX;
 - analisi dell'efficacia *in vivo* (nell'animale da esperimento) di NBDHEX, usato sia come farmaco singolo che in associazione ai chemioterapici convenzionali. Tali analisi saranno anche volte ad identificare il profilo farmacocinetico e gli effetti di tossicità collaterale di NBDHEX per una eventuale pianificazione di studi di fase I-II.
3. *Definizione del significato prognostico e terapeutico del proteoglicano NG2*
 - valutazione della capacità di NG2 di predire la presenza di metastasi occulte e/o l'evoluzione metastatica del tumore;
 - delucidazione dei meccanismi cellulari e molecolari tramite i quali NG2 controlla l'interazione cellula tumorale-microambiente ospite;
 - selezione di sequenze peptidiche di NG2 in grado di indurre una risposta immunologica citotossica in topi NOD-SCID "umanizzati", utilizzabili per pianificare sperimentazioni cliniche di fase I-II.
4. *Definizione dell'efficacia di anticorpi umani ricombinanti contro il dominio EDB della Fibronectina*
 - studio immunoistochimico dell'espressione di EDB in sarcomi muscoloscheletrici umani e in modelli sperimentali murini;
 - studi preclinici di terapia con TNF-alpha coniugato ad anticorpo anti-EDB in almeno tre diversi modelli murini di sarcomi muscoloscheletrici;
 - sul modello nel quale si saranno ottenuti i risultati migliori, completamento degli studi *in vitro* e *in vivo* per la pianificazione di studi clinici di fase I-II.

Stato generale di sviluppo del progetto e conseguimento dei risultati

In considerazione dei potenziali risultati conseguiti nei primi due anni, documentati da specifiche pubblicazioni (vedi sotto), il consorzio ha deciso di proseguire gli studi in tutte le sue diverse articolazioni.

Nel terzo anno di progetto sono state proseguite le analisi delle potenzialità di approcci immunoterapeutici indirizzati contro la molecola CD99 e il proteoglicano NG2, assieme alla valutazione dell'efficacia preclinica del nuovo agente antitumorale 6-(7-nitro-2,1,3-benzoxadiazol-4-ylthio)hexanol (NBDHEX) e di una serie di suoi derivati.

Le varie UO/Gruppi di Ricerca del progetto si sono integrate per effettuare e sviluppare gli studi inerenti gli approcci terapeutici sopra menzionati come segue:

- i gruppi di ricerca IOR-Serra e UniRoma-Caccuri hanno cooperato per la parte del programma di ricerca inerente la valutazione pre-clinica e la definizione delle potenzialità terapeutiche di NBDHEX, valutandone l'efficacia *in vitro* su linee cellulari di osteosarcoma, sarcoma di Ewing e rhabdomyosarcoma ed *in vivo* su cellule di sarcoma di Ewing. Inoltre, è stata completata, nella linea U-2OS, l'analisi del pathway apoptotico attivato dal trattamento con NBDHEX ed è stato analizzato il meccanismo di morte cellulare indotto nella linea resistente al cisplatino U-2OS/CDDP4 μ g
- i gruppi di ricerca IOR- Scotlandi, ISS-Cianfriglia, e INT-Colombo, si sono integrati per quanto riguarda il targeting immunoterapeutico dell'antigene di membrana CD99. In particolare, si sono occupate della costruzione di una libreria fagica anticorpale di tipo naive per l'isolamento di immunoglobuline monoclonali a pre-determinata specificità in forma di scFv da utilizzare per la terapia dei tumori. Inoltre è stato clonato l'omologo murino del gene umano CD99 nel plasmide pcDNA3 sotto il controllo del promotore costitutivo del citomegalovirus (CMV)
- il gruppo di ricerca IST-Borsi ha analizzato l'efficacia della Gemcitabina usata come agente terapeutico singolo e in combinazione con L19mTNF α /melphalan su topi affetti da sarcoma. In particolare, è stata analizzata l'efficacia del trattamento con Gemcitabina da sola o in combinazione con L19mTNF α /melphalan su un numero cospicuo di animali Balb/C con fibrosarcoma WEHI-164 e osteosarcoma K7M2.

Le attività sperimentali svolte dai gruppi di ricerca UniParma-Perris e IOR-Benassi ed i relativi risultati ottenuti possono essere riassunte come segue:

- definizione del ruolo di NG2 come fattore predittivo indipendente nei sarcomi.
- analisi delle pathway molecolari associati all' alto potenziale metastatico delle cellule di sarcoma NG2-positivo e identificazione di specifici "endpoints" utili alla diagnosi/prognosi e come potenziali target molecolari
- ruolo del proteoglicano transmembrana NG2 nel controllo dell'interazione della cellula tumorale con il suo microambiente e nella regolazione della proliferazione cellulare durante il fenomeno di angiogenesi;
- caratterizzazione di anticorpi monoclonali prodotti contro l'NG2 per potenziale applicazione terapeutica;
- analisi della distribuzione di catene di eparan solfato con insolita composizione in tessuti umani mediante un nuovo anticorpo monoclonale con potenziali terapeutiche;
- ruolo dei glypicans-5 e -6 e approcci nella definizione del pattern proteoglicanico di membrana associato alla formazione di metastasi.

Articolazione del progetto

L'articolazione del progetto è descritta nella Tabella 1.

Tabella 1. Articolazione del progetto Sviluppo di nuove terapie nei sarcomi muscoloscheletrici: immunoterapia e target terapia a confronto

Proponente (Cordinatore del progetto)	Unità Operativa (UO) (ente di appartenenza: responsabile)	Gruppi di ricerca afferenti	Responsabile scientifico del gruppo	
IOR (Piero Picci)	UO1 (IOR: Piero Picci)	IOR	Katia Scotland	
		IOR	Massimo Serra	
		INT	Mario Colombo	
		Centro di Biotecnologie Avanzate (CBA), Genova	Luciano Zardi	
		ISTGE	Laura Borsi	
		ISS	Maurizio Cianfriglia	
		Università "Tor Vergata" (Dipartimento di Scienze e Tecnologie Chimiche)	Anna Maria Caccuri	
		Università di Parma	Roberto Perris	
		UO2 (CRO: Roberto Perris)	IOR	Maria Serena Benassi

Pubblicazioni conseguite nell'ambito del progetto

Il progetto ha prodotto le seguenti pubblicazioni:

- Balza E, Carnemolla B, Mortara L, Castellani P, Soncini D, Accolla RS, Borsi L. Therapy-induced antitumor vaccination in neuroblastomas by the combined targeting of IL-2 and TNFalpha. *Int J Cancer* 2010;127:101-10.
- Balza E, Sassi F, Ventura E, Parodi A, Fossati S, Blalock W, Carnemolla B, Castellani P, Zardi L, Borsi L. A novel human fibronectin cryptic sequence unmasked by the insertion of the angiogenesis-associated extra type III domain B. *Int J Cancer* 2009;125(4):751-8.
- Benassi MS, Pazzaglia L, Chiechi A, Alberghini M, Conti A, Cattaruzza S., Wassermann B., Picci P., Perris R. NG2 expression predicts the metastasis formation in soft-tissue sarcoma patients. *J Orthop Res* 2009;27(1):135-40.
- Cattaruzza S, Nicolosi PA, Perris R. Proteoglycans in the control of tumor growth and metastasis formation. *Connect Tissue Res* 2008;49:225-229.
- Crescenzi M, Persano L, Esposito G, Zulato E, Borsi L, Balza E, Ruol A, Ancona E, Indraccolo S, Amadori A. Vandetanib improves anti-tumor effects of L19mTNF α in xenograft models of esophageal cancer. *Clin Cancer Res* 2010 Nov 24 (online prima della stampa)
- Federici L, Lo Sterzo C, Pezzola S, Di Matteo A, Scaloni F, Federici G, Caccuri AM. Structural basis for the binding of the anticancer compound 6-(7-nitro-2,1,3-benzoxadiazol-4-ylthio)hexanol to human glutathione s-transferases. *Cancer Res* 2009;69(20):8025-34.
- Pasello M, Michelacci F, Scionti I, Hattinger CM, Zuntini M, Caccuri AM, Scotlandi V, Picci P, Serra M. Overcoming glutathione S-transferase P1-related cisplatin resistance in osteosarcoma. *Cancer Res* 2008;68:6661-8.
- Pazzaglia L, Chiechi A, Conti A, Gamberi G, Magagnoli G, Novello C, Morandi L, Picci P, Mercuri M and Benassi MS. Genetic and molecular alterations in rhabdomyosarcoma: mRNA overexpression of MCL1 and MAP2K4 genes. *Histol Histopathol* 2009;24:61-67.
- Pazzaglia L, Conti A, Chiechi A, Novello C, Magagnoli G, Astolfi A, Pession A, Krenacs T, Alberghini M, Picci P, Benassi MS. Differential gene expression in classic giant cell tumours of bone: Tenascin C as biological risk factor for local relapses and metastases. *Histopathology*

2010;57:59-72.

10. Scotlandi K, Remondini D, Castellani G, Manara MC, Nardi F, Cantiani L, Francesconi M, Mercuri M, Caccuri AM, Serra M, Knuutila S, Picci P. Overcoming Resistance to Conventional Drugs in Ewing Sarcoma and Identification of Molecular Predictors of Outcome. *J Clin Oncol* 2009;27(13):2209-16.
11. Terrile M, Appolloni I, Calzolari F, Perris R, Tutucci E, Malatesta P. PDGF-B-driven gliomagenesis can occur in the absence of the proteoglycan NG2. *BMC Cancer* 2010;10:550.
12. Ventura E, Sassi F, Fossati S, Parodi A, Blalock W, Balza E, Castellani P, Borsi L, Carnemolla B, Zardi L. Use of uteroglobin for the engineering of polyvalent, polyspecific fusion proteins. *J Biol Chem* 2009;284(39):26646-54.
13. Ventura E, Sassi F, Parodi A, Balza E, Borsi L, Castellani P, Carnemolla B, Zardi L. Alternative splicing of the angiogenesis associated extra-domain B of fibronectin regulates the accessibility of the B-C loop of the type III repeat 8. *PLoS One* 2010;5:e9145.

Brevetti conseguiti nell'ambito del progetto

Generation of human single-chain fragment variable (scFv) antibody to the extracellular domain of the CD99 cell surface determinant specifically recognizing Ewing's sarcoma tumor cells. Il 50% parte ISS è rappresentata dai seguenti autori: Gellini M, Cianfriglia M, Ascione A, Flego M, Mallano A, Dupuis ML.

Gellini M, Ascione A, Flego M, Mallano A, Dupuis ML, Valeria D, Manara C, Scotlandi K, Picci P, Cianfriglia M. Frammento anticorpale della regione variabile a singola catena (dcFv) in grado di riconoscere e legare la proteina umana CD99. Deposito di domanda N°: MI2009A0011994.

TERAPIE BIOLOGICHE COMBinate E PERSONALIZZATE NEI TUMORI SOLIDI: STUDI DI FASE I-II

Giorgio Parmiani
Fondazione Centro San Raffaele del Monte Tabor, Milano

Riassunto del Progetto

Il progetto ha come obiettivo di programmare nuovi studi clinici traslazionali di fase I-II di combinazione di farmaci e approcci immuno-biologici in pazienti con tumori solidi. Sono stati proposti tre possibili studi di combinazione: a) vaccino peptidico e l'agente anti-vascolare (NGR-hTNF) nel melanoma; b) vaccino peptidico e alte dosi di IFN- α in pazienti con melanoma metastatico; c) vaccinazione con cellule di tumore autologo e IFN- α nel melanoma. È stato anche programmato uno studio pilota di radio-chemioterapia in pazienti con carcinoma squamoso della testa/collo per una futura combinazione con un agente biologico. Inoltre molte UO coinvolte dovevano condurre studi pre-clinici sui meccanismi alla base dell'attività dei farmaci biologici utilizzabili come singoli agenti o come combinazione negli studi clinici. Tra questi sono compresi alcuni agenti terapeutici a bersaglio vascolare che aumentano la capacità di linfociti (attivati dalla vaccinazione o infusi come immunoterapia adottiva) di extravasare nelle lesioni neoplastiche, nuovi antigeni tumorali da utilizzare nei futuri protocolli, particolarmente gli antigeni universali (es. survivina, telomerasi o hTERT), i meccanismi di evasione immunologica e inibizione della risposta immune da parte delle cellule soppressive (Treg, mieloidi) e i fattori capaci di bloccare tale attività. È stato anche affrontato il meccanismo di ipometilazione del DNA per capire quanto sia modulabile *in vivo* dalla somministrazione di farmaci noti (es. 5-AZA) inducendo la espressione di nuovi antigeni tumorali che potrebbero incrementare la risposta immune ai tumori. Anche cellule dell'immunità innata note per modulare la risposta immune e infiammatoria nel microambiente tumorale quali i macrofagi verranno studiate nel sangue di pazienti sottoposti a terapie biologiche così come verranno monitorate molecole innovative quali pentassina (PTX3) e livelli di decoy receptor di IL-1. Il progetto ACC 3 ha anche lo scopo di identificare biomarcatori genetici tumorali predittivi delle risposta biologica e clinica e polimorfismi (SNP) di geni codificanti per citochine e altre molecole di interesse immunologico dei pazienti nei protocolli proposti attraverso una strategia basata sui microarrays.

Stato generale di sviluppo del progetto e conseguimento dei risultati

Al terzo anno di attività il progetto registra ottimi risultati documentati dalle pubblicazioni e dalla attivazione di protocolli clinici e alcuni ritardi soprattutto dovuti a fattori di tipo regolatorio nel caso della programmazione di studi clinici. Infatti è attivo e in fase di reclutamento il protocollo proposto dalla Unità Operativa 1 (Gruppo di Ricerca G. Parmiani, San Raffaele) di combinazione tra farmaco anti-vascolare NGR-hTNF e vaccino basato su

peptidi di antigeni tumore-specifici del melanoma (MAGE-3, A1 o NA17.A2) riconosciuti dai linfociti T di pazienti rispettivamente HLA-A1 o HLA-A2. Coordinato dal Gruppo di Ricerca Parmiai (UO1) è in corso anche il monitoraggio immunologico e di fattori pro o anti-vascolari rilasciati nel sangue durante il trattamento dei pazienti. Invece è in fase finale la scrittura del protocollo originariamente di combinazione tra IFN- α ad alte dosi con vaccino peptidico che, visti gli sviluppi dei nuovi farmaci anti-melanoma (es. anti-BRAF mutato o anticorpi anti-CTLA4), è stato però modificato per rimpiazzare IFN con l'anticorpo anti-CTLA4.

Il protocollo proposto dalla Unità Operativa 2 (IST, Genova) di vaccinazione con cellule di melanoma autologo e combinazione con IFN- α è progredito nella preparazione e convalida del vaccino nei laboratori GMP del gruppo che sono stati verificati per molti aspetti regolatori mentre il personale addetto ha frequentato corsi specifici. Il protocollo dovrebbe quindi essere attivato a breve termine.

Sono anche proseguiti gli studi pre-clinici *in vitro* e in modelli animali sui meccanismi dei singoli agenti immuno-biologici e delle loro combinazioni. Nella UO1 il gruppo di Corti/Bellone ha dimostrato nel topo che la somministrazione dell'agente anti-vascolare NGR-TNF aumenta l'espressione di ICAM-1, il rilascio di citochine e l'infiltrazione nella massa neoplastica di linfociti tumore-specifici generati dalla vaccinazione o infusi come immunoterapia adottiva subito dopo la somministrazione di NGR-TNF. Una nuova proteina, la cromogranina A, è stata identificata nel sangue dei pazienti trattati con NGR-hTNF dove viene spontaneamente rilasciata; è stato visto che il suo aumento può incrementare la reazione antitumorale con regressione o ritardi della crescita neoplastica.

Nella ricerca di antigeni tumorali della nuova categoria degli antigeni universali riconosciuti dai linfociti T e potenzialmente utilizzabili per studi clinici nei tumori umani, il gruppo di Dellabona/Protti (UO1) ha identificato gli epitopi più immunogenici derivanti dalla survivina riconoscibili sia dai linfociti T CD8+ sia CD4+. L'altro antigene universale analizzato, telomerasi o hTERT, da parte del Gruppo di Ricerca Zanovello (UO3, IOV) ha dato risultati analoghi.

Il Gruppo di Ricerca Rivoltini (INT, Milano; UO1) ha esaminato il ruolo delle cellule immunosoppressive nei pazienti con melanoma o carcinoma della prostata trattati con basse dosi di ciclofosfamide che però non si è dimostrata capace di ridurre la frequenza di linfociti T regolatori nel sangue dei pazienti. La UO3 (Zanovello) ha anche studiato le cellule immunosoppressive e ha sviluppato una nuova strategia di studio del fenotipo e funzione delle cellule mieloidi soppressive generandole *in vitro* a partire dalle cellule del midollo osseo nel topo e nell'uomo. Una particolare miscela di citochine (GM-CSF, o G-CSF e IL-6) è stata identificata come capace di far emergere la funzione immunosoppressiva di queste cellule aprendo la prospettiva di una loro ipomodulazione/inibizione *in vitro* e *in vivo*.

Anche la ricerca sulla modulazione *in vivo* della metilazione DNA che consenta di attivare l'espressione di antigeni tumorali immunogenici si è arricchita di nuovi dati grazie al lavoro del Gruppo di Ricerca di Maio (Siena; UO1). Sono stati così indotti antigeni cancer/testis (es. NY-ESO1) in linee di melanoma umane, alcune delle quali con fenotipo di staminalità, o nel topo con trattamento con 5-AZA, un farmaco ipometilante. Questi studi possono aprire nuove strategie per una immunizzazione *in vivo* indiretta ma spontanea in pazienti con melanoma. È iniziata anche l'analisi di espressione genica con microarray di campioni di melanoma e di analisi dei polimorfismi di geni coinvolti nella risposta immune in pazienti trattati con una combinazione di vaccino e chemioterapia (UO1; Gruppo Ferrantini/Proietti, ISS). Altri possibili marcatori molecolari di infiammazione e immunità innata sono stati identificati dal Gruppo di Ricerca di Garlanda (UO1; HUMANITAS, Milano) in molecola pro-infiammatorie quali la Pentassina plasmatica che viene ora misurata in pazienti in trattamento con farmaci biologici.

Nel complesso riteniamo che, grazie anche alla proroga di un anno concessa per terminare questo progetto, sarà possibile raggiungere gli obiettivi proposti sia a livello di studi clinici di combinazione sia a livello dei diversi studi pre-clinici di analisi dei meccanismi di attività degli agenti terapeutici biologici che consentiranno un ulteriore progresso delle conoscenze e dunque il disegno di nuovi protocolli clinici personalizzati.

Articolazione del progetto

L'articolazione del progetto è descritta nella Tabella 1.

Tabella 1. Articolazione del progetto Terapie biologiche combinate e personalizzate nei tumori solidi: studi di fase I-II

Proponente (Coodinatore del progetto)	Unità Operativa (UO) (ente di appartenenza: responsabile)	Gruppi di ricerca afferenti	Responsabile scientifico del gruppo
HSR (Giorgio Parmiani)	UO1 (HSR: Giorgio Parmiani)	HSR	Giorgio Parmiani
		HSR	Ferruccio Fazio
		HSR	Angelo Corti
		HSR	Paolo Dellabona
		INT	Licia Rivoltini
	UO2 (ISTGE: Paola Queirolo)	Azienda Ospedaliera Universitaria Senese, Siena	Michele Maio
		ISS	Maria Ferrantini
		Humanitas	Cecilia Garlanda
		ISTGE	Paola Queirolo
		ISTGE	Paolo Bruzzi
	UO3 (IOV: Paola Zanovello)	ISTGE	Silvano Ferrini
		IOV	Paola Zanovello
		IOV	Vanna Chiarion-Sileni
		Università di Padova	Carlo Riccardo Rossi

Pubblicazioni conseguite nell'ambito del progetto

Il progetto ha prodotto le seguenti pubblicazioni:

1. Bellone M, Mondino A, Corti A. Vascular targeting, chemotherapy and active immunotherapy: teaming up to attack cancer. *Trends Immunol* 2008;29:235-41.
2. Biswas SK, Mantovani A. Macrophage plasticity and interaction with lymphocyte subsets: cancer as a paradigm. *Nat Immunol* 2010;11:889-96.
3. Bobisse S, Rondina M, Merlo A et al. Reprogramming T lymphocytes for melanoma adoptive immunotherapy by T-cell receptor gene transfer with lentiviral vectors. *Cancer Res* 2009;69:9385-94.
4. Croce M, Corrias MV, Orengo AM et al. Transient depletion of CD4(+) T cells augments IL-21-based immunotherapy of disseminated neuroblastoma in syngeneic mice. *Int J Cancer* 2010;127:1141-50.
5. Croce M, Meazza R, Orengo AM et al. Immunotherapy of neuroblastoma by an Interleukin-21-secreting cell vaccine involves survivin as antigen. *Cancer Immunol Immunother* 2008;57:1625-34.

6. De Milito A, Canese R, Marino ML, et al. pH-dependent antitumor activity of proton pump inhibitors against human melanoma is mediated by inhibition of tumor acidity. *Int J Cancer* 2010;127:207-19
7. Erreni M, Solinas G, Brescia P et al. Human glioblastoma tumours and neural cancer stem cells express the chemokine CX3CL1 and its receptor CX3CR1. *Eur J Cancer* 2010;D46:3383-92
8. Fratta E, Sigalotti L, Colizzi F, Covre A, Nicolay HJ, Danielli R, Fonsatti E, Altomonte M, Calabrò L, Coral S, Maio M. Epigenetically regulated clonal heritability of CTA expression profiles in human melanoma. *J Cell Physiol* 2010;223:352-8.
9. Germano G, Frapolli R, Simone M, et al. Antitumor and anti-inflammatory effects of trabectedin on human myxoid liposarcoma cells. *Cancer Res* 2010;70:2235-44.
10. Huber V, De Milito A, Harguindey S, Reshkin SJ, Wahl ML, Rauch C, Chiesi A, Pouysségur J, Gatenby RA, Rivoltini L, Fais S. Proton dynamics in cancer. *J Transl Med* 2010;8:57.
11. Maccalli C, Scaramuzza S, Parmiani G. TNK cells (NKG2D⁺ CD8⁺ or CD4⁺ T-lymphocytes) in the control of human tumors. *Cancer Immunol Immunother* 2009;58:801-7.
12. Maio M, Nicolay HJ, Ascierto PA, Belardelli F, Camerini R, Colombo MP, Queirolo P, Ridolfi R, Russo V, Fonsatti E, Parmiani G; NIBIT. Seventh annual meeting of the Italian Network for Tumor Biotherapy (NIBIT), Siena, 1-3 October 2009. *Cancer Immunol Immunother* 2010;59:1895-901.
13. Mantovani A, Garlanda C, Allavena P. Molecular pathways and targets in cancer-related inflammation. *Ann Med* 2010;42:161-70.
14. Marchesi F, Locatelli M, Solinas G, et al. Role of CX3CR1/CX3CL1 axis in primary and secondary involvement of the nervous system by cancer. *J Neuroimmunol* 2010;224:39-44.
15. Marigo I, Bosio E, Solito S, et al. Tumor-induced tolerance and immune suppression depend on the C/EBPbeta transcription factor. *Immunity* 2010;32:790-802.
16. Mennuni C, Ugel S, Mori F, Cipriani B, Iezzi M, Pannellini T, Lazzaro D, Ciliberto G, La Monica N, Zanovello P, Bronte V, Scarselli E. Preventive vaccination with telomerase controls tumor growth in genetically engineered and carcinogen-induced mouse models of cancer. *Cancer Res* 2008;68(23):9865-74.
17. Nicolay HJM, et al. Epigenetically regulated tumor-associated antigens in melanoma *Exp Rev Dermatol* 2009;4:145-154.
18. Peranzoni E, Zilio S, Marigo I, et al. Myeloid-derived suppressor cell heterogeneity and subset definition. *Curr Opin Immunol* 2010;22:238-44.
19. Pilla L, Rivoltini L, Patuzzo R, Marrari A, Valdagni R, Parmiani G. Multipeptide vaccination in cancer patients. *Expert Opin Biol Ther* 2009;9:1043-55.
20. Rivoltini L, Mazzaferro V. Exploiting liver immunity for the prevention of hepatic metastases. *J Hepatol* 2010;53:596-8.
21. Sigalotti L, Covre A, Nicolay HJ, Coral S, Maio M. Cancer testis antigens and melanoma stem cells: new promises for therapeutic intervention. *Cancer Immunol Immunother* 2010;59:487-8.
22. Sigalotti L, et al. Epigenetics of human cutaneous melanoma: setting the stage for new therapeutic strategies. *J Transl Med* 2010;8:56.
23. Ugel S, Scarselli E, Iezzi M et al. Autoimmune B cell lymphopenia following successful adoptive therapy with telomerase-specific T lymphocytes. *Blood* 2009;115:1374-84.

NUOVE MOLECOLE E PEPTIDI QUALI FARMACI REGOLATORI DEL CICLO CELLULARE E DELLA RISPOSTA A CHEMIOTERAPICI NEI TUMORI EPITELIALI E CUTANEI

Gerry Melino

Laboratorio di Biochimica, Istituto Dermatologico dell'Immacolata IRCCS, Roma

Riassunto del progetto

I membri della famiglia genica di p53, p63, p73 e lo stesso p53, regolano diversi processi biologici, come la progressione del ciclo cellulare, senescenza e apoptosi. Analogamente a p53, p63 e p73 sono coinvolti nello sviluppo di neoplasie e diversi tumori umani, in particolare i tumori epiteliali, mostrano deregolazione dell'espressione di p63 e p73. Mentre p53 è degradato dalla E3 ubiquitina ligasi Mdm2, la degradazione proteica di p63/p73 è regolata da Itch, una E3 ubiquitina ligasi contenente HECT ed appartenente alla famiglia di Nedd4. Oltre a p63/p73, Itch reprime la via di Hedgehog e dei suoi trasduttori (proteine Gli), la cui attivazione è frequentemente responsabile dell'insorgenza di tumori neuroectodermici. Inoltre, l'inibizione dell'espressione di Itch aumenta l'effetto citotossico di diversi agenti chemioterapici in linee tumorali umane. Itch rappresenta quindi un candidato ideale per la terapia oncologica, ed inibitori chimici di questa E3 ubiquitina ligasi potrebbero rappresentare una terapia innovativa nella modulazione della risposta apoptotica. Oltre ad usare Itch come target farmacologico diretto, è possibile ipotizzare un'azione sinergica con altre molecole che regolano punti diversi della stessa via: cicline-chinasi dipendenti (CDK) e regolatori di IKK/NF- κ B. Nelle cellule tumorali si riscontra quasi costantemente un'aumentata attività delle CDKs e una modulazione negativa della loro attività/espressione può determinare inibizione della crescita tumorale *in vitro* ed in modelli animali. Analogamente, la proteina-chinasi B-Raf (RaLP) regola proliferazione e sopravvivenza cellulare, promuovendo la tumorigenesi, e IKK/NF- κ B è costitutivamente attivata nei tumori, dove NF- κ B causa resistenza all'apoptosi da farmaci antitumorali.

L'obiettivo principale di questo progetto è quello di sviluppare nuove molecole inibitori della E3-ubiquitina-ligasi Itch e di validare tali molecole nella via p63/p73 e nella via Hedgehog/Gli. Inoltre, valuteremo il potenziale terapeutico di peptidi capaci di disassemblare complessi proteici (mp53/p73) ad attività oncogenica, e studieremo il potenziale terapeutico di inibitori selettivi di NF- κ B/IKK e di CDKs, come singoli agenti ed in associazione con gli inibitori di Itch e chemioterapici convenzionali. Analizzeremo l'espressione della proteina chinasi RaLP nei melanomi e caratterizzeremo la trasduzione del segnale da essa attivata.

I risultati ottenuti da questi studi permetteranno l'identificazione di nuovi bersagli molecolari (Itch) su nuove vie (p63/p73/Hedgehog/Gli) con nuove specifiche molecole (da noi identificate) ad attività anti-tumorale. La valutazione anche in modelli animali del sinergismo (CDK2/B-Raf/IKK/NF- κ B) di queste nuove molecole contribuirà al miglioramento delle terapie chemioterapiche classiche nei tumori epiteliali oggi resistenti ai farmaci.

Stato generale di sviluppo del progetto e conseguimento dei risultati

Vengono di seguito descritte le attività delle singole UO afferenti al progetto:

– *UO1 (IDI: Gerry Melino)*

L'UO1 ha esteso ed approfondito i suoi studi sull'attività dei fattori di trascrizione p63 e p53 e sul loro ruolo in processi fisiologici (differenziamento neuronale ed epiteliale) e in processi patologici (neoplasie epiteliali). In dettaglio, abbiamo dimostrato che in assenza dell'attività di NF-kappaB la regolazione dell'espressione genica del fattore pro-apoptotico Bim-EL è mediata da TAp73. Tale meccanismo è fondamentale nella regolazione della morte cellulare sia in linfociti primari sia in linee di linfomi umani. Inoltre, abbiamo dimostrato che p73 e p63 sono in grado di regolare l'espressione di FGF3, un membro della famiglia dei recettori del fattore di crescita FGF, la cui azione biologica è importante sia nello sviluppo di processi neoplastici che in alcune patologie a carico del tessuto muscolare.

Per quanto riguarda i meccanismi regolativi dell'espressione dei geni della famiglia di p53 abbiamo identificato una nuova E3 ubiquitina ligasi capace di legare, ubiquitinare e regolare la degradazione proteica dell'isoforma oncogenica di p73, DNp73, ma non dell'isoforma TAP73. Tale meccanismo di degradazione selettiva regola la risposta apoptotica indotta da diversi agenti chemioterapici in cellule tumorali. Per quanto riguarda l'identificazione di nuove vie potenzialmente importanti nel modulare la risposta apoptotica indotta da trattamenti chemioterapici, abbiamo dimostrato che inibitori delle deacetilasi istoniche, in particolare TSA e LBH589, inducono l'espressione di TAp63 in alcune linee di cellule tumorali, favorendo quindi la risposta apoptotica mediata da questi inibitori.

– *UO2 (IRE: Giovanni Blandino)*

L'UO2 ha focalizzato i suoi studi su piccole molecole peptidiche chiamate SIMP (Short-interfering mutant p53 peptides), la cui sequenza amminoacidica ricapitola la maggior parte della sequenza del dominio di legame al DNA della proteina p73. Tali peptidi sono in grado di disassemblare i complessi proteici oncogenici m-p53/p73 presenti in cellule tumorali a p53 mutata. In particolare il peptide SIMP1 è in grado di rompere i complessi m-p53/p73 in cellule tumorali portatrici della mutazione p53His-273. Il trapianto in topi nudi di cellule tumorali trasdotte con i peptidi SIMP1 e SIMP1M evidenziava una drastica riduzione del calibro dei tumori rispetto ai gruppi di controllo SIMP1KO o SIMP5M.

Riguardo alla caratterizzazione del ruolo di RaLP nella differenziamento e nello sviluppo, abbiamo creato un modello murino RaLP knockout (KO). Dati iniziali sulle cellule staminali neurali (*Neural Stem Cell*, NSC) adulte derivate da questi topi hanno suggerito che, in queste cellule, RaLP è coinvolto nella differenziazione precoce oppure nella determinazione del destino cellulare (commitment), ma non nella maturazione di neuroni. Abbiamo, dunque, analizzato la differenziazione delle cellule staminali embrionali (ES) derivate dai topi RaLP KO o eterozigoti in NSC. Abbiamo trovato che RaLP è sovraespresso durante le prime fasi della differenziazione delle cellule ES, quando l'ectoderma (dal quale derivano le NSCs) viene formato. Inoltre, Sox1, un importante fattore nella specificazione e nel mantenimento del neuroectoderma, non è sovraespresso nelle cellule ES KO. Questi dati indicano che RaLP gioca un ruolo specifico nella formazione del neuroectoderma.

Il gruppo coordinato da Maria Grazia Santoro ha dimostrato che in cellule di melanoma chemioresistenti i prostanoidi ciclopentenonici (CyPG) naturali e sintetici agiscono ad un duplice livello, da una parte inibendo l'attività costitutiva del fattore NF-kB e dall'altra causando l'attivazione prolungata (fino a 24 ore) della chinasi JNK1. È stato dimostrato un ruolo chiave della proteina XIAP nel controllo della sopravvivenza di cellule di melanoma. In seguito all'esposizione ai CyPG è stata infatti osservata una rapida deplezione di XIAP seguita dall'attivazione del processo apoptotico caspasi-dipendente, mentre la sovraespressione della proteina, si è rivelata in grado di contrastare l'attività pro-apoptotica dei CyPG. La caratterizzazione del ruolo del fattore HSF1 nella sopravvivenza cellulare ha portato lo scorso anno alla scoperta di un nuovo gene 'heat shock' di tipo canonico, il gene AIRAP. Abbiamo ora dimostrato che i CyPG sono potenti induttori dell'espressione di AIRAP in cellule tumorali ed in cellule endoteliali umane.

– *UO3 (IDI: Stefania D'Atri)*

L'UO3 ha caratterizzato alcuni geni (es. *PDCD4*, *DDIT4*, *SESN2*, *PTTG1*, *BIRC5*, *CDC25A*) la cui espressione è modulata dal trattamento con CDK2-I. Nella linea GL-Mel, l'analisi mostra una diminuzione d'espressione di *PTTG1*, *CDC25A* e survivina (codificata da *BIRC5*) e un aumento d'espressione di *DDIT4*, *PDCD4*, and sestrina 2 (codificata da *SESN2*). Nella linea M10, l'esposizione a CDK2-I ha ugualmente indotto un aumento di *DDIT4* e sestrina 2, ed una diminuzione di *CDC25A*, mentre non ha modificato l'espressione di *PDCD4*, *PTTG1*, e survivina, suggerendo che la modulazione di tali geni può contribuire all'attività antitumorale del CDK2-I. Gli studi successivi sono stati focalizzati sul gene *PTTG1*. Il prodotto proteico di *PTTG1*, anche noto come securina, è coinvolto in numerosi processi biologici, quali progressione del ciclo cellulare, apoptosi, migrazione ed invasione, riparo del DNA, angiogenesi. Al fine di stabilire se la modulazione negativa di *PTTG1* contribuisce agli effetti anti-proliferativi di CDK2-I, cellule della linea GL-Mel ed M10 sono state trasfettate con uno siRNA diretto verso *PTTG1* (siPTTG1). I risultati ottenuti hanno dimostrato che nella linea GL-Mel, nella quale il trattamento con CDK2-I induce di per se una inibizione dell'espressione di securina già dopo 24 h, la trasfezione con siPTTG1 non modificava la sensibilità al CDK2-I. Nella linea M10, nella quale il trattamento con CDK2-I non determina una riduzione dei livelli di securina, la trasfezione con siPTTG1 aumentava di circa 2 volte la sensibilità al CDK2-I.

Un'altra linea di ricerca dell'UO3 è rivolta allo studio dei meccanismi attraverso i quali le proteine Numb ed Itch, governano il pathway di Gli1/Hedgehog. A tal proposito sono stati identificati i domini di interazione molecolare e funzionale di Numb ed Itch con Gli1, dimostrando che le tre proteine formano un complesso. Numb ha il ruolo di attivare Itch, liberandolo da una conformazione autoinibitoria. Questo processo è mediato da una nuova degran, Itch-dependent, costituita da una combinazione di due PPXY ed un motivo pSP.

Lo screening, attualmente in corso, di molecole naturali recentemente isolate, consentirà di identificare nuovi composti in grado di modulare l'attività di questi due importanti regolatori del signaling di Hedgehog, Numb ed Itch.

Inoltre, la caratterizzazione del meccanismo di inibizione di Gli1 mediato da REN, ha portato ad identificare REN come una nuova Cul3 E3 ligasi, che mediando l'ubiquitinazione e degradazione della deacetilasi HDAC1, inibisce il signaling di Hedgehog e lo sviluppo di medulloblastoma.

Articolazione del progetto

L'articolazione del progetto è descritta nella Tabella 1.

Tabella 1. Articolazione del progetto Nuove molecole e peptidi quali farmaci regolatori del ciclo cellulare e della risposta a chemioterapici nei tumori epiteliali e cutanei

Proponente (Coordinatore del progetto)	Unità Operativa (UO) (ente di appartenenza: responsabile)	Gruppi di ricerca afferenti	Responsabile scientifico del gruppo
IDI (Gerry Melino)	UO1 (IDI: Gerry Melino)	IDI	Gerry Melino
		Università Tor Vergata	Eleonora Candi
	UO2 (IRE: Giovanni Blandino)	IRE	Giovanni Blandino
		Università Tor Vergata	Maria Grazia Santoro
	UO3 (IDI: Stefania D'Atri)	IEO	Luisa Iannaccone
		IDI	Stefania D'Atri
		ISTGE	Ulrich Pfeffer
		CNR	Ester Alvino

Pubblicazioni conseguite nell'ambito del progetto

Il progetto ha prodotto le seguenti pubblicazioni:

1. Agostini M, Tucci P, Chen H, Knight RA, Bano D, Nicotera P, McKeon F, Melino G. p73 regulates maintenance of neural stem cell. *Biochem Biophys Res Commun* 2010;403:13-7.
2. Belardo G, Piva R, Santoro MG. Heat stress triggers apoptosis by impairing NF- κ B survival signalling in malignant B cells. *Leukemia* 2010;24:187-96.
3. Bellomaria A, Barbato G, Melino G, Paci M, Melino S. Recognition of p63 by the E3 ligase ITCH: Effect of an ectodermal dysplasia mutant. *Cell Cycle* 2010;9:3730-9.
4. Bernassola F, Karin M, Ciechanover A, Melino G. The HECT family of E3 ubiquitin ligases: multiple players in cancer development. *Cancer Cell* 2008;14:10-21.
5. Bongiorno-Borbone L, De Cola A, Barcaroli D, Knight RA, Di Ilio C, Melino G, De Laurenzi V. FLASH degradation in response to UV-C results in histone locus bodies disruption and cell-cycle arrest. *Oncogene* 2010;29:802-10.
6. Busuttill V, Droin N, McCormick L, Bernassola F, Candi E, Melino G, Green DR. NF- κ B inhibits T-cell activation-induced, p73-dependent cell death by induction of MDM2. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107:18061-6.
7. Canettieri G, Di Marcotullio L, Greco A, Coni S, Antonucci L, Infante P, Pietrosanti L, De Smaele E, Ferretti E, Miele E, Pelloni M, De Simone G, Pedone EM, Gallinari P, Giorgi A, Steinkühler C, Vitagliano L, Pedone C, Schinin ME, Screpanti I, Gulino A. Histone deacetylase and Cullin3-REN(KCTD11) ubiquitin ligase interplay regulates Hedgehog signalling through Gli acetylation. *Nat Cell Biol* 2010;12:132-42.
8. Caporali S, Alvino E, Starace G, Ciomei M, Brasca MG, Levati L, Garbin A, Castiglia D, Covaciu C, Bonmassar E, D'Atri S. The cyclin-dependent kinase inhibitor PHA-848125 suppresses the *in vitro* growth of melanomas sensitive or resistant to temozolomide and shows synergistic effects in combination with this triazene compound. *Pharmacol Res* 2010;61:437-48.

9. Careccia S, Mainardi S, Pelosi A, Gurtner A, Diverio D, Riccioni R, Testa U, Pelosi E, Piaggio G, Sacchi A, Lavorgna S, Lo-Coco F, Blandino G, Levrero M, Rizzo MG. A restricted signature of miRNAs distinguishes APL blasts from normal promyelocytes. *Oncogene* 2009;28(45):4034-40.
10. Ciuffini L, Belardo G, Angelini M, Santoro MG. 15-Deoxy-Delta(12,14)-prostaglandin J2 triggers apoptosis in human melanoma cells by impairing NF-kB survival signaling: role of the Jun-N-terminal kinase. Manoscritto in preparazione.
11. Di Agostino S, Cortese G, Monti O, Dell'orso S, Sacchi A, Eisenstein M, *et al.* The disruption of the protein complex mutantp53/p73 increases selectively the response of tumor cells to anticancer drugs. *Cell Cycle* 2008;7(21):3440-7.
12. Di Agostino S, Dell'Orso S, Cortese G, Eisenstein M, Citro G, Strano S, Blandino G. SIMP1 impairs *in vivo* tumor growth and response to anticancer agents of mutant p53 tumors. Manoscritto in preparazione.
13. Di Marcotullio L, Greco A, Mazzà D, Canettieri G, Pietrosanti L, Infante P, Coni S, Moretti M, De Smaele E, Ferretti E, Screpanti I, Gulino A. Numb activates the E3 ligase Itch to control Gli1 function through a novel degradation signal. *Oncogene* 2011;30:65-76.
14. Enzler T, Chang X, Facchinetti V, Melino G, Karin M, Su B, *et al.* MEKK1 binds HECT E3 ligase Itch by its amino-terminal RING motif to regulate Th2 cytokine gene expression. *J Immunol* 2009;183:3831-8.
15. Ferretti E, De Smaele E, Miele E, Laneve P, Po A, Pelloni M, *et al.* Concerted microRNA control of Hedgehog signalling in cerebellar neuronal progenitor and tumour cells. *EMBO J* 2008;27:2616-27.
16. Ferretti E, De Smaele E, Po A, Di Marcotullio L, Tosi E, Espinola MSB, *et al.* microRNA profiling in human medulloblastoma. *Int J Cancer* 2009;124(3):568-77.
17. Fontemaggi G, Dell'Orso S, Trisciuglio D, Shay T, Melucci E, Fazi F, Terrenato I, Mottolese M, Muti P, Domany E, Del Bufalo D, Strano S, Blandino G. The execution of the transcriptional axis mutant p53, E2F1 and ID4 promotes tumor neo-angiogenesis. *Nat Struct Mol Biol* 2009;16(10):1086-93.
18. Gagiannis S, Muller M, Uhlemann S, Koch A, Melino G, Krammer PH, *et al.* Parathyroid hormone-related protein confers chemoresistance by blocking apoptosis signaling via death receptors and mitochondria. *Int J Cancer* 2009;125:1551-7.
19. Gonfloni S, Di Tella L, Caldarola S, Cannata SM, Klinger FG, Di Bartolomeo C, *et al.* Inhibition of the c-Abl-TAP63 pathway protects mouse oocytes from chemotherapy-induced death. *Nat Med* 2009;15:1179-85.
20. Gulino A, Di Marcotullio L, Screpanti I. The multiple functions of Numb. *Exp Cell Res* 2010;316:900-6.
21. Hansen TM, Rossi M, Roperch JP, Ansell K, Simpson K, Taylor D, *et al.* Itch inhibition regulates chemosensitivity *in vitro*. *Biochem Biophys Res Commun* 2007;361:33-6.
22. Klanrit P, Taebunpakul P, Flinterman MB, Odell EW, Riaz MA, Melino G, *et al.* PML involvement in the p73-mediated E1A-induced suppression of EGFR and induction of apoptosis in head and neck cancers. *Oncogene* 2009;28:3499-512.
23. Lena AM, Cipollone R, Amelio I, Catani MV, Ramadan S, Browne G, Melino G, Candi E. Skn-1a/Oct-11 and Δ Np63 α exert antagonizing effects on human keratin expression. *Biochem Biophys Res Commun* 2010;401:568-73.
24. Melino G, Gallagher E, Aqeilan RI, Knight R, Peschiaroli A, Rossi M, *et al.* Itch: a HECT-type E3 ligase regulating immunity, skin and cancer. *Cell Death Differ* 2008;15:1103-12.
25. Peschiaroli A, Scialpi F, Bernassola F, Pagano M, Melino G. The F-box protein FBXO45 promotes the proteasome-dependent degradation of p73. *Oncogene* 2009;28:3157-66.

26. Peschiaroli A, Skaar J, Pagano M, Melino G. The ubiquitin-specific protease USP47 is a novel beta-TRCP regulating cell survival. *Oncogene* 2010;29:1384-93.
27. Piva R, Ciucci A, Ferreri C, Belardo G, Evans P, Roberts SM, Santoro MG. Antitumoral activity of novel prostanoid mimetics targeting the NF-kB pathway. Manoscritto in preparazione.
28. Pockley AG, Calderwood SK, Santoro MG. *Prokaryotic and eukaryotic heat shock proteins in infectious disease*. New York: Springer-Verlag; 2009.
29. Raimondo D, Giorgetti A, Bernassola F, Melino G, Tramontano A. Modelling and molecular dynamics of the interaction between the E3 ubiquitin ligase Itch and the E2 UbcH7. *Biochem Pharmacol* 2008;76(11):1620-7.
30. Rivetti di Val Cervo P, Tucci P, Majid A, Lena MA, Agostini M, Bernardini S, *et al.* p73, miR106b, miR34a, and Itch in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2009;113:6498-9; author reply 6499-6500.
31. Rossi A, Santoro M.G. Differential regulation of human versus mouse HSP70 gene expression by cyclopentenone prostaglandin A1: role of HSF1 phosphorylation. Manoscritto in preparazione.
32. Rossi A, Trotta E, Brandi R, Arisi I, Coccia M, Santoro MG. AIRAP: a new human heat shock gene regulated by Heat Shock Factor 1. *J Biol Chem* 2010;285:13607-15.
33. Rossi M, Inoue S, Walewska R, Knight RA, Dyer MJ, Cohen GM, *et al.* Caspase cleavage of Itch in chronic lymphocytic leukemia cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2009a;379:659-64.
34. Rossi M, Munarriz ER, Bartesaghi S, Milanese M, Dinsdale D, Guerra-Martin MA, *et al.* Desmethylclomipramine induces the accumulation of autophagy markers by blocking autophagic flux. *J Cell Sci* 2009b;122:3330-9.
35. Santoro MG, Amici C, Rossi A. Role of heat shock proteins in viral infection. In: Pockley AG, *et al.* (Ed.). *Prokaryotic and eukaryotic heat shock proteins in infectious disease*. New York: Springer-Verlag; 2010. p. 51-84.
36. Sayan AE, D'Angelo B, Sayan BS, Tucci P, Cimini A, Cerù MP, Knight RA, Melino G. p73 and p63 regulate the expression of fibroblast growth factor receptor 3. *Biochem Biophys Res Commun* 2010;394:824-8.
37. Sayan BS, Yang AL, Conforti F, Bernardini S, Tucci P, Vasa-Nicotera M, Knight RA, Melino G. Induction of TAp63 by histone deacetylase inhibitors. *Biochem Biophys Res Commun* 2010;391:1748-51.
38. Sayan BS, Yang AL, Conforti F, Tucci P, Piro MC, Browne GJ, Agostini M, Bernardini S, Knight RA, Mak TW, Melino G. Differential control of TAp73 and DeltaNp73 protein stability by the ring finger ubiquitin ligase PIR2. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107:12877-82.
39. Schilling T, Schleithoff ES, Kairat A, Melino G, Stremmel W, Oren M, *et al.* Active transcription of the human FAS/CD95/TNFRSF6 gene involves the p53 family. *Biochem Biophys Res Commun* 2009;387:399-404.
40. Scialpi F, Malatesta M, Peschiaroli A, Rossi M, Melino G, Bernassola F. Itch self-polyubiquitylation occurs through lysine-63 linkages. *Biochem Pharmacol* 2008;76(11):1515-21.
41. Seitz SJ, Schleithoff ES, Koch A, Schuster A, Teufel A, Staib F, *et al.* Chemotherapy-induced apoptosis in hepatocellular carcinoma involves the p53 family and is mediated via the extrinsic and the intrinsic pathway. *Int J Cancer* 2010;126(9):2049-66).
42. Tomasini R, Tsuchihara K, Tsuda C, Lau SK, Wilhelm M, Ruffini A, *et al.* TAp73 regulates the spindle assembly checkpoint by modulating BubR1 activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106:797-802.
43. Vernole P, Neale MH, Barcaroli D, Munarriz E, Knight RA, Tomasini R, *et al.* TAp73alpha binds the kinetochore proteins Bub1 and Bub3 resulting in polyploidy. *Cell Cycle* 2009;8:421-9.

Presentazioni a Meeting nazionali e/o internazionali:

1. Caporali S, Alvino E, Starace G, Garbin A, Ciomei M, Brasca MG, Bonmassar E, and D'Atri S. Sensitivity of human melanoma cell lines to the cyclin-dependent kinase inhibitor PHA848125 alone or in combination with temozolomide. In: *51° Annual Meeting of the Italian Cancer Society*, Sesto San Giovanni (MI), 23-26 novembre 2009.
2. Caporali S, Alvino E, Pfeffer U, Esposito A, Ciomei M, Brasca MG, Bonmassar E, D'Atri S. Down-regulation of *PTTG1* contributes to PHA-848125-induced cell growth inhibition in melanoma. In: *52° Annual Meeting of the Italian Cancer Society*, Roma 4-7 ottobre 2010.

PROGRAMMA 4

**Promozione della collaborazione internazionale
con particolare riferimento a quella europea**

Coordinatori

Filippo Belardelli, Claudio Lombardo

INTRODUZIONE

Claudio Lombardo (a, b), Filippo Belardelli (c)

(a) *Rapporti Scientifici Internazionali, Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro, Genova*

(b) *Alleanza Contro il Cancro, Roma*

(c) *Dipartimento di Biologia Cellulare e Neuroscienze, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

Ben lontani da quel 3% tanto auspicato dalla Strategia di Lisbona, la ricerca italiana è costretta a fronteggiare un'emergenza straordinaria che deve fare i conti con un'economia in grave difficoltà ed un sistema imprenditoriale in affanno. Seppure esista la consapevolezza che la crescita economica e l'occupazione dipendano in larga misura dalla capacità di produrre conoscenza e trasformarla in innovazione, non si osservano ancora segnali tangibili che possano far sperare in un potenziamento degli investimenti in ricerca e sviluppo. Nell'attuale scenario nazionale ed internazionale, appare sempre più urgente che si sviluppino iniziative di reti tra le varie istituzioni e di infrastrutture adeguate, che possano permettere di condividere le migliori esperienze di ricerca, evitando inutili duplicazioni e frammentazioni e generando nuovi scenari di sinergismo tra i diversi attori, sia pubblici che privati, della ricerca. Ciò non può non essere percepito come cogente dai governi nazionali, chiamati a definire nuove strategie per l'ottimizzazione degli investimenti pubblici nella ricerca. È necessario mettere a punto strategie, anche organizzative, che possano comunque generare progetti di qualità e di interesse industriale. Parimenti, ed in particolare per ciò che riguarda la ricerca biomedica, è necessario sostenere la costruzione di infrastrutture che possano svolgere il compito di acceleratori del processo traslazionale al fine di offrire ai risultati di qualità di entrare nel circuito della tecnologia e della competitività

In tale processo risulterà fondamentale un approccio che possa favorire la riduzione della dispersione basato su una programmazione che esalti il merito anche tramite l'associazione tra politiche di ricerca nazionali e regionali con i programmi internazionali proprio nell'intento di moltiplicare il valore dell'investimento locale sia in termini economici che di risorse umane.

Il Programma 4 ha voluto rappresentare un'iniziativa ambiziosa che ha incluso un ampio spettro di attività, tutte tese a potenziare l'internazionalizzazione della ricerca oncologica nazionale, con particolare riferimento all'Europa. La strategia che stava alla base della nascita del Programma 4 non nasceva per sola intuizione dei suoi ideatori. In effetti in parallelo al lancio del Programma 4 era in corso uno studio di fattibilità commissionato alla *International Agency for Research on Cancer (IARC)* dalla Commissione Europea per evidenziare gli ostacoli che non consentivano la costruzione di un coordinamento efficace della ricerca oncologica europea. Contemporaneamente si stavano delineando i consorzi che avrebbero partecipato alla fase preparatoria delle grandi infrastrutture di ricerca europee e si cercava di capire come far confluire finanziamenti governativi in grandi reti di ricerca europee. Il potenziamento delle capacità di traslazione era comunque l'asse centrale di tutto un Programma che doveva quindi anche poter ruotare attorno ai cosiddetti grandi effettori della traslazione: i *comprehensive cancer centre*. Poter sostenere la Presidenza italiana al coordinamento della rete europea degli istituti del cancro (OECI - *Organisation of European Cancer Institutes*) era dunque un'azione fondamentale per garantire continuità all'azione di programmazione internazionale voluta da ACC.

Ma come era possibile sostenere le reti individuate nel Programma 2 nel loro processo di internazionalizzazione e nel contempo concordare una posizione italiana da difendere a livello internazionale per potenziare il trasferimento di competenze eccellenti verso programmi trans-

nazionali e aumentare l'attrattività dei nostri centri d'eccellenza? La risposta al quesito di cui sopra è emersa in tutta la sua logica dalla conoscenza della programmazione internazionale, dall'enorme lavoro di collegamento con gli stakeholder governativi e di ricerca di vari paesi europei, dall'opera di raccordo instaurata con gli enti nazionali di finanziamento della ricerca e da un grande spirito di appartenenza alla comunità scientifica nazionale. Il Programma 4 venne ipotizzato nel 2007 e la strategia che ne era alla base venne presentata durante la conferenza programmatica "Costruzione dell'Area Europea della Ricerca in biomedicina e contributo degli enti di ricerca del Servizio Sanitario Nazionale" svolta a Roma, Istituto Superiore di Sanità, il 25 giugno 2007.

Di seguito sono riportati brevemente gli obiettivi strategici del Programma 4:

- Sfruttare adeguatamente le opportunità fornite dai programmi internazionali.
- Definire una posizione congiunta a livello nazionale per la partecipazione ad iniziative finalizzate a rafforzare il coordinamento della ricerca sul cancro in Europa.
- Creare le condizioni adeguate per permettere la partecipazione della comunità scientifica del cancro nello sviluppo di grandi network e infrastrutture europee.
- Lanciare un dialogo nazionale e interagire con altri paesi europei per il lancio di *call* europee.
- Concepire un programma italiano condiviso in grado di supportare e caratterizzare la presidenza italiana dell'OECI per il 2008-2011.
- Ridurre la frammentazione nei finanziamenti con particolare riguardo a temi chiave across europee.
- Disegnare e supportare uno schema di mobilità in entrata e in uscita per il training attraverso la ricerca.

A tre anni dal lancio del Programma 4, pur senza entrare nel dettaglio dei risultati conseguiti e seppure sia ancora necessario un duro lavoro di collegamento con gli Enti nazionali deputati al sostegno anche politico delle iniziative che hanno già avuto un avallo nella programmazione comunitaria, crediamo di poter affermare che gli obiettivi raggiunti corrispondono in larga percentuale a quelli ipotizzati con largo anticipo nel 2007 ed il Paese svolge un ruolo centrale e riconosciuto in Europa nel coordinamento delle attività di ricerca traslazionale in oncologia.

Per la prima volta l'Italia coordina un ERANET del settore biomedico per la promozione di bandi in oncologia traslazionale e coordina una rete di formazione internazionale per l'assegnazione di borse di ricerca sempre in oncologia traslazionale. Tramite la Presidenza italiana all'OECI, l'Italia deve essere inclusa tra i principali fautori del lancio di una piattaforma europea di centri oncologici che, coadiuvati dall'OECI, hanno deciso di allearsi proprio per mettere in comune risorse economiche e scientifiche che accelerino il processo traslazionale.

Pur non evidenziando specifiche responsabilità, il Programma 4 ha anche reso evidenti alcuni aspetti di impreparazione istituzionale a sostenere lobby internazionali. Tali difficoltà dovrebbero indirizzare per il futuro alla costruzione di metodologie di intervento che, oltre a coinvolgere i ricercatori e le loro istituzioni, includa, sino dalle fasi di "studio", il necessario dialogo con gli enti governativi preposti al sostegno istituzionale presso gli uffici omologhi a livello internazionale. Tale approccio si è concretamente realizzato nell'ambito della partecipazione italiana alla *European Partnership for Action Against Cancer* ed ha consentito di conseguire il coordinamento di un Work-package prestigioso quale quello sull'informazione in oncologia riconoscendo all'Italia un ruolo trainante per le attività a sostegno del controllo del cancro, strategia fondamentale per la prevenzione e per l'orientamento degli interventi di ricerca e di sanità pubblica.

In conclusione possiamo affermare che il Programma 4 offre ai nostri ricercatori buone possibilità per competere su un mercato globale basato sul merito e, come precedentemente accennato, sulle capacità organizzative e di coordinamento. Tutto questo è stato reso possibile

grazie allo sforzo di tanti ricercatori che hanno creduto in un futuro dove la competizione ed il merito devono necessariamente prendere il posto di spartizioni basate su altri criteri.

La fase preparatoria è quasi conclusa, adesso è il momento che ricercatori, enti di ricerca ed istituzioni governative, si assumano le proprie responsabilità dimostrando la volontà a partecipare alla costruzione di un'area di ricerca europea in oncologia che non può sottrarsi da un investimento nazionale, anche di coordinamento, a garanzia della nostra permanenza sul mercato globale.

Oltre a sostenere lo sviluppo di progetti di portata internazionale al fine di realizzare una posizione Paese nelle politiche di ricerca e sviluppo del settore oncologico, ACC ha anche attivato interventi collaborativi con le organizzazioni oncologiche che operano a livello internazionale. Particolare attenzione è stata posta ad azioni che potessero dare maggiore risalto all'impegno del Paese nel controllo del cancro. In tale ottica si deve annoverare il supporto fornito da ACC alla realizzazione del "3rd International Cancer Control Congress" che si è svolto a Cernobbio (Co) dall'8 all'11 novembre 2009 con la partecipazione di delegati 47 paesi di tutto il mondo. Nel corso dell'incontro è stato dato risalto alla *World Cancer Declaration* dell'Unione Internazionale per il Controllo del Cancro (UICC) ed all'importanza che il problema cancro fosse inserito nell'agenda politica degli organismi internazionali quali le Nazioni Unite.

L'impegno di ACC è continuato nel 2010 e, assieme a FAVO, sono state poste le basi per potenziare il supporto italiano all'UICC per la realizzazione di una conferenza di alto livello delle Nazioni Unite che possa assicurare l'impegno dei Capi di Stato a dare una risposta globale e coordinata alla lotta alle malattie non trasmissibili tra le quali il cancro.

Il 13 maggio 2010 l'Assemblea Generale ONU ha approvato all'unanimità la Risoluzione 64/265 sulla prevenzione e il controllo delle malattie non trasmissibili (MNT), convocando per settembre 2011 un vertice ONU sulle MNT. In totale, 130 Stati hanno contribuito a sponsorizzare la risoluzione, dando un chiaro segnale di consapevolezza dell'urgenza di affrontare l'emergenza cancro e MNT.

La Riunione ONU rappresenta un evento senza precedenti che formalizza le MNT tra le questioni prioritarie che richiedono un intervento a livello globale. La conferenza di alto livello ha il potenziale per assicurare l'impegno dei Capi di Stato a dare una risposta globale e coordinata alla lotta alle MNT che includa anche una discussione sui finanziamenti a sostegno delle azioni ritenute necessarie. L'intervento auspicato consentirebbe di ridurre l'incidenza di casi di morte prematura salvando milioni di persone da gravi complicanze. Le principali Federazioni coinvolte nelle attività di coordinamento globale per MNT, - International Diabetes Federation (IDF), Union for International Cancer Control (UICC), World Heart Federation (WHF) e International Union for Tuberculosis and Lung Disease (IUTLD), con la costituzione dell'Alleanza contro le MNT (NCD Alliance, <http://www.ncdalliance.org>), hanno messo a punto un coordinamento per dare una risposta globale ai problemi relativi alle MNT.

La riunione di ACC del 9 e 10 febbraio, alla quale si riferisce questo volume, così come la V Giornata nazionale del malato oncologico che si realizza a Roma dal 13 al 16 maggio 2011, sono state formalmente riconosciute dall'UICC nell'ambito del programma internazionale del *World Cancer Day*.

Il *World Cancer Day* è organizzato il 4 febbraio di ogni anno ed è coordinato dall'UICC che opera tramite i suoi membri, in coordinamento con l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), con la finalità di aumentare la consapevolezza in materia di prevenzione del cancro a livello globale. L'OMS stima che sia possibile prevenire almeno il 30% dei casi di cancro e curarne un ulteriore 30%, se individuati in tempo. Tuttavia, la popolazione ha in generale una scarsa conoscenza sulla prevenzione del cancro o su come identificare i primi segnali di

malattia. Grazie alla Giornata mondiale contro il cancro gli esperti del settore si pongono l'obiettivo di accrescere la consapevolezza degli individui ed incoraggiarli a intraprendere delle semplici misure di prevenzione (www.worldcancerday.org).

Auspichiamo che il lavoro svolto da ACC nella fase preparatoria del Programma 4 svolta in associazione con ISS, venga valutato con serenità e coscienza e che, qualora necessario, possa ancora essere garantito il supporto governativo per mantenere gli impegni presi con i partner e le istituzioni europee.

Di seguito una selezione di articoli su progetti che si sono sviluppati nell'ambito della programmazione internazionale di ACC.

ARTICOLAZIONE DEL PROGRAMMA

Il Programma 4, “Promozione della collaborazione internazionale con particolare riferimento a quella europea”, coordinato da F. Belardelli (ISS) e C. Lombardo (ISTGE), ha come obiettivo principale quello di promuovere il processo di internazionalizzazione delle reti individuate nel Programma 2 per potenziare il trasferimento di competenze eccellenti verso programmi transnazionali e aumentare l’attrattiva dei nostri centri d’eccellenza tanto per i ricercatori che operano in istituzioni di ricerca estere, in particolare europee, quanto per l’industria.

Il Programma 4 ambisce a creare le condizioni necessarie a sviluppare in maniera sistematica l’abitudine a collaborare stabilendo interfacce formali con le istituzioni omologhe ad ACC presenti in altri Paesi e con i progetti europei d’interesse oncologico in atto o in fase di progettazione. Per sostenere il divenire continuo del Programma è stato istituito un *Focal Point International Affairs* che possa rendere anche disponibili i servizi necessari a realizzare il processo di internazionalizzazione istituzionale per gli aspetti di informazione, formazione, ricerca e trasferimento, stimolando le reti di eccellenza a partecipare a programmazioni sovranazionali anche tramite piccoli finanziamenti per le attività preparatorie. L’ufficio rappresenta anche il punto di riferimento per raccogliere suggerimenti provenienti dai membri ACC e formulare indicazioni da trasferire al direttivo dell’associazione tramite la supervisione del Segretariato di ACC e dell’ISS.

Il Programma 4 è articolato nelle attività riportate in Tabella 1.

Tabella 1. Attività nell’ambito del Programma 4 (Finanziamento: 3.200.000 €)

Coordinatori (ente di appartenenza)	Titolo dell’attività
Filippo Belardelli (ISS) Claudio Lombardo (ISTGE)	Promozione della mobilità (Progetto TRAIN)
	Supporto a internazionalizzazione reti di sorveglianza epidemiologica
	European Bio-Banking and Biomolecular Resources BBMRI
	Workshop Biobanche Genova
	Infrastructure for Clinical Trials and Biotherapy ECRIN
	European Advanced Translational Research InfraStructure in Medicine EATRIS
	OECI-START
	Partecipazione a CoCanGPC
	Accreditation of European Comprehensive Cancer Centres
	The European Partnership for Action Against Cancer- Health Information
	Progetto CONCORD
	Emergenze e missioni per nuovi progetti (INEQUICARE)
	ERANET Translational Cancer Research (TRANSCAN)
Partecipazione a progetto EUROCANCERCOM	
Spin off Focal Point	

TRAIN - TRAINING THROUGH RESEARCH APPLICATION ITALIAN INITIATIVE

Claudio Lombardo (a, b), Sergio Bottero (a, b), Francesca d'Alessandro (b), Mauro Giacomini (c), Germana Giaquinto (a, b), Angela Guderzo (d), Franca Moretti (d), Nadia Nasso (a, b), Giorgia Pesce (b), Luigi Giusto Spagnoli (b, e), Filippo Belardelli (d)

(a) *Rapporti Scientifici Internazionali, Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro, Genova*

(b) *Alleanza Contro il Cancro, Roma*

(c) *Dipartimento di Informatica Sistemistica e Telematica, Università degli Studi di Genova, Genova*

(d) *Dipartimento di Biologia Cellulare e Neuroscienze, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(e) *Dipartimento di Biopatologia e Diagnostica per Immagini, Università di Tor Vergata, Roma*

Introduzione

L'azione comunitaria denominata "Cofinanziamento di programmi regionali, nazionali e internazionali" (COFUND) inserita nell'ambito del programma "People" del Settimo Programma Quadro (7PQ) è destinata al finanziamento di progetti di formazione tramite la ricerca a sostegno della mobilità transnazionale in varie fasi della carriera dei ricercatori.

In particolare, COFUND sostiene l'ampliamento e l'approfondimento delle competenze individuali dei ricercatori europei e di paesi Terzi (tutti i paesi non europei), in termini di acquisizione di qualifiche pluri/interdisciplinari o esperienze intersettoriali. L'intervento è inteso anche a consentire ai ricercatori di raggiungere e/o rafforzare la loro indipendenza nella gestione di attività di ricerca, consentire il (re)inserimento nella carriera professionale nel paese d'origine per coloro che provengano da un'esperienza di mobilità o di lavoro all'estero.

La filosofia alla base dell'azione COFUND è quella di incoraggiare la promozione e lo sviluppo di programmi scientifici di mobilità internazionale ideati e programmati a livello regionale e/o nazionale, esistenti e/o di nuova ideazione, sostenendo attraverso un cofinanziamento attività che comunque verrebbero realizzate dai proponenti.

La Commissione Europea interviene con un'azione di selezione per individuare i programmi che hanno migliori caratteristiche di apertura a tutta la comunità scientifica internazionale senza limitazione riguardo al paese di origine e di destinazione dei ricercatori, garantendo condizioni di lavoro adeguate nel rispetto della Carta dei Ricercatori e del Codice di condotta per la loro assunzione.

Il contributo europeo è destinato a enti pubblici o privati in grado di farsi carico di almeno il 60% del costo del progetto e della gestione delle attività connesse.

La decisione di programmare e finanziare a livello nazionale italiano un intervento di mobilità internazionale risale all'anno 2006 nell'ambito del Programma Oncologico Straordinario, art. 3 del DM 21 luglio 2006 "Rete nazionale solidale e collaborazioni internazionali (ISS per ACC)".

In particolare tra le attività previste dal Programma 4 "Promozione della collaborazione internazionale con particolare riferimento a quella europea" è stato ipotizzato di promuovere un intervento che consentisse di favorire un processo di mobilità in uscita ed in entrata per potenziare le competenze nazionali di ricerca traslazionale in oncologia.

La proposta TRAIN (*Training through Research Application Italian Initiative*) è stata presentata alla Commissione Europea nel febbraio 2009 in risposta al bando FP7 "People"-COFUND-2008. La richiesta ha avuto esito positivo.

Consorzio TRAIN

Il Consorzio TRAIN è coordinato dall'Istituto Superiore di Sanità e coinvolge Alleanza Contro il Cancro (ACC), l'Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro di Genova (ISTGE) presso il quale ha sede il *Focal Point International Affairs* di ACC ed il Dipartimento di Informatica Sistemistica e Telematica (DIST) dell'Università degli Studi di Genova.

L'Istituto Superiore di Sanità è il principale organo tecnico-scientifico pubblico del Servizio Sanitario Nazionale italiano; l'Istituto progetta, realizza e valuta la formazione e la mobilità nel settore biomedico e della sanità pubblica.

ACC è l'Associazione Italiana dei principali IRCCS con riferimento oncologico creata nel 2002 dal Ministero della Salute con il compito di promuovere una collaborazione attiva tra i suoi membri tramite lo scambio di informazioni, conoscenze, dati, risultati scientifici e risorse umane. ACC ha sede legale presso il Ministero della Salute.

L'ISTGE è un ente pubblico senza scopo di lucro, ufficialmente riconosciuto dal 1978 dal Ministero della Salute quale istituto di ricovero e cura a carattere scientifico oncologico (IRCCS). Il suo ruolo principale è quello di fornire servizi di informazione, formazione, prevenzione, cura e riabilitazione oncologica promuovendo l'innovazione nel settore tramite attività di ricerca e programmi di formazione continua.

Il DIST è attivo in diversi settori di bioingegneria tra i quali l'informatica medica e biologica, l'ingegneria molecolare e cellulare, la determinazione della struttura delle proteine, modellazione biomedica. Al suo interno opera il laboratorio Nanobioteologie e Informatica Medica (MEDINFO) per la promozione e lo svolgimento di interventi in informatica medica.

Sintesi del progetto

TRAIN è un programma triennale di mobilità internazionale destinato all'erogazione di 51 borse di studio della durata di 12 mesi ciascuna.

L'iniziativa è rivolta a ricercatori post-doc italiani e stranieri in possesso di almeno quattro anni di esperienza lavorativa post laurea.

In particolare le borse di studio in uscita (outgoing) sono destinate a ricercatori italiani che desiderino migliorare il loro livello formativo con un'esperienza di lavoro all'estero.

L'offerta è aperta anche a ricercatori stranieri esperti che, attraverso borse di studio in entrata (incoming), desiderino trascorrere un anno in un centro di ricerca o in un'azienda in Italia.

Una parte del programma è inoltre destinato a ricercatori italiani esperti che, avendo portato a termine almeno tre anni di ricerca all'estero, siano interessati a rientrare nel sistema di ricerca italiano attraverso borse di studio di re-integrazione (re-integration).

Le 51 borse messe a disposizione dal programma TRAIN sono così suddivise: 27 borse di uscita dal territorio nazionale verso qualunque paese straniero, 12 borse di accesso alle strutture di ricerca italiane da parte di stranieri di qualunque nazionalità e 12 borse di reinserimento per italiani che intendano reintegrarsi nel sistema di ricerca nazionale.

Ogni borsa prevede un contributo al ricercatore di € 37.2000/anno ed un rimborso forfettario all'ente ospitante di € 4800/anno.

Il progetto prevede la pubblicazione dei seguenti bandi: I bando, 15 marzo 2011; II bando, 1 settembre 2011; III bando 15 gennaio 2012.

Possono essere presentate richieste di contratti di ricerca tramite la formazione nei seguenti settori correlati ad interventi di ricerca in oncologia traslazionale:

1. Ricerca innovativa e all'avanguardia su argomenti correlati all'oncologia traslazionale
2. Applicazioni provenienti da altri campi d'interesse all'oncologia traslazionale
3. Oncologia Medica
4. Oncologia Chirurgica
5. Imaging
6. Radioterapia
7. Bioterapia (inclusa la medicina rigenerativa)
8. Cure palliative e Riabilitazione
9. Patobiologia (compresi i biomarker)
10. Epidemiologia e registri oncologici
11. Oncogenomica e Genetica
12. Bio-banche
13. Immunologia oncologica
14. Mutagenesi e Carcinogenesi
15. Bioinformatica e Biologia strutturale
16. Farmacogenomica
17. Informazione sul cancro
18. Biologia Molecolare e cellulare
19. Micro invasione e metastasi
20. Management, Proprietà Intellettuale, Sfruttamento, Trasferimento tecnologico

Al fine di garantire la trasparenza del processo di valutazione delle proposte è stato creato nell'ambito del progetto un database di esperti indipendenti selezionati per ciascuno dei campi di applicazione sopradescritti sulla base di indici standard (H index, Impact Factor) e altri criteri qualora i precedenti non fossero applicabili per il settore specifico.

Nella costruzione del database si è inoltre cercato di mantenere un ragionevole equilibrio tra uomini e donne e di distribuzione geografica a livello Europeo e internazionale nonché un appropriato bilanciamento tra gli esperti provenienti dal mondo accademico e industriale.

La selezione ed assegnazione agli esperti indipendenti delle proposte da valutare è attuata da un sistema informatizzato che rende anonima ciascuna proposta assegnandola a tre valutatori nel rispetto dei seguenti principi:

- i valutatori non devono lavorare, risiedere o essere cittadini del paese d'origine del richiedente;
- i valutatori devono essere di sesso diverso (2 uomini e 1 donna o viceversa) e provenire da paesi diversi;
- se possibile, uno dei 3 esperti dovrebbe risiedere nel Paese per il quale il candidato ha fatto richiesta ma non dovrebbe svolgere alcuna attività presso l'istituto ospitante indicato dal ricercatore.

La valutazione si basa su alcuni criteri standard quali la qualità scientifica e tecnologica della proposta, il curriculum e le attitudini del ricercatore, la qualità dell'infrastruttura che ospiterà il ricercatore, l'impatto sulla carriera del ricercatore e possibile miglioramento del sistema ricerca dell'ente di appartenenza oltre naturalmente al rispetto della componente etica connessa alle attività di ricerca proposte.

Questi impatti saranno valutati attraverso analisi oggettive sull'attività editoriale dei soggetti coinvolti nell'attività di ricerca.

Conclusioni e prospettive future

L'intervento si inserisce in una strategia globale del Programma 4 che è stato ideato proprio attorno all'asse portante della ricerca traslazionale quale riferimento costante di tutti gli interventi di formazione, ricerca e realizzazione di infrastrutture per favorire un raccordo intelligente ed organizzato con la componente industriale in risposta alla necessità di partecipare alla costruzione di una società basata sulla conoscenza. Queste le fondamenta sulle quali è stato costruito il progetto TRAIN.

Per ulteriori informazioni collegarsi al website TRAIN: <http://www.trainoncology.eu>

Pubblicazioni conseguite nell'ambito del progetto

Il progetto ha prodotto le seguenti pubblicazioni:

1. Lombardo C, Albanese D, Belardelli F, d'Alessandro F, Giacomini M, Rondanina T, Spagnoli LG. Training and Mobility, a priority for the organization of the European Cancer Institutes. How a national mobility initiative could enhance the EU cooperation in cancer research contributing to the development of an european research area: the example of the Italian Comprehensive Cancer Centers' Network "Alleanza Contro il Cancro". *Tumori* 2008;94:147-53.
2. Lombardo C, Belardelli F. Programma 4 del DM ISS per ACC: relazione consuntiva 2008 e programmatica 2009. In: Belardelli F, Romero M, Moretti F (Ed). *Programma Straordinario Oncologia 2006. Art. 3 "Rete nazionale solidale e collaborazioni internazionali (ISS per ACC)". Consuntivo dell'attività scientifica (2007-2008)*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2009. (Rapporti ISTISAN 09/1). p. 148-155
3. Lombardo C, d'Alessandro F, Moretti F, Rondanina T, Ferrantini M, Belardelli F. Programma 4 dell'art.3 DM 21 luglio 2006: le basi razionali dell'intervento. In: Belardelli F, Romero M, Moretti F (Ed). *Programma Straordinario Oncologia 2006. Art. 3 "Rete nazionale solidale e collaborazioni internazionali (ISS per ACC)". Consuntivo dell'attività scientifica (2007-2008)*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2009. (Rapporti ISTISAN 09/1). p. 143-147.
4. Lombardo C, d'Alessandro F, Rondanina T, Nasso N, Majerna D, D'Agnolo G, Moretti F, Romero M, Visconti U, Belardelli F. Programma 4 dell'art.3 DM 21 luglio 2006: le basi razionali dell'intervento. In: Moretti F, Guderzo A, Ferrigno A, Belardelli F (Ed). *Programma Straordinario Oncologia 2006. Art. 3 "Rete nazionale solidale e collaborazioni internazionali (ISS per ACC)". Consuntivo dell'attività scientifica (2008-2009)*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2010. (Rapporti ISTISAN 10/1). p. 175-180.

TRANSCAN: ERA-NET ON TRANSLATIONAL CANCER RESEARCH

Maria Ferrantini (a), Massimo Casciello (b), Claudio Lombardo (c, d), Maria Romero (a, d), Filippo Belardelli (a)

(a) Dipartimento di Biologia Cellulare e Neuroscienze, Istituto Superiore di Sanità, Roma

(b) Direzione generale della ricerca scientifica e tecnologica, Ministero della Salute, Roma

(c) Rapporti Scientifici Internazionali, Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro, Genova

(d) Alleanza Contro il Cancro, Roma

Introduzione

La malattia oncologica rappresenta una sfida formidabile per la sanità pubblica essendo responsabile del 25% di tutti i decessi e la seconda causa di morte dopo le malattie cardiovascolari. Un recente studio dell'Organizzazione Mondiale della Sanità ha indicato che ogni anno in Europa si registrano 3.2 milioni di nuovi casi di cancro con 1.7 milioni di decessi. (1). Inoltre, il progressivo invecchiamento della popolazione europea fa prevedere un peggioramento di tale situazione (1). L'eterogeneità intrinseca alla malattia cancro, che comprende circa 200 tipi diversi di patologie neoplastiche che colpiscono una varietà di organi, implica una corrispondente eterogeneità nei fattori di rischio, nelle caratteristiche biologiche, nel decorso clinico della malattia e negli approcci terapeutici.

A tutt'oggi, nonostante gli enormi progressi nella conoscenza della biologia dei tumori così come nello sviluppo di nuove e potenti tecnologie derivate dalla genomica funzionale, dalla proteomica, dalla bioinformatica e dall'*imaging* funzionale, molte sono ancora le questioni irrisolte riguardo alla prevenzione, la diagnosi, la recidiva, la terapia e la resistenza ai trattamenti.

Il Parlamento europeo ha evidenziato la necessità di definire una strategia globale di controllo del cancro che comprenda i quattro fattori fondamentali: a) prevenzione, b) identificazione precoce, c) diagnosi, trattamento e follow-up e d) cure palliative (2). Esigenze specifiche sono state identificate nel settore della ricerca e sviluppo di nuovi farmaci e trattamenti innovativi, nella prevenzione primaria e nella diagnosi precoce.

Nel marzo del 2008, il progetto Eurocan+Plus (*Feasibility Study for Coordination of National Cancer Research Activities*) ha trasmesso al Parlamento europeo, attraverso la Commissione europea, la raccomandazione di promuovere il lancio di un progetto ERA-NET dedicato alla ricerca traslazionale sul cancro (3). Tale raccomandazione rappresentava l'opinione di consenso dei partecipanti al progetto Eurocan+Plus che la promozione di azioni di coordinamento tra enti governativi e agenzie di finanziamento europei potesse rappresentare la strategia migliore per garantire un efficiente coordinamento della ricerca oncologica in Europa (3).

A partire dal giugno 2008, i rappresentanti delle istituzioni che nel progetto Eurocan+Plus avevano svolto un ruolo particolarmente attivo a sostegno della proposta di ERA-NET, per conto dei rispettivi Paesi, precisamente Germania, Regno Unito, Francia, Spagna e Italia, hanno iniziato il lavoro di costruzione di tale iniziativa. Tale operazione è nata in un contesto particolarmente fortunato per l'Italia, in quanto parallelamente ed in maniera indipendente era stato avviato il Programma 4 nell'ambito del progetto "ISS per ACC". La sinergia stabilitasi grazie a tale programma tra l'ISS e il Focal Point per le Relazioni Internazionali di ACC, ha realizzato le condizioni affinché l'Italia potesse assumere un ruolo guida nella realizzazione

dell'iniziativa di ERA-NET fin dal suo nascere, attraverso l'organizzazione nell'arco di un anno, dall'ottobre 2008 all'ottobre 2009, di tre successivi incontri tra rappresentanti di istituzioni nazionali e regionali europee consentendo di costituire un consorzio tra 25 istituzioni appartenenti a 19 Paesi europei. Il consenso dimostrato da un numero consistente di Paesi alla proposta di un ERA-NET per la ricerca traslazionale sul cancro fin dall'inizio del lavoro preparatorio ha consentito al nucleo di istituzioni-Paesi "fondatori" dell'iniziativa di rappresentare alla Commissione europea l'esistenza di condizioni concrete per la realizzazione della raccomandazione veicolata dal progetto Eurocan+Plus.

Il 29 luglio 2009 veniva pubblicata nell'ambito del *Work Programme 2010 - Cooperation* per il tema *Health* il bando per un "ERA-NET on translational cancer research in Europe".

Il riconoscimento da parte degli altri partecipanti al consorzio al lavoro svolto dall'ISS e ACC, aveva nei mesi precedenti motivato la richiesta esplicita a che l'Italia svolgesse il ruolo di Paese coordinatore della proposta di ERA-NET. Tale ruolo dell'Italia è stato definitivamente sancito dalla decisione del Ministero della Salute nel dicembre 2009 di assumere direttamente il coordinamento del progetto. La posizione dell'Italia è stata ulteriormente rafforzata dalla successiva decisione del Ministero dell'Istruzione, Università e Ricerca di partecipare al consorzio.

La proposta di progetto ERA-NET on Translational Cancer Research, da qui in poi indicato con l'acronimo TRANSCAN, sottomessa alla Commissione europea il 19 gennaio 2010, ha superato con successo la valutazione e la successiva fase di negoziazione. L'inizio del progetto, della durata di quattro anni e la cui articolazione in attività è illustrata nel paragrafo successivo, è prevista per il 1 febbraio 2011.

Partenariato nazionale ed europeo

Il progetto TRANSCAN è basato sulla collaborazione di 25 istituzioni appartenenti a 19 Paesi europei, molti dei quali erano partecipanti nell'Eurocan+Plus, e quindi la sua realizzazione potrà avvantaggiarsi delle relazioni funzionali già esistenti tra un ampio numero di enti finanziatori di programmi di ricerca in Europa.

La composizione del consorzio TRANSCAN offre un'ampia copertura geografica all'interno dell'Unione Europea, comprendendo 16 Stati Membri, dei quali 2 del Nord Europa (Latvia e Regno Unito), 4 del Sud Europa (Grecia, Italia, Portogallo e Spagna), 4 dell'Europa occidentale (Austria, Francia, Germania e Olanda), e 6 dell'Europa Orientale (Repubblica Ceca, Ungheria, Polonia, Romania, Slovacchia e Slovenia), oltre a Israele, Norvegia e Turchia, quali Stati associati. Inoltre, l'istituzione belga *Research Foundation - Flanders (Fonds voor Wetenschappelijk Onderzoek)* (FWO) è coinvolta nel progetto come partecipante associato ed in rappresentanza della regione Fiandre. Riguardo al partenariato nazionale, l'Italia è presente nel consorzio TRANSCAN con 5 istituzioni: Ministero della Salute, Ministero dell'Università e della Ricerca, Istituto Superiore di Sanità, Alleanza Contro il Cancro e Regione Liguria.

L'eterogeneità del consorzio TRANSCAN consentirà una produttiva condivisione di idee ed esperienze che contribuirà al raggiungimento degli obiettivi della rete. In particolare, la collaborazione tra enti finanziatori di diversi stati europei consentirà l'avvio di iniziative congiunte, attraverso il coordinamento di bandi per il finanziamento di progetti multinazionali di ricerca traslazionale sul cancro o *Joint Transnational Calls* (JTC), come descritto in dettaglio nella sintesi del progetto.

Sintesi del progetto

Obiettivo finale del progetto TRANSCAN è di realizzare azioni di coordinamento a livello europeo per promuovere la collaborazione tra ricerca di base, clinica e epidemiologica e quindi contribuire alla costruzione di una piattaforma pan-europea sostenibile per il finanziamento della ricerca traslazionale sul cancro.

Il raggiungimento di tali obiettivi risponde alla urgente necessità di superare gli ostacoli che in Europa non consentono una rapida ed efficiente traduzione dei risultati della ricerca biomedica in applicazioni cliniche. Tali ostacoli sono stati identificati nella carenza di coordinamento e massa critica, causati dalla frammentazione e dall'uso inefficiente delle risorse, cioè dalla duplicazione delle iniziative intraprese a livello europeo riguardo alle politiche e alle strutture per la ricerca sul cancro (3).

In un recente *commentary* pubblicato in *Nature Medicine* (4) si legge che:

The challenges of translational medicine are of such a magnitude and, especially in times of economic crisis, have such formidable repercussions for society that we need innovative ideas to tackle them. As the problems are multidimensional and interconnected, so must be the solutions.

La costruzione di una piattaforma pan-europea in grado di promuovere l'eccellenza nella ricerca traslazionale sul cancro richiede azioni di coordinamento a vari livelli e su aspetti diversi, a causa della crescente multidisciplinarietà della ricerca traslazionale e quindi della massa critica richiesta per coprire l'intero spettro delle necessarie attività. Il progetto TRANSCAN affronterà tali esigenze attraverso l'implementazione di attività interconnesse, strutturate in sei *work package* (WP) i cui obiettivi e attività sono illustrati di seguito.

La realizzazione del programma di lavoro e il raggiungimento degli obiettivi del progetto TRANSCAN verranno sostenuti dalle attività di coordinamento e di gestione del WP1, affidate alla responsabilità del Ministero della Salute e dell'ISS in collaborazione con ACC. Tra gli obiettivi dell'attività di coordinamento rientrerà la comunicazione e la disseminazione delle attività e dei risultati del progetto presso tutti i soggetti potenzialmente interessati, quali ricercatori di laboratorio e clinici, autorità regolatorie, professionisti sanitari, pazienti, decisori politici e la società nel suo complesso. Il WP1 stabilirà altresì interazioni con altri enti finanziatori allo scopo di estendere il consorzio e identificare risorse aggiuntive per aumentare l'impatto del progetto, in modo particolare riguardo alle JTC. Infine, un'importante attività del WP1, sotto la responsabilità di ACC, riguarderà la realizzazione di interazioni e sinergie con altre iniziative attualmente in corso nell'Unione europea, con l'obiettivo di contribuire alla costruzione della *European Research Area* nel settore dell'oncologia.

Obiettivi principali del WP2 sono: a) ottenere una mappa esaustiva e globale della natura e dell'entità dei finanziamenti che nei Paesi del consorzio TRANSCAN sono dedicati a progetti di ricerca traslazionale sul cancro, tenendo in considerazione tutto lo spettro dalla ricerca di base alla ricerca clinica e includendo anche studi epidemiologici e, in interazione con il WP5, programmi a sostegno della formazione di gruppi multidisciplinari di ricerca traslazionale; b) identificare in questo modo i punti di forza e di debolezza e quindi le necessità e opportunità di coordinamento.

Tale indagine conoscitiva verrà disegnata tenendo conto delle informazioni raccolte dall'Eurocan+Plus e classificate in base al sistema *Common Scientific Outline* (CSO)¹. L'analisi

¹ Il CSO comprende le seguenti sette categorie: biology, aetiology, prevention, early detection diagnosis & prognosis, treatment, cancer control survivorship & outcomes research and scientific model systems (<http://www.cancerportfolio.org/cso.jsp>).

dei risultati dell'indagine consentirà la categorizzazione basata sul CSO dei progetti di ricerca individuali identificati nell'ambito dei Paesi partecipanti al TRANSCAN e permetterà di calcolare l'ammontare degli investimenti nelle diverse aree di ricerca sul cancro e, come conseguenza, di acquisire una comprensione più specifica degli attuali punti di forza e di debolezza e quindi delle future opportunità, in termini di identificazione di aree di ricerca traslazionale sul cancro che maggiormente possono beneficiare del coordinamento e della collaborazione transnazionale. L'esito dell'indagine fornirà un fondamentale contributo alla selezione di temi appropriati e specifici per le JTC e allo sviluppo di una politica di finanziamento della ricerca traslazionale sul cancro coordinata e condivisa tra i Paesi europei partecipanti al consorzio o di quanti vorranno associarsi in seguito.

Obiettivi del WP3 sono il disegno di tre *Joint Transnational Calls* (JTC) per progetti multinazionali di ricerca traslazionale sul cancro e la definizione delle procedure per il monitoraggio dei progetti finanziati nel contesto delle JTC. Le JTC verranno focalizzate su aree e tematiche identificate come quelle che maggiormente necessitano di finanziamento e dove la collaborazione transnazionale rappresenta un valore aggiunto per favorire una maggiore e migliore integrazione tra ricerca di base, epidemiologica, preclinica e clinica. Le specifiche aree e tematiche verranno selezionate sulla base della conoscenza dei programmi e dei progetti di ricerca esistenti nell'area della prevenzione, diagnosi, prognosi e cura. Tale conoscenza verrà acquisita attraverso fasi successive. Precisamente, i partecipanti in TRANSCAN utilizzeranno l'informazione in loro possesso riguardo alle aree tematiche di interesse prioritario per l'Europa e/o alle aree tematiche sotto-rappresentate negli attuali portafogli nazionali e internazionali. Le indicazioni derivanti verranno discusse con lo *Scientific Advisory Board* del TRANSCAN e con rappresentanti delle principali società scientifiche europee e internazionali, per individuare gli aspetti scientifici maggiormente rilevanti, e verranno integrate con i risultati dell'indagine conoscitiva effettuata dal WP2 e dal WP5. Tale processo consensuale, globale e progressivo di selezione garantirà che le proposte progettuali che verranno ricevute saranno di elevata qualità in termini di rilevanza scientifica e di impatto potenziale.

Obiettivo del WP4 è l'implementazione delle JTC, mediante la costituzione di segretariati centrali per ciascuna JTC, che saranno responsabili per conto del comitato delle istituzioni partecipanti alla JTC (il *Call Steering Committee* o CSC) della gestione della pubblicazione dei bandi, dell'organizzazione della valutazione e della selezione dei progetti, affidate rispettivamente allo Scientific Evaluation Committee (SEC) e al CSC, così come del monitoraggio delle procedure operative applicate per ogni JTC (Figura 1). Il CSC è composto dai membri del Network Steering Committee, l'organo di governance del progetto, che partecipano alla JTC, secondo un principio di geometria variabile, e da partecipanti non appartenenti al consorzio interessati al bando. Il CSC è responsabile di tutte le decisioni che riguardano la preparazione e/o l'implementazione della JTC. Il Joint Call Secretariat (JCS) è composto da personale con una specifica conoscenza dei meccanismi e delle complessità di attività di finanziamento nazionale e internazionale. Il JCS è responsabile di tutte le attività riguardanti l'implementazione della JTC, incluse la costituzione del SEC e l'organizzazione delle riunioni del SEC e del CSC. Esso rappresenta il punto di contatto centrale per i proponenti. Durante i quattro anni di durata del TRANSCAN, è previsto il lancio di tre JTC basate sulla partecipazione dei diversi Paesi del consorzio secondo un principio di geometria variabile. I segretariati per le tre JTC saranno costituiti sotto la responsabilità rispettivamente dei partecipanti tedeschi PT-DLR/BMBF² (JTC-1), del membro francese INCa (JTC-2), e dell'ISS per l'Italia (JTC-3).

² PT-DLR: Deutsches Zentrum für Luft – und Raumfahrt Ev; BMBF: Bundesministerium für Bildung und Forschung.

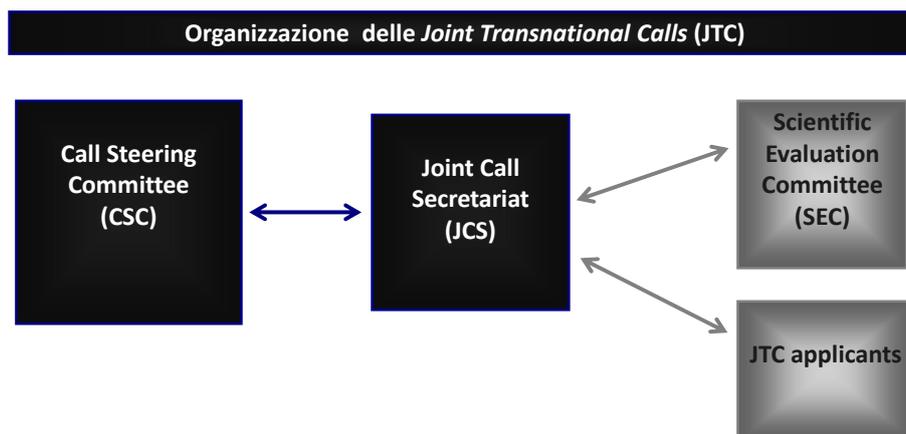


Figura 1. Organismi, flussi e procedure per la preparazione e implementazione delle JTC

Obiettivo del WP5 è il potenziamento delle risorse umane nella ricerca traslazionale sul cancro, attraverso a) una ricognizione, in collaborazione con il WP2, dei programmi di formazione già esistenti a supporto della multidisciplinarietà della ricerca traslazionale sul cancro, e b) la promozione di attività di formazione e di *capacity building* per la creazione di unità di ricerca traslazionale multidisciplinari mediante l'inclusione di tali componenti nelle JTC, in collaborazione con il WP3 e il WP4.

Obiettivi del WP6 sono: a) la definizione di indicatori per il monitoraggio e la valutazione dei processi operativi alla base delle attività del TRANSCAN così come della performance del progetto; b) la realizzazione di un processo di revisione in cui gli indicatori definiti verranno utilizzati per confrontare la performance del TRANSCAN con le aspettative delle istituzioni partecipanti; c) l'elaborazione di un piano di sostenibilità a lungo termine oltre la durata del TRANSCAN.

Conclusioni e prospettive future

Il progetto TRANSCAN si prefigge nel suo complesso di avere un impatto positivo su: a) l'uso efficiente delle risorse dedicate allo sviluppo di nuovi e potenzialmente più efficaci interventi per la prevenzione, la diagnosi e la terapia del cancro; b) la qualità e l'impatto della ricerca traslazionale sul cancro, promuovendo l'eccellenza scientifica e il potenziale traslazionale dei progetti di ricerca, attraverso il lancio di bandi transnazionali competitivi con un processo di selezione *peer review* e la promozione di attività di formazione di gruppi di ricerca multidisciplinari; c) la capacità dell'Europa di attrarre l'industria biomedica; e d) la costruzione di una piattaforma europea per la ricerca traslazionale sul cancro, attraverso la realizzazione di una rete duratura e sostenibile di enti finanziatori. In questo modo, TRANSCAN contribuirà ad una migliore comunicazione tra enti finanziatori in diversi Paesi europei, così come tra tali enti e le loro istituzioni di ricerca nazionali per promuovere lo sviluppo di strumenti più efficaci per il controllo e la terapia del cancro, con un processo orientato al paziente. Il finanziamento di progetti multinazionali di ricerca traslazionale sul cancro contribuirà inoltre a sostenere la ricerca clinica, rafforzando il coordinamento degli studi

clinici accademici. Inoltre, il monitoraggio dell'impatto dei progetti finanziati potrà anche contribuire ad un "controllo di qualità" della ricerca sostenuta dalle istituzioni finanziatrici.

TRANSCAN interagirà con altre iniziative in corso in Europa nell'area dell'oncologia e oltre, al fine di creare sinergie e contribuire così allo spazio europeo della ricerca. In particolare, TRANSCAN si coordinerà con i seguenti progetti:

- EUROCOURSE, l'ERA-NET per l'ottimizzazione dell'uso dei registri tumori in Europa (www.eurocourse.org);
- EurocanPlatform, il Network of Excellence, anch'esso derivato dalle raccomandazioni dell'Eurocan+Plus, finalizzato all'integrazione della ricerca traslazionale tra centri di ricerca sul cancro e strutture ospedaliere per pazienti oncologici con l'obiettivo finale di accelerare lo sviluppo di strategie di screening, diagnostiche e terapeutiche;
- i progetti di infrastruttura di ricerca ESFRI dell'area biomedica con riferimento particolare a EATRIS, ECRIN e BBMRI;
- la Innovative Medicine Initiative (IMI);
- la European Partnership for Action Against Cancer (5), l'iniziativa recentemente lanciata dal Direttorato Generale Health and Consumers per promuovere azioni di coordinamento nella prevenzione e nel controllo del cancro, evitando la frammentazione e la duplicazione delle azioni e contribuendo ad un uso più efficace delle limitate risorse disponibili. Si ipotizza che l'azione di stimolo della European Partnership, indirizzi tutti gli Stati Membri a dotarsi di piani oncologici nazionali integrati. L'obiettivo a lungo termine è di ridurre l'incidenza del cancro del 15% entro il 2020. In particolare, il WP8 della Partnership è dedicato all'individuazione delle limitazioni attualmente esistenti nel coordinamento della ricerca sul cancro in Europa, con l'obiettivo di sviluppare un approccio concertato per raggiungere entro il 2013 il coordinamento di un terzo delle risorse dedicate alla ricerca da tutte le fonti di finanziamento, in aree selezionate della ricerca sul cancro. La partecipazione dell'ISS e dell'INCa contemporaneamente al WP8 della Partnership e all'ERA-NET TRANSCAN consentirà la realizzazione di un'interazione proficua tra i due progetti.

Lo scenario che in Europa si sta delineando con l'avvio delle diverse iniziative nell'area dell'oncologia potrebbe condurre nei prossimi anni al lancio di una *Joint Programming Initiative on Cancer*. La sfida per il progetto TRANSCAN è di offrire un contributo fondamentale in tale processo.

Bibliografia

1. Ferlay J, Autier P, Boniol M, Heanue M, Colombet M, Boyle P. Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006. *Annals of Oncology* 2007;18:581-92.
2. European Parliament. *European Parliament resolution on combating cancer in the enlarged European Union*. 2008. (B6-0132/2008). Disponibile all'indirizzo <http://www.europarl.europa.eu/sides/getDoc.do?type=MOTION&reference=B6-2008-0132&language=EN>; ultima consultazione 12/1/11.
3. EurocanPlus. *Feasibility study for coordination of national cancer research activities - Summary report*. 2008. Disponibile all'indirizzo: http://www.eurocanplus.eu/doc/EurocanPlus_Summary_Report.pdf; ultima consultazione 12/1/11.
4. Albani S, Prakken B. The advancement of translational medicine - from regional challenges to global solutions. *Nature Medicine* 2009;15:1006-9.

5. Commission of the European Communities. *Communication from the Commission to the European Parliament, the Council, the European Economic and Social Committee and the Committee of the Regions on Action Against Cancer: European Partnership*. Brussels: Commission of the European Communities; 2009. COM(2009) 291 final. Disponibile all'indirizzo <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=COM:2009:0291:FIN:EN:PDF>; ultima consultazione 12/1/11.

RUOLO DI ALLEANZA CONTRO IL CANCRO (ACC) NELLA PARTECIPAZIONE ITALIANA ALL'INFRASTRUTTURA EUROPEA BIO-BANKING AND BIOMOLECULAR RESOURCES RESEARCH INFRASTRUCTURE (BBMRI)

Elena Bravo (a), Filippo Belardelli (a), Giuliano D'Agno (a,b), Maria Grazia Daidone (c), Claudio Lombardo (b, d), Franca Moretti (a), Paolo Roazzi (a), Barbara Parodi (e), Carlo Petrini (a), Luigi Giusto Spagnoli (b, f), Angelo Paradiso (g)

(a) *Dipartimento di Biologia Cellulare e Neuroscienze, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(b) *Alleanza Contro il Cancro, Roma*

(c) *Dipartimento di Oncologia Sperimentale e Medicina Molecolare; Fondazione IRCCS, Istituto Nazionale dei Tumori, Milano*

(d) *Rapporti Scientifici Internazionali, Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro, Genova*

(e) *Banca Biologica e Cell Factory, Centro di risorse biologiche, Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro, Genova*

(f) *Dipartimento di Biopatologia e Diagnostica per Immagini, Università di Tor Vergata, Roma*

(g) *Direzione Scientifica, Istituto Tumori Giovanni Paolo II, Bari*

Introduzione

Gli studi basati su grandi raccolte di campioni biologici umani sono insostituibili per la comprensione dei meccanismi di cancerogenesi, della progressione dei tumori, della resistenza al trattamento, e in particolare per valutare ipotesi su biomarcatori identificati negli studi sperimentali. Infatti, la ricerca oncologica di base e clinica, negli ultimi decenni, ha utilizzato sempre di più i tessuti oncologici umani rispetto alle linee cellulari e ai modelli animali. Per questo motivo l'interesse a collezionare tessuti umani clinicamente caratterizzati è in costante aumento.

L'allungamento costante della speranza di vita dei pazienti oncologici e quindi del loro follow-up rende le banche di campioni tumorali parte integrante della pratica medica. I Centri di Risorse Biologiche (CRB) sono diventati i pilastri su cui poggiano tre nuovi sviluppi della ricerca:

- l'epidemiologia molecolare, che ha l'obiettivo di identificare le cause genetiche e ambientali che causano il cancro nella popolazione generale e nelle famiglie;
- la patologia molecolare, che sviluppa una nuova classificazione molecolare dei diversi tipi di tumore e nuove procedure diagnostiche;
- la farmacogenomica e la farmacogenetica, con l'obiettivo di mettere a punto terapie individualizzate, identificando profili molecolari associati alla sensibilità/resistenza a trattamenti specifici (utili anche per il disegno di farmaci diretti contro alterazioni delle cellule neoplastiche) e alterazioni genetiche condizionanti la risposta individuale ad un farmaco, anche in termini di effetti tossici collaterali.

L'infrastruttura europea *Biobanking and Biomolecular Resources Research Infrastructure* (BBMRI)

Il Settimo Programma Quadro (7PQ) (2007-2013) “Costruire l’Europa della conoscenza” risponde alle esigenze dell’Unione europea in materia di crescita e di occupazione. In questa ottica è stata prevista la costituzione di infrastrutture di ricerca e innovazione pan-europee, che sono state identificate dall’*European Strategy Forum for Research Infrastructure (ESFRI)* su mandato del Consiglio Competitività dell’Unione.

Per quanto attiene l’attività delle biobanche di ricerca, si è evidenziato che le enormi potenzialità di conoscenza racchiuse nei milioni di campioni conservati in Europa sono state finora notevolmente ridotte dall’eterogeneità dei sistemi di raccolta e conservazione che variano da Paese a Paese e dalla difficoltà di possederne un catalogo.

La costituzione dell’infrastruttura europea BBMRI rappresenta la risposta all’esigenza di esplicitare questo enorme potenziale racchiuso nelle risorse biologiche e biomolecolari e si propone di realizzare una rete europea virtuale delle biobanche con un coordinamento centralizzato. La rete di BBMRI dovrebbe far fronte alla frammentazione nazionale, assicurare accesso sicuro alle risorse biologiche e garantirne una gestione appropriata sia da un punto di vista etico che tecnologico, promuovendo la cultura delle qualità dei campioni biologici, della innovazione e della solidarietà umana. BBMRI sostiene l’eccellenza, che permetta il miglioramento della prevenzione, diagnosi e cura delle malattie e quindi della salute umana in ambito europeo.

La fase preparatoria di BBMRI termina il 31 gennaio 2011. L’Italia partecipa dall’inizio alla infrastruttura europea BBMRI. ACC è partner del progetto BBMRI mediante la propria rete nazionale delle banche per la ricerca sul cancro e ha contribuito all’attività di diversi *working packages* di BBMRI. Barbara Parodi e Giuliano D’Agnolo, anche a nome di ACC, hanno partecipato attivamente e costantemente alla fase preparatoria di BBMRI, fornendo un contributo determinante alla creazione di una rete di informazione e sensibilizzazione sulla infrastruttura nella comunità scientifica nazionale e un contributo essenziale alla internazionalizzazione delle attività delle biobanche definito nell’ambito del Programma 4, articolo 3 del DM del 21 luglio 2006.

BBMRI-ERIC

Alla fine della fase preparatoria di BBMRI, lo *status* legale raccomandato dalla Unione Europea è un consorzio tra gli Stati Membri partecipanti, denominato ERIC (*European Research Infrastructure Consortium*) il cui regolamento 723/2009/EC è entrato in vigore il 28 agosto 2009. Tale regolamento conferisce personalità legale al consorzio e consente al Governo firmatario di partecipare in proprio o mediante un Ente delegato allo scopo. Il consorzio BBMRI-ERIC svolgerà le sue principali funzioni attraverso contratti di collaborazione, su base prevalentemente non-economica. BBMRI sta attualmente finalizzando la preparazione della documentazione necessaria per acquisire lo status di consorzio legale europeo dall’Unione Europea.

BBMRI sta disegnando un’infrastruttura diffusa nella quale le biobanche ed i relativi servizi sono distribuiti negli Stati membri secondo il modello *hub and spoke*, con alcuni servizi ed attività centralizzate come IT, basi di dati e consulenza etico-legale, e le attività delle biobanche coordinate a libello nazionale dal Nodo nazionale.

Dalla partecipazione a BBMRI-ERIC deriveranno vantaggi diretti agli Stati Membri partecipanti al consorzio, in quanto l'interesse della ricerca nel biobanking spazia dalla ricerca di base a quella personalizzata, passando per la ricerca sui biomarcatori e sviluppo di farmaci. Il processo di integrazione delle biobanche italiane a BBMRI-ERIC offrirà nuove opportunità alla comunità scientifica, poiché le reti nazionali di biobanche di ricerca in qualità sono ritenute partner strategici dalle Piccole e Medie Imprese (PMI) e dall'industria internazionale. La partecipazione a BBMRI, inoltre, permetterà un accesso a risorse biologiche europee a tariffe ridotte (*cost recovery*) ed un accesso diretto e senza ulteriori costi a risorse tecnologiche, servizi di alta qualità e progetti per la formazione in *biobanking*.

Il consorzio BBMRI-ERIC avrà un'unica sede statutaria in Austria (Nodo centrale di coordinamento europeo). In ciascuno stato membro che sarà firmatario di BBMRI-ERIC deve essere attivato un Nodo nazionale, che sarà parte integrante della struttura ERIC, e che avrà compito principale di coordinare l'attività delle biobanche nazionali ed essere interfaccia tra le realtà nazionali e il Nodo europeo.

L'Italia ha recentemente confermato il proprio interesse anche alla partecipazione nazionale al costituendo consorzio legale BBMRI-ERIC. Nell'estate del 2010 il Ministro della Sanità ha incaricato il Presidente dell'ISS ad attivare il Nodo Italiano di BBMRI con il mandato di attivare tutte le iniziative necessarie per permettere una partecipazione qualificata dell'Italia al costruendo consorzio BBMRI-ERIC. Il Nodo italiano di BBMRI è stato attivato nel luglio 2010 dal Presidente dell'ISS che ha affidato il coordinamento a Elena Bravo e che ha contestualmente attivato il Comitato Consultivo del Nodo. Notizie più dettagliate sul Nodo BBMRI-IT sono disponibili sul sito <http://www.bbmri-eric.it>.

Il ruolo di Alleanza Contro il Cancro

Gli istituti oncologici nazionali che posseggono biorisorse importanti per lo studio dei tumori, pur se di grande valore e tradizione, soffrono della frammentazione della ricerca in quest'ambito, della presenza di regole di accesso diverse, della mancanza di standard comuni di riferimento, di scarsa attenzione sociale e politica, e di coordinamento regionale e nazionale.

Alleanza Contro il Cancro (ACC) ha iniziato e continuato negli anni un'azione variegata a vari livelli che sta contribuendo in modo essenziale a migliorare il sistema delle biobanche oncologiche italiane, per renderlo unificato a livello nazionale, organizzato e competitivo nella qualità con quello europeo e per prepararlo alla sfida biotecnologica del network globale. La rete nazionale di banche per l'oncologia di ACC, denominata RIBBO (Rete Italiana delle BioBanche Oncologiche: <http://www.iss.it/ribo/>) è una rete volontaria di istituzioni per creare un sistema ottimale per la condivisione dei campioni. Tale rete è costituita attualmente da 19 biobanche partecipanti, di cui 14 membri fondatori e 5 membri associati. Di questo network, geograficamente distribuito su tutto il territorio nazionale, dieci biobanche fanno anche parte del network europeo di BBMRI (vedi anche Tabella 1, pag 44).

In termini di attività, la rete oncologica delle biobanche di ACC e ACC stessa promuove i processi per mettere in sinergia le potenzialità delle singole collezioni e per armonizzare e migliorare le procedure operative delle varie fasi di lavoro delle biobanche.

ACC affronta tutte le tematiche inerenti le biobanche: dalle regole etiche e definizione di modelli condivisi per la raccolta del consenso alla definizione di un data set che sia da base alla catalogazione centralizzata delle risorse, dalla stesura di procedure di raccolta, preparazione e stoccaggio basate sull'evidenza all'armonizzazione delle modalità di accesso ai campioni.

Notevole è anche l'opera di sensibilizzazione che, direttamente ed indirettamente, ACC svolge, sia verso le biobanche ed istituzioni per aumentare la consapevolezza dei problemi

esistenti indicando il cammino conoscitivo e le mete da perseguire, sia verso la comunità sociale tutta, e in particolare le associazioni dei pazienti oncologici, il cui coinvolgimento può svolgere una funzione determinante nella implementazione della ricerca sul cancro.

Per l'Italia il contributo dato da ACC alle biobanche è stato inoltre determinante per favorirne la internazionalizzazione e l'avvio dei processi di integrazione nel progetto dell'infrastruttura di ricerca BBMRI. ACC è partner del progetto BBMRI e l'azione di internazionalizzazione delle biobanche (Programma 4, art. 3 del DM del 21 luglio 2006) è da considerare tra le attività di ACC che pienamente hanno raggiunto il proprio obiettivo, in quanto la rete italiana delle biobanche italiane sta ottenendo il supporto del Ministero della Salute affinché partecipi anche al costituendo consorzio legale tra Stati Membri dell'Unione dell'infrastruttura di ricerca pan-europea BBMRI.

Partenariato nazionale, europeo ed internazionale

Le attività di ACC nell'ambito della ricerca oncologica spaziano entro larghi orizzonti e si sono concretizzate attraverso reti di collaborazioni lungimiranti e partenariati strategici con istituti e reti nazionali ed europee, che hanno condotto ACC ad essere co-partecipe di molte iniziative nazionali, europee ed internazionali.

L'obiettivo della rete di ACC è promuovere lo sviluppo delle banche dei campioni oncologici nelle strutture di ricerca, realizzate sulla base di protocolli omogenei per la raccolta, la manipolazione, la conservazione e la distribuzione dei campioni di tessuto neoplastico e normale.

Parallelamente, ACC, in piena armonia con gli obiettivi dell'infrastruttura europea BBMRI, collabora alla valorizzazione ed incremento dell'eccellenza scientifica della ricerca biomedica europea, e al miglioramento ed espansione della competitività della ricerca e dell'industria biotecnologica nel contesto nazionale, europeo e globale, attraendo investimenti da parte di industrie farmaceutiche e istituzioni di ricerca extraeuropee.

Partenariati nazionali

In ambito nazionale, ACC ha promosso in maniera sostanziale le attività di sensibilizzazione sulla attività delle biobanche, delle reti di bobanche, del Nodo Nazionale di BBMRI e sulle implicazioni positive che la partecipazione delle biobanche italiane a BBMRI potrebbe avere sulla ricerca scientifica e sulle attività economiche dell'Italia.

A Roma, il 14 aprile 2010, ACC ha collaborato con l'ISS alla realizzazione del Workshop: "The development of the Italian Network of Research Biobanks (INRB): perspectives for the participation in BBMRI". L'evento, che ha visto il coinvolgimento diretto del coordinamento europeo di BBMRI, si proponeva di aggiornare la comunità scientifica e politica sulle attività delle biobanche e reti italiane, di informare sugli sviluppi della infrastruttura BBMRI e di sollecitare il processo decisionale sulla eventuale partecipazione italiana al consorzio legale europeo di BBMRI.

A Genova, il 28 e 29 settembre 2010, in collaborazione con l'Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro di Genova e l'ISS, ACC ha organizzato il Convegno "La Partecipazione Italiana all'infrastruttura europea di ricerca delle Biobanche e delle risorse biomolecolari BBMRI". Il Convegno si proponeva di fare il punto sulla partecipazione italiana a BBMRI e sul ruolo di questa infrastruttura europea a sostegno della competitività e dello sviluppo industriale e quale strumento fondamentale per la costruzione di una società basata sulla conoscenza nel

settore delle scienze della vita. L'obiettivo è stato pienamente raggiunto, con una grande partecipazione, da tutta Italia, di biologi, medici, tecnici, ma anche esperti di questioni etiche e legali interessati al tema dello sviluppo e dell'integrazione in rete delle biobanche di diversa tipologia (oncologiche, di malattie rare, di patologie diverse, di popolazione). Molti dei partecipanti erano già inseriti nelle diverse reti che si sono costituite a livello nazionale e regionale, ma altri sono intervenuti per acquisire informazioni utili su come attivare una nuova biobanca conformemente alle direttive nazionali ed europee.

Tale evento, che temporalmente si inseriva a ridosso della costituzione da parte dell'ISS del Nodo Italiano di BBMRI, ha avuto notevole riscontro nella comunità politica, sociale e scientifica nazionale. Il convegno ha avuto l'importante funzione di dare voce alle molteplici componenti scientifiche e sociali che concorrono alla ricerca basata sulle risorse biologiche e biomolecolari e ha posto l'accento sul ruolo di BBMRI a sostegno della competitività e dello sviluppo industriale e quale strumento fondamentale per la costruzione di una società basata sulla conoscenza nel settore delle scienze della vita.

Inoltre, l'evento è stata una delle occasioni in cui si è iniziata la analisi del documento di Satolli et al: "From biobank to research biorepository: ethical and legal recommendations", indirizzato a promuovere un processo che conduca il paziente ad una possibile consapevole donazione dei propri campioni per la ricerca. ACC, anche in collaborazione con le associazioni dei pazienti tumorali, ha partecipato alla stesura di tale documento, contribuendo a promuovere e sensibilizzare verso la donazione dei propri tessuti in campo oncologico, che possa in un prossimo futuro facilitare la ricerca sul cancro tenendo conto delle esigenze e tutele etico-legali richieste dai pazienti. Tale documento è stato anche oggetto di un convegno tenutosi a Milano il 7 ottobre 2010 dal titolo "Le Banche dei Tessuti: è possibile donare le proprie cellule per la ricerca", organizzato dall'European Society Medical Oncology (ESMO) e dall'Associazione Italiana di Oncologia Medica (AIOM) (<http://www.aiom.it/Eventi-Congressi/Virtual+Meeting/1,33,1>).

A livello nazionale nel 2010 ACC ha anche attivamente collaborato con il Comitato Nazionale per la Biosicurezza, le Biotecnologie e le Scienze della Vita (CNBBSV) e l'ISS per la pianificazione della realizzazione presso l'ISS di un server dedicato e del relativo software per la gestione delle costituite reti nazionali di biobanche per ricerca.

Con il "Gruppo Misto" tra lo stesso CNBBSV e il Comitato Nazionale per la Bioetica (CNB), ACC ha inoltre collaborato alla redazione del documento "Raccolta di campioni biologici a fini di ricerca: consenso informato" (16 febbraio 2009).

Partenariati europei ed internazionali

I partenariati europei ed internazionali relativi al progetto sono:

- Attività di RIBBO nei prototipi di BBMRI

Nel dicembre 2009 BBMRI ha lanciato la proposta di istituire, in ogni Stato Membro dell'Unione Europea, un progetto pilota (prototipo) nazionale di rete di biobanche. ACC, impegnata a promuovere la rete italiana di biobanche oncologiche RIBBO, ha presentato questa rete quale progetto di prototipo per BBMRI. L'ISS, che ha coordinato il prototipo italiano, ha armonizzato tutti i progetti presentati sotto un unico "prototipo italiano" nella rete IRBN (*Italian Research Biobanks Networks*), che è confluito, per quanto attiene la ricerca oncologica nel "prototipo del Workpackage 3 di BBMRI".

I prototipi di BBMRI hanno lo scopo di promuovere iniziative di progetti pilota che riproducano le caratteristiche dei futuri nodi nazionali di BBMRI, come più ampiamente riportato ai siti: <http://www.bbmri-eric.it> e <http://www.bbmri-wp3proto.eu>.

Nel febbraio 2010 il “prototipo del WP3 di BBMRI” ha lanciato l’attività “How to Join”, cioè la formazione di un catalogo europeo comprendente 5 variabili aggregate delle biorisorse oncologiche.

Le biobanche afferenti alla rete RIBBO che hanno partecipato catalogo europeo di BBMRI hanno attivamente collaborato con il Nodo italiano delle biobanche (v. sezione Sintesi del progetto sull’infrastruttura BBMRI) ed il servizio IT dell’ISS affinché i dati aggregati delle loro collezioni fossero inseriti nel catalogo delle risorse oncologiche europee. Al termine di questa attività prototipale più 55000 campioni da più di 10000 donatori sono stati caricati sul catalogo di BBMRI.

I risultati del “prototipo del WP3 di BBMRI”, a cui l’Italia ha potuto partecipare grazie essenzialmente al contributo delle biorisorse della rete RIBBO di ACC, sono riportati nel sito <http://www.bbmri-wp3proto.eu/>.

– *Attività di sostegno di ACC per la partecipazione alle attività europee di BBMRI*

L’azione a sostegno della internazionalizzazione delle attività delle biobanche di ACC si è anche concretizzata nel supporto della partecipazione agli incontri di lavoro dei working group (WG) di BBMRI che si sono tenuti nel 2010:

- WP1&7 meeting, 8-9 aprile 2010 a Malta-La Valletta;
- WP7 di BBMRI meeting, 8 giugno 2010 a Bruxelles;
- WP2 Prototype meeting, 22 settembre 2010 a Amsterdam;
- BBMRI WP3 Prototype meeting, 22 settembre 2010 a Amsterdam;
- WP1&7 meeting, 27 ottobre 2010, Bruxelles;
- WP1&7 e SC meeting, 9 dicembre 2010 a Monaco.

ACC ha inoltre sostenuto la partecipazione italiana ai congressi internazionali di BBMRI:

- Stakeholder’s Forum Meeting “The European Biobanking Research Infrastructure: A Step Closer”, 9 giugno 2010, Brussels
- “Biobanking for Science” 23-25 settembre 2010, Amsterdam

ACC ha anche supportato la partecipazione italiana al Public Hearing:

“Health-related Research Infrastructures and their Contribution to the EU’s Grand Challenges”; Showcasing BBMRI, ECRIN, and ERINHA, che si è tenuto il 26 ottobre 2010 al Parlamento Europeo in sostegno delle attività delle infrastrutture in ambito europeo.

ACC, inoltre, supporta l’integrazione delle biobanche a livello globale e ha sostenuto la partecipazione italiana al “Joint human & microbial domain GBRCN pilot phase meeting” tenutosi a Vienna il 29-30 novembre 2010 (http://www.gbrcn-human.org/index.php?article_id=3), il cui scopo era mettere le basi per la costruzione del "Global BRC network - GBRCN" nel campo delle biobanche di materiale umano, in sinergia con il progetto già avviato nel campo dei microrganismi e delle linee cellulari (<http://www.gbrcn.org/index.php>) finanziato fino a fine 2011 dal ministero tedesco della ricerca.

Conclusioni e prospettive future

I principi alla base della infrastruttura BBMRI e le basi necessarie per una partecipazione italiana adeguata sono l’eccellenza scientifica e la rilevanza delle istituzioni partecipanti, la prospettiva a lungo termine dei progetti di *biobanking*, la trasparenza delle finalità, un’organizzazione efficiente e flessibile, la valorizzazione delle risorse esistenti in termini di strutture e competenze.

È evidente che la capacità di sviluppare reti di biobanche efficienti e ben strutturate è indispensabile nel campo dell'oncologia anche per disegnare studi strutturati come trial clinici di fase II e III, per la convalida e il trasferimento dei biomarcatori alla terapia, per un miglioramento della diagnosi e un'azione preventiva dei tumori più incisiva. ACC ha in modo lungimirante sostenuto questa prospettiva e certamente gli obiettivi scientifici raggiunti e i recenti riconoscimenti politici della attività delle biobanche a livello nazionale devono essere attribuiti anche all'azione di supporto diretto ed indiretto che ACC ha svolto per la realizzazione di una rete nazionale oncologica e per la internazionalizzazione della attività delle biobanche.

La recente costituzione del nodo nazionale di BBMRI costituisce un momento di forte spinta all'organizzazione efficiente del Nodo italiano, alla definizione dei criteri di qualità delle singole biobanche e al rafforzamento delle reti nazionali delle biobanche, che potrà essere perseguita solo se adeguatamente sostenuta da un supporto finanziario necessario a raggiungere questi obiettivi.

Publicazioni conseguite nell'ambito del progetto

Il progetto ha prodotto le seguenti pubblicazioni:

1. D'Agnolo G, Di Benedetto C, Roazzi P, Bravo E. Biobank networking: the European network initiative and the Italian participation. *Biopreservation & Biobanking* (in corso di stampa).
2. D'Agnolo G, Parodi B. Partecipazione di Alleanza contro il cancro alla European Bio-banking and Biomolecular Resource Infrastructure (BBMRI). In: Belardelli F, D'Alessandro F, Ferrantini M, Lombardo C, Moretti F (Ed.). *Costruzione dell'area europea della ricerca in biomedicina e contributo degli enti di ricerca del Servizio Sanitario Nazionale*. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2007. (Rapporti ISTISAN 07/27). p. 70-8.
3. Presidenza del Consiglio dei Ministri, Gruppo Misto Comitato Nazionale per la Bioetica, Comitato Nazionale per la Biosicurezza, le Biotecnologie e le Scienze della Vita. *Raccolta di campioni biologici a fini di ricerca: consenso informato*. Disponibile all'indirizzo: http://www.governo.it/bioetica/gruppo_misto/Consenso_Informato_allegato_Petrini_2009.pdf; ultima consultazione: 21/01/10
4. Parodi B, Truini M. Biobanks: state of the art in Italy, Europe and the US. *Pathologica* 2008;100:55-66.
5. Pierotti MA, Claudio Lombardo C (Ed.). *From biobank to research biorepository: ethical and legal recommendations. An initiative of the Independent Ethics Committee Fondazione IRCCS "Istituto Nazionale dei Tumori – Milano"*. Brussels: Organisation of European Cancer Institutes; 2010.

Presentazioni a Meeting nazionali e/o internazionali:

1. Bravo E. Il Nodo Italiano di BBMRI. In: Parodi B, Visconti P, d'Alessandro F, Ruzzon T, Lombardo C (Ed.). *La partecipazione italiana all'infrastruttura europea delle biobanche e delle risorse biomolecolari-BBMRI*. Centro Congressi IST, Genova, 28-29 settembre 2010. Libro degli Atti. p. 40-42.
2. D'Agnolo G, Bravo E. The Italian Prototype Networks of Research Biobanks. In: *Proceedings of the international conference "Comparative Issues in the Governance of Research Biobanks: Property, Privacy, Intellectual Property and the Role of Technology"*. Trento, 7-8 maggio 2010 (in corso di stampa).

3. Lombardo C, Pierotti M, Paradiso A, Parodi B, d'Alessandro F, Spagnoli LG. Gli interventi di Alleanza Contro il Cancro a sostegno della partecipazione italiana all'infrastruttura europea delle biobanche e risorse biomolecolari.. In: Parodi B, Visconti P, d'Alessandro F, Ruzzon T, Lombardo C (Ed). *La partecipazione italiana all'infrastruttura europea delle biobanche e delle risorse biomolecolari-BBMRI*. Centro Congressi IST, Genova, 28-29 settembre 2010. Libro degli Atti. p. 25-7.
4. Parodi B, D'Agnolo G. L'infrastruttura Europea delle biobanche. In: Parodi B, Visconti P, d'Alessandro F, Ruzzon T, Lombardo C (Ed). *La partecipazione italiana all'infrastruttura europea delle biobanche e delle risorse biomolecolari-BBMRI*. Centro Congressi IST, Genova, 28-29 settembre 2010. Libro degli Atti. p. 18-22.

PARTECIPAZIONE A ECRIN - EUROPEAN CLINICAL RESEARCH INFRASTRUCTURES NETWORK

Flavia Pricci (a), Filippo Belardelli (a), Silvio Garattini (b), Giancarlo Palmieri (c), Maria Romero (a, d), Armando Santoro (e), Marika Villa (a), Claudio Lombardo (b, f)

(a) *Dipartimento di Biologia Cellulare e Neuroscienze, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(b) *Istituto di Ricerche Farmacologiche "Mario Negri" (IRFMN), Milano*

(c) *Consorzio italiano per la Ricerca in Medicina (CIRM), Milano*

(d) *Alleanza Contro il Cancro, Roma*

(e) *Direzione Ricerca Clinica, Istituto Clinico Humanitas, Milano*

(f) *Rapporti Scientifici Internazionali, Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro, Genova*

Introduzione

La ricerca clinica rappresenta uno strumento imprescindibile per lo sviluppo di nuovi strumenti di prevenzione, diagnosi e terapia e per l'introduzione e l'ottimizzazione del loro uso nella gestione delle malattie e nel sistema sanitario. La sperimentazione clinica svolge quindi un ruolo fondamentale nel progresso delle conoscenze scientifiche che mirano alla comprensione dei meccanismi alla base dell'eziologia, della progressione e della resistenza alle terapie, per lo sviluppo di terapie innovative e per il sostegno all'economia dei sistemi sanitari. Queste considerazioni sono alla base della raccomandazione veicolata dallo *European Strategy Forum for Research Infrastructures* (ESFRI) (http://ec.europa.eu/research/infrastructures/index_en.cfm?pg=esfri) che nell'ambito della sua prima roadmap, ha evidenziato la necessità di realizzare una infrastruttura pan-europea a supporto della la ricerca clinica e in grado di favorire in Europa l'avvio di studi clinici multinazionali evidence-based. Tale raccomandazione ha identificato nel progetto *European Clinical Research Infrastructures Network* (ECRIN), precedentemente finanziato dalla Commissione europea, il nucleo catalizzatore per la realizzazione di tale infrastruttura.

ECRIN si propone quindi di promuovere la ricerca clinica indipendente sostenendo la conduzione di studi clinici multinazionali attraverso consulenze e servizi, sia durante la preparazione del protocollo sperimentale che, previa accettazione del Comitato Scientifico di ECRIN, durante la conduzione dello studio.

Il progetto ECRIN è stato finanziato nell'ambito del Sesto Programma Quadro come a) ECRIN-RKP (*Reciprocal Knowledge Programme*), con lo scopo di identificare i principali ostacoli allo svolgimento della cooperazione multinazionale nella ricerca clinica, e b) ECRIN-TWG (*Transnational Working Groups*) con lo scopo di definire procedure e linee guida a supporto di ricercatori e sponsor in progetti di ricerca clinica transnazionale. Con il Settimo Programma Quadro, come conseguenza della raccomandazione inserita nella prima roadmap dell'ESFRI, è stato finanziato il progetto ECRIN-PPI (*Preparatory Phase for the Infrastructure*), con l'obiettivo primario di realizzare l'infrastruttura e di sostenere studi clinici multinazionali pilota.

Attualmente sono in corso le procedure per l'applicazione di ECRIN ad acquisire lo status legale di ERIC (*European Research Infrastructure Consortium*), cioè di struttura europea legalmente riconosciuta, che si prevede possano concludersi entro il 2011. In base al regolamento ERIC, la richiesta ad acquisire tale status legale deve essere presentata al Parlamento Europeo corredata di statuto firmato dai Ministri degli Stati Membri che intendono

partecipare all'ERIC, come testimoniato dalla sottoscrizione di un Memorandum of Understanding, e di allegati tecnici e scientifici. Il passaggio ad ECRIN-ERIC comporta, infatti, che la sua sostenibilità sia assicurata dal contributo degli Stati Membri.

Partenariato nazionale ed europeo

In ECRIN sono rappresentati 14 Paesi europei (Austria, Belgio, Danimarca, Finlandia, Francia, Germania, Ungheria, Irlanda, Italia, Polonia, Spagna, Svezia, Svizzera e Regno Unito) che partecipano principalmente con reti nazionali di centri che svolgono attività assistenziale e ricerca clinici (nodi) o con istituzioni direttamente o indirettamente coinvolte nella sperimentazione clinica. Tutte le istituzioni o nodi nazionali sono connessi al coordinamento, che ha sede in Francia presso l'INSERM, dagli European Correspondents.

I nodi nazionali rappresentano l'unità base di ECRIN e sono composti da una rete di centri di ricerca clinica (CRC) e di unità cliniche (CTU), universitari e ospedalieri, generalmente coordinati da istituzioni sanitarie pubbliche e organizzati in un network, allo scopo di facilitare l'accesso ai pazienti e le interazioni scientifiche. La rete nazionale supporta sia i ricercatori che gli *sponsors* fornendo informazioni sulla cornice normativa per quanto riguarda gli aspetti regolatori, legali etici, e di farmacovigilanza, e supporto riguardo alle interazioni con le autorità competenti e i comitati etici, così come sull'individuazione dei centri clinici, sul sistema assicurativo oppure sulle attività di monitoring e di gestione ed elaborazione dei dati.

La partecipazione italiana a ECRIN è stata finora rappresentata da tre istituzioni indipendenti: Istituto Superiore di Sanità (ISS), Istituto di Ricerche Farmacologiche "Mario Negri" (IRFMN) e Consorzio italiano per la Ricerca in Medicina (CIRM). Tali istituzioni hanno partecipato attivamente alla fase progettuale complessiva di ECRIN. Ad esempio, l'ISS, ha partecipato a ECRIN-PPI su mandato del MIUR come istituzione coordinatrice della partecipazione dell'Italia, che includeva anche Alleanza Contro il Cancro (ACC), ha avuto la responsabilità del WP dedicato a valutare le risorse esistenti e le esigenze a livello europeo in termini di laboratori per la produzione di biofarmaci conforme alle Good Manufacturing Practices (GMP) e a stabilire le priorità per la loro pianificazione, sviluppo e interazione in rete.

Di recente, in vista della costituzione della ECRIN-ERIC, e, quindi, del passaggio alla fase operativa, il Ministro della Salute ha inteso affidare formalmente all'ISS il compito di costituire il nodo nazionale italiano di ECRIN, similmente a quanto realizzato in precedenza dagli altri Paesi partecipanti in ECRIN.

La partecipazione italiana alla futura ECRIN-ERIC rappresenta una importante occasione per la promozione della ricerca clinica italiana in quanto fornisce la possibilità di partecipare a studi internazionali indispensabili in numerose aree di patologia, quali le malattie rare, pediatriche, oncologiche, cardiovascolari, neurologiche, così come ad aree trasversali quali la nutrizione e i dispositivi medici, rappresentando, quindi, uno strumento indispensabile per il progresso scientifico del nostro paese. È importante tenere conto che un sistema di facilitazione della ricerca clinica comporta, inoltre, ricadute positive per l'assistenza sanitaria, proprio in virtù del miglioramento delle conoscenze scientifiche, e per le imprese, vista la difficoltà, soprattutto delle piccole e medie aziende coinvolte in attività produttive in ambito sanitario, a proporre studi clinici di portata internazionale.

Sintesi del progetto

Scopo di ECRIN è di favorire studi clinici multinazionali con particolare riguardo alla ricerca clinica indipendente. Tale attività è basata essenzialmente sull'offerta di informazioni e servizi specificatamente individuati e messi a punto per questo tipo di studi. In particolare si tratta di consulenza e supporto necessari durante lo sviluppo della sperimentazione clinica., in termini di adattamento del protocollo clinico ai contesti nazionali, di requisiti regolatori ed etici, di individuazione di istituti di cura per il reclutamento dei pazienti, di informazioni sui sistemi assicurativi, di valutazione di costi e opportunità di finanziamento. ECRIN si prefigge di rendere disponibili anche a servizi necessari alla conduzione dello studio, quali sottomissione del protocollo clinico e interazione con le autorità competenti e i comitati etici, supporto alla elaborazione e stipula dei contratti di assicurazione, comunicazione degli eventi avversi, monitoraggio e gestione dei dati, formazione del personale, gestione delle banche biologiche.

Attualmente sono in corso diverse attività sia a livello europeo che a livello nazionale.

Per quanto riguarda gli aspetti internazionali, è stato richiesto il prolungamento del progetto ECRIN-PPI a dicembre 2011 per consentire la conclusione delle procedure per il passaggio ad ERIC senza interruzione delle attività. Il progetto ha consentito di mettere a punto importanti strumenti di formazione e comunicazione, ha raccolto informazioni sulle problematiche della ricerca clinica multinazionale e sono in corso diversi studi clinici pilota multinazionali approvati dal Comitato Scientifico, con il supporto della infrastruttura di ECRIN.

ECRIN ha, inoltre, presentato un progetto all'interno del Settimo Programma Quadro nell'area specificamente dedicata all'implementazione di infrastrutture di ricerca europee (*FP7-INFRASTRUCTURES-2011-1.1.5: Facilities and resources for multinational clinical trials*) della durata di 4 anni. Il progetto si propone di sviluppare ulteriormente l'infrastruttura attraverso l'adesione di altri Paesi europei, la realizzazione di una migliore interazione tra pazienti e ricercatori, il supporto delle connessioni tra le reti di ricerca, lo sviluppo di strumenti di gestione e elaborazione dei dati nonché di monitoraggio adeguati agli studi multinazionali, e la partecipazione al finanziamento di progetti di ricerca clinica multinazionale. Questo progetto prevede una particolare attenzione allo sviluppo di reti dedicate ad aree specifiche quali malattie rare, nutrizione e dispositivi medici.

A livello nazionale, il Ministro della Salute ha firmato il *Memorandum of Understanding*, sottoscritto anche da Francia, Spagna e Germania, che rappresenta l'interesse dell'Italia a partecipare alla costituzione di ECRIN-ERIC, e ha dato all'Istituto Superiore di Sanità il compito di strutturare e coordinare il nodo nazionale. Il Presidente dell'ISS ha, quindi, nominato un Responsabile del Nodo Nazionale e il Comitato per il Nodo Nazionale di ECRIN, cui partecipano rappresentanti dell'ISS e delle istituzioni coinvolte in tale tipo di attività e che si riunirà regolarmente a scopo consultivo. Per la costituzione del nodo nazionale, si procederà all'individuazione dei CRC e delle CTU italiani che faranno parte del nodo nazionale in base alla loro esperienza in studi clinici multinazionali e alle aree tematiche in cui operano, tenendo in considerazione in particolare le aree che più probabilmente saranno oggetto dell'attività di ECRIN. La costituzione di tale rete nazionale è strumentale per rispondere alle necessità di supporto degli studi clinici multinazionali che ECRIN si propone di fornire. Le attività del nodo nazionale, infatti, devono poter rispondere a tutte le possibili esigenze di un proponente/*sponsor* a partire dalla fase di progettazione, fino alla fase di implementazione e monitoraggio di studi clinici multicentrici e transnazionali di fase avanzata (IIb-III-IV).

Conclusioni e prospettive future

Una infrastruttura europea per la ricerca clinica indipendente rappresenta una occasione unica di crescita per la ricerca biomedica e per gli investimenti in nuove opportunità terapeutiche. Dati consolidati mostrano, infatti, una notevole riduzione del numero di studi clinici in Europa rispetto agli Stati Uniti o alle Nazioni emergenti. Tale situazione dipende sia dalla riduzione delle possibilità di finanziamento e investimento che da difficoltà attuative nella progettazione e conduzione di studi clinici, con particolare riferimento a quelli di fase avanzata che sono caratterizzati da costi particolarmente ingenti. Una infrastruttura in grado di facilitare questi studi consentirebbe alla ricerca clinica accademica di poter condurre i propri studi a costi minori, con un conseguente impatto positivo sulla qualità ed efficienza della ricerca clinica globalmente.

La costituzione del nodo nazionale italiano è, quindi, fondamentale per consentire una corretta e produttiva interazione con l'Europa sia dal punto di vista scientifico che da quello dei finanziamenti e potrà essere la base per rilevanti collaborazioni nazionali e internazionali, che assumono importanza ancor più evidente, nel caso di studi sia su patologie rare che su malattie croniche. Parte delle attività di promozione della partecipazione italiana ad ECRIN, portate avanti dall'ISS, sono state sostenute anche nell'ambito del programma 4 del progetto "ISS per ACC". L'oncologia rappresenta, infatti, una parte rilevante di tutte le sperimentazioni cliniche in Italia e in Europa e quindi lo sviluppo di ECRIN e di una partecipazione forte e coordinata del Paese a questa infrastruttura di ricerca potrà avere ricadute rilevanti per la ricerca sul cancro, in particolare nelle situazioni in cui è necessario ricorrere a studi multinazionali, per favorire il reclutamento di pazienti da inserire in sperimentazioni cliniche per tumori rari e per l'individuazione di nuove strategie di prevenzione, diagnosi e terapia dei tumori. Con il recente incarico formale del Ministro della Salute all'ISS di coordinare il nodo nazionale per ECRIN si sono oggi create le condizioni per coinvolgere sempre di più gli istituti di ACC in grado di rappresentare CRC e CTU oncologici italiani che faranno parte del nodo nazionale in base all'esperienza dei centri in studi clinici multinazionali.

Pubblicazioni conseguite nell'ambito del progetto

Il progetto ha prodotto le seguenti pubblicazioni:

1. Bertelé V, Garattini S. From the top. Medical science research. *Public Service Review. European Union* 2010;20:162-3.
2. Demotes-Mainard J, Kubiak C. Clinical research in Europe. *Public Service Review. European Union* 2010;19:184-5.
3. Demotes-Mainard J, Ohmann C. European Clinical Research Infrastructures Network: promoting harmonisation and quality in European clinical research. *Lancet* 2005;365:107-8.
4. Frewer LJ, Coles D, Champion K, Demotes-Mainard J, Goetbuget N, Ihrig K, Klingmann I, Kubiak C, Lejeune SA, McDonald F, Apperley J. Has the European Clinical Trials Directive been a success? *BMJ* 2010;340:c1862.
5. Johansson H, Souri P, Lafolie P. The EU is hard on the clinical research - ECRIN build bridges for clinical trials Swedish physicians journal. *Läkartidningen* 2010;117:2384-5.
6. Kuchinke W, Ohmann C, Yang Q, Salas N, Lauritsen J, *et al.* Heterogeneity prevails: the state of clinical trial data management in Europe - results of a survey of ECRIN centres. *Trials* 2010;11:79.

7. Whitfield K, Huemer KH, Winter D, Thirstrup S, Libersa C, Barraud B, Kubiak C, Stankovski L, Grahlert X, Dreier G, Geismann S, Kuchinke W, Strenge-Hesse A, Temesvari Z, Blasko G, Kardos G, O'Brien T, Cooney M, Gaynor S, Schieppati A, Serrano M, de Andres F, Sanz N, Hernandez R, Kreis G, Asker-Hagelberg C, Johansson H, Asghar A, Husson JM, Demotes J, Gluud C. Compassionate use of interventions: results of a European Clinical Research Infrastructures Network (ECRIN) survey of ten European countries. *Trials* 2010;11:104.

EUROPEAN ADVANCED TRANSLATIONAL RESEARCH INFRASTRUCTURE IN MEDICINE (EATRIS)

Filippo Belardelli (a), Gemma Calamandrei (a), Cintia Carella (a), Gianluigi Condorelli (b), Marco Crescenzi (a), Maria Grazia Daidone (c), Francesca D'Alessandro (d), Maria Ferrantini (a), Maria C. Galli (a), Mauro Giacomini (e), Annarita Meneguz (f), Cristina Messa (g), Giovanni Migliaccio (a), Franca Moretti (a), Carlo Petrini (h), Maria Picchio (i), Franca Podo (a,d), Paola Rizza (a), Maria Romero (a,d), Mario Salmona (l), Ugo Visconti (a,d), Claudio Lombardo (d, m)

(a) *Dipartimento di Biologia Cellulare e Neuroscienze, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(b) *Dipartimento di Medicina, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Roma*

(c) *Dipartimento di Oncologia Sperimentale e Medicina Molecolare; Fondazione IRCCS, Istituto Nazionale dei Tumori, Milano*

(d) *Alleanza Contro il Cancro, Roma*

(e) *Dipartimento di Informatica Sistemistica e Telematica, Università di Genova, Genova*

(f) *Dipartimento del Farmaco, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(g) *Facoltà di Medicina e Chirurgia, Ospedale San Gerardo, Centro di Bioimmagini Molecolari, Monza*

(h) *Unità di Bioetica, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(i) *Dipartimento di Medicina Nucleare e Centro PET, Istituto Scientifico H. S. Raffaele, Milano*

(l) *Dipartimento di Biochimica e Farmacologia Molecolare; Istituto di Ricerche Farmacologiche "Mario Negri", Milano*

(m) *Rapporti Scientifici Internazionali Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro, Genova*

Introduzione

I notevoli progressi compiuti dalla ricerca biomedica negli ultimi venti anni hanno portato ad un formidabile aumento delle potenzialità di applicazione dei risultati della ricerca in campo medico e sanitario. Tuttavia, la possibilità concreta di traslare le importanti scoperte della ricerca di base dal laboratorio alla loro applicazione clinica e eventuale sviluppo industriale si è rivelata in questi ultimi anni sempre più difficoltosa per un complesso di motivi, che hanno spinto la comunità scientifica e i governi nazionali ad intraprendere iniziative di promozione della "ricerca traslazionale". Nel percorso traslazionale che include tutte le fasi previste per l'immissione di un farmaco sul mercato, vale a dire gli studi pre-clinici e quelli clinici di fase I, II (distinti in IIa e IIb) e III, sono stati identificati alcuni 'colli di bottiglia' che rallentano il processo di trasferimento. Tra essi, l'assenza o la natura frammentata di infrastrutture di ricerca dedicate alla medicina traslazionale emerge come ostacolo determinante per un efficiente sviluppo di nuovi farmaci e strategie terapeutiche innovative a partire dai risultati della ricerca sviluppata in ambienti accademici, dove spesso mancano le strutture e competenze necessarie per affrontare il passaggio che porta dalla scoperta di scientifica all'allestimento di una documentazione complessa necessaria per l'avvio di una fase clinica sperimentale nell'uomo. Occorre inoltre creare nuovi modelli di interazione, basati su criteri di trasparenza e sinergismo, tra industriale accademia e industria, anche attraverso la creazione di infrastrutture di ricerca promosse da istituzioni pubbliche e governative, in un'ottica di comune interesse per lo sviluppo della ricerca sanitaria e della competitività del paese.

Il progetto di infrastruttura di ricerca pan-europea *European Advanced Translational Research InfraStructure in Medicine* (EATRIS) nasce con lo scopo di promuovere e sostenere una traslazione più rapida ed efficiente delle scoperte scientifiche in biomedicina verso lo sviluppo di prodotti e approcci innovativi per la prevenzione, la diagnosi e il trattamento delle

patologie di maggior interesse ed elevato impatto sanitario ed economico per i paesi membri della Comunità Europea.

EATRIS è una delle infrastrutture di ricerca identificata come prioritaria dallo *European Strategy Forum on Research Infrastructure* (ESFRI) nella sua prima Roadmap pubblicata nel 2006 e il progetto di fase preparatoria è stato finanziato dalla Commissione Europea nell'ambito del Settimo Programma Quadro. Alla fase preparatoria, iniziata nel 2008 e terminata a dicembre 2010, hanno partecipato Danimarca, Finlandia, Francia, Germania, Italia, Paesi Bassi, Norvegia, Regno Unito, Svezia e Spagna.

EATRIS fornirà supporto a progetti di ricerca traslazionale che abbiano già superato la fase del *proof-of-principle*, cioè dell'indicazione di potenziale fattibilità e utilità della traduzione di una scoperta scientifica in una applicazione clinica. EATRIS sarà in grado di sostenere tutte le fasi del processo traslazionale fino alla fase di *proof-of-concept* nell'uomo, cioè fino alla sperimentazione clinica di fase I-IIa, favorendo sia la ricerca accademica *no-profit* con importanti ricadute sanitarie potenziali, sia le fasi di ricerca e sviluppo orientate ad un trasferimento dei risultati all'industria che proseguirà nella fase di sviluppo e commercializzazione. Un primo nucleo di aree di patologia oggetto di interesse di EATRIS include cancro, malattie metaboliche, malattie neurologiche, malattie cardiovascolari e malattie infettive. Particolare attenzione sarà dedicata alle malattie rare e orfane. È prevista l'inclusione di altre patologie dopo il consolidamento della fase operativa dell'infrastruttura.

EATRIS fornirà un'ampia gamma di servizi, consentendo da una parte l'accesso alle infrastrutture europee più all'avanguardia per la sperimentazione preclinica e clinica, dall'altra offrendo consulenze che riguarderanno, ad esempio, definizione di piani di sviluppo per specifici prodotti o strategie da un punto di vista sia tecnico-scientifico che economico-finanziario, aspetti inerenti al diritto di proprietà intellettuale, agli aspetti regolatori ed etici, ai costi trasferimento tecnologico e all'interazione con l'industria. Un'altra importante tipologia di servizio che EATRIS offrirà riguarda l'attività di formazione su aspetti critici particolarmente rilevanti per la ricerca traslazionale, quali gli aspetti regolatori ed etici e la formazione di ricercatori di laboratorio e clinici sulle diverse fasi di sviluppo preclinico e clinico, in modo da promuovere una cultura condivisa dell'intero processo traslazionale. EATRIS offrirà i suoi servizi a varie tipologie di utenti che includono ricercatori di base e clinici che operano nel settore della biomedicina in ambito universitario, in istituti di ricerca oppure in piccole-medie imprese che mancano delle infrastrutture e competenze necessarie per far procedere i loro progetti di ricerca dallo stadio di scoperta alla fase di studio preclinico e/o clinico.

L'infrastruttura EATRIS è basata su Centri (*Translational Centres*), nei quali le strutture fisiche (laboratori e *facilities*) di elevato standard qualitativo sono associate a competenza scientifica di eccellenza ed elevata professionalità nella gestione del processo traslazionale. I Centri EATRIS sono costituiti da istituzioni di ricerca biomedica e clinica con esperienza di ricerca traslazionale, che dedicano parte della propria infrastruttura (laboratori, *facilities*, *expertise*, *know-how*, personale qualificato) a EATRIS e integrano le proprie attività in modo da costituire un nucleo in cui siano presenti tutte le discipline e le competenze richieste per il percorso traslazionale.

Nell'ambito delle aree delle patologie sopra menzionate, EATRIS ha identificato un insieme di prototipi di prodotti (*product prototype*) per i quali avviare il piano di sviluppo e giungere in tempi brevi a poter fornire servizi specifici. I prototipi di prodotti individuati da EATRIS includono: agenti diagnostici (con particolare riferimento a *Tracers per imaging*), i Prodotti Medicinali per Terapie Avanzate (PMTA), i farmaci a piccole molecole (*Small Molecules*), i Biomarcatori e i Vaccini. Per ciascun prototipo di prodotto è stata creata una *Task Force* con funzioni di coordinamento dei vari Centri nazionali in grado di fornire servizi per quel prodotto.

La realizzazione dell'infrastruttura EATRIS è articolata in tre fasi: una fase preparatoria (triennale, dal 2008 al 2010) da poco conclusa, una fase di transizione/costruzione che consentirà di verificare le capacità dei vari Centri di fornire servizi e di coordinarsi/cooperare tra loro, e la fase operativa dell'infrastruttura.

Aggiornamento sullo stato di avanzamento del progetto EATRIS

Il 31 dicembre 2010 è terminata la fase preparatoria del progetto EATRIS, iniziata nel 2008. L'obiettivo della fase preparatoria era di definire un concetto sostenibile a lungo termine di infrastruttura pan-europea per la ricerca traslazionale, mediante la realizzazione di uno *status* legale, la definizione delle condizioni e regole di accesso all'infrastruttura stessa e di un piano finanziario sostenibile per la sua operatività. A questi impegni vanno aggiunte la necessità di definire un nuovo concetto di formazione di figure professionali esperte in ricerca traslazionale, un sistema per l'armonizzazione dei metodi della ricerca traslazionale e di metodologie che favoriscano e garantiscano il rispetto degli aspetti regolatori ed etici. Alla fase preparatoria hanno partecipato i rappresentanti governativi dei Paesi membri del consorzio EATRIS, e i rappresentanti scientifici delle istituzioni nazionali designate dai rappresentanti governativi. I rappresentanti governativi e quelli scientifici, nominati dai governi dei Paesi membri di EATRIS, intendono adottare per EATRIS lo *status* legale di *European Research Infrastructure Consortium* (ERIC), come stabilito dalla Council Regulation (EC) n° 723/2009 del 25 giugno 2009. È stato recentemente firmato dai diversi partner governativi un *Memorandum of Understanding* che rappresenta il primo passaggio di impegno dei paesi verso la costituzione dello stato legale della infrastruttura di ricerca EATRIS-ERIC.

Gli ultimi mesi della fase preparatoria sono stati caratterizzati dalla definizione delle iniziative da avviare e da una notevole accelerazione nella loro implementazione con lo scopo di ridurre il più possibile la durata della fase di transizione. Con l'avvio della fase di transizione nel 2011, EATRIS intende iniziare un processo sperimentale di apertura dell'infrastruttura agli utenti. Dal 1° gennaio 2011 i rappresentanti governativi intendono stabilire una *Implementation Phase* il cui obiettivo è iniziare l'erogazione di servizi da parte dei Centri partecipanti a EATRIS. La struttura di coordinamento centrale di EATRIS, o *Coordination & Support* (C&S), intende avviare una fase di verifica interna dell'infrastruttura sia a livello del coordinamento centrale che a livello delle varie componenti di servizio, mediante la selezione e successiva implementazione in tempi brevi di Progetti Pilota.

Il nodo italiano e ISS/ACC

Durante tutta la fase preparatoria del progetto, diversi colleghi dell'ISS e di altre istituzioni e reti, inclusa ACC, hanno partecipato attivamente alle attività dei vari *Work Package* (WP). In particolare, l'ISS è stato responsabile del WP8 (*Regulatory issues relevant for a joint EATRIS infrastructure*) che aveva come scopo la definizione di un insieme di regole e raccomandazioni condivise dai vari centri EATRIS riguardanti gli aspetti etici e regolatori importanti per la ricerca traslazionale in medicina. Il lavoro svolto finora ha portato alla pubblicazione dei seguenti documenti: i) *First-In-Man Manual*, ossia un manuale contenente le informazioni di rilievo per lo sviluppo di un IMP (*Investigational Medicinal Product*) dal laboratorio alla prima somministrazione a volontari/pazienti in studi clinici di fase I; ii) un documento riguardante la

sperimentazione animale nei vari Paesi partecipanti ad EATRIS nel quale sono state raccolte le raccomandazioni generali che potrebbero essere condivise in fase di sviluppo dell'infrastruttura; iii) un documento sugli aspetti etici della ricerca traslazionale. È in fase di preparazione un documento che proporrà un modello di gestione di uno studio clinico *First-In-Man* (FIM) applicato a un Prodotto Medicinale per Terapie Avanzate (PMTA).

L'ISS ha altresì partecipato attivamente al WP9 (*Extension during Preparatory Phase & Dissemination*), organizzando lo *Stakeholders Meeting* (Roma, 7-8 ottobre 2010) che ha visto la partecipazione dei partner governativi e scientifici di tutti i paesi partner in EATRIS.

ACC ha partecipato ai lavori: a) del WP7 (*Standardisation & Harmonisation of methods and data handling in EATRIS centres*), contribuendo alla realizzazione di un documento che tratta degli aspetti di standardizzazione e armonizzazione nella ricerca traslazionale; b) del WP5 (*Design of physical infrastructure*), riguardo all'identificazione delle specifiche caratteristiche strutturali necessarie per le varie infrastrutture dedicate allo sviluppo dei vari prototipi di prodotti; c) del WP2 (*Legal structure & governance of the operation phase*), per gli aspetti legali dell'infrastruttura EATRIS.

L'Italia ha assunto un ruolo rilevante nell'ambito del progetto, conseguendo il coordinamento di due delle cinque *Task Force* di EATRIS, e cioè quelle che riguardano i PMTA e le Piccole Molecole. Al momento l'attività delle due *Task Force* è rivolta alla preparazione di documenti a carattere "promozionale" rivolti sia all'industria che all'accademia. Infine, l'ISS ha lavorato in sinergia con il Ministero della Salute per la partecipazione alla selezione dell'ufficio del C&S di EATRIS, con la preparazione di un *Bidding Book* per la candidatura italiana, e per la nomina di Direttore Scientifico, proponendo un candidato proveniente dall'ISS. L'ufficio C&S di EATRIS è stato assegnato all'Olanda, a seguito di votazione dei partner governativi. Il ruolo di Direttore Scientifico di EATRIS è stato assegnato a Giovanni Migliaccio, Direttore del Reparto di Terapia Genica e Cellulare del Dipartimento di Biologia Cellulare e Neuroscienze dell'ISS.

Partenariato nazionale

La *Italian Advanced Translational Research InfraStructure* (IATRIS) rappresenta il Centro italiano di EATRIS. La IATRIS è in realtà un nodo, essendo costituita da una rete di istituzioni che comprende l'ISS, Alleanza Contro il Cancro (ACC), il Network Italiano per l'Imaging Molecolare (IMINET), l'Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri (IRFMN) e il CNR. La IATRIS è coordinata dall'ISS, in virtù del mandato affidato dal MIUR a tale istituzione e confermato dal Ministero della Salute che partecipa al progetto EATRIS come partner governativo.

Le istituzioni partecipanti alla IATRIS sono state indicate come referenti principali per competenze e servizi per la medicina traslazionale per specifici prototipi di prodotti come di seguito specificato:

- Dipartimento di Biologia Cellulare e Neuroscienze dell'ISS: PMTA
- IMINET: *Tracers per imaging*
- Dipartimento di Medicina Sperimentale del CNR: *Small Molecules*
- IRFMN: *Small Molecules*
- ACC: Biomarcatori, PMTA, *Small Molecules* (la rete degli IRCCS oncologici afferenti ad ACC potrà rendere disponibili le unità cliniche per gli studi di fase I-IIa).

È stato attivato il sito web della IATRIS (www.iatris.it) quale strumento di comunicazione tra i membri della IATRIS e la comunità scientifica nazionale e in particolare con i potenziali utenti.

All'interno della IATRIS è stato poi istituito il RIMTA (Rete Italiana per i Medicinali per Terapie Avanzate), ovvero la rete dei centri nazionali che si occupano di ricerca traslazionale nel campo dei PMTA, coordinata dall'ISS. Gli istituti al momento coinvolti nel RIMTA sono: tre IRCCS membri di ACC [Fondazione San Raffaele del Monte Tabor (HSR), Istituto Dermatologico dell'Immacolata (IDI) e Istituto Ortopedico Rizzoli (IOR)], il Centro di Medicina Rigenerativa "Stefano Ferrari", e l'Istituto Mediterraneo per i Trapianti e Terapie ad Alta Specializzazione (ISMETT).

Tali istituti sono stati identificati sulla base dell'esistenza di competenze precedenti documentate da *site visits* e incontri informativi sulle tipologie di produzioni specifiche di PMTA per studi clinici. Le istituzioni aderenti al RIMTA partecipano alla IATRIS come Associated Partners. È prevista l'adesione al RIMTA di altri membri di ACC e di altri Centri nazionali impegnati in attività di ricerca traslazionale consolidata nel settore dei PMTA. All'avvio delle attività collegate alla identificazione dei Centri EATRIS per i prototipi di prodotti, l'ISS ha organizzato il workshop EATRIS sui PMTA, mentre l'IRFMN ha curato la realizzazione di quello per le Piccole Molecole. Nel portale dell'ISS è accessibile un sito sui PMTA (<http://www.iss.it/pmta/index.php?lang=1>) contenente documenti che offrono un'ampia panoramica sulle varie applicazioni di questa categoria di nuovi agenti terapeutici. Per quanto riguarda le attività finalizzate alla formazione di ricercatori specializzati nel campo della medicina traslazionale, oggetto di un Work Package EATRIS dedicato (WP6, *Development of a training & education concept as part of the EATRIS infrastructure*), l'IRFMN ha organizzato ed ospitato il primo 'Introductory PhD Course in Translational Medicine' nella settimana dall'8 al 12 novembre 2010.

Prospettive future del Nodo nazionale

A livello nazionale, la IATRIS intende lanciare per il 2011 tre iniziative che serviranno a verificare la capacità sia di coordinamento tra le varie realtà della rete nazionale, sia di interazione con il C&S di EATRIS durante la fase di transizione.

La prima iniziativa, che partirà all'inizio del 2011, riguarderà l'individuazione di Progetti Pilota nazionali, nell'area dei PMTA o dei *Tracer*, che la IATRIS potrebbe sottoporre al C&S di EATRIS. I progetti scelti, che dovrebbero coinvolgere almeno un centro EATRIS europeo, dovrebbero partire entro la fine dell'estate 2011. I Progetti Pilota avranno lo scopo di verificare il funzionamento dell'infrastruttura EATRIS, sia a livello del coordinamento centrale che a livello delle varie componenti di servizio.

Le altre due importanti iniziative di riguardano l'apertura della IATRIS alle altre realtà nazionali, e consistono rispettivamente nel lancio di un'indagine conoscitiva a diffusione capillare sul territorio nazionale, finalizzata alla raccolta di informazioni sui centri italiani impegnati nella ricerca traslazionale, e nel lancio di bando per utenti nazionali che vogliano sottoporre progetti da sviluppare o completare utilizzando i servizi offerti dalla rete nazionale IATRIS. ACC potrebbe quindi assumere un ruolo progressivamente sempre più importante, partecipando non solo per la componente clinica in campo oncologico, ma anche con le componenti di servizio per i vari prodotti, dai biomarcatori alle piccole molecole e ai *tracer*. La partecipazione di ACC alla rete RIMTA potrebbe essere sviluppata dopo una verifica più articolata delle sue potenzialità infrastrutturali e delle *expertise*, in funzione dello svolgimento nei diversi istituti di progetti di oncologia traslazionale "in qualità".

Bibliografia di riferimento

- Adams JU. Building the bridge from bench to bedside. *Nat Rev Drug Discov* 2008;7:463-4.
- Albani S, Prakken B. The advancement of translational medicine - from regional challenges to global solutions. *Nature Medicine* 2009;15:1006-9.
- Butler D. Translational research: Crossing the valley of death. *Nature* 2008;453:840-42.
- Council Regulation (EC) No 723/2009 on the Community legal framework for a European Research Infrastructure Consortium (ERIC). Disponibile all'indirizzo: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:206:0001:0008:EN:PDF>
- European Strategy Forum on Research Infrastructures. *European roadmap for research infrastructures. Report 2006*. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities, 2006. Disponibile all'indirizzo: http://ec.europa.eu/research/infrastructures/pdf/esfri/esfri_roadmap/roadmap_2006/esfri_roadmap_2006_en.pdf#view=fit&pagemode=none; ultima consultazione 21/01/10.
- Feldman A. Does academic culture support translational research? *Clinical and Translational Science* 2008;1:87-8.
- Gainotti S, Petrini C. Insurance policies for clinical trials in the United States and in some European countries. *J Clin Res Bioethics* 2010 (in corso di stampa)
- Mankoff SP, Brander C, Ferrone S, Marincola FM. Lost in Translation: Obstacles to Translational Medicine. *J Transl Med* 2004;2:14.
- Marincola FM. Translational medicine: A two-way road. *J Transl Med* 2003;1:1.
- Moran N. Public sector seeks to bridge 'valley of death'. *Nature Biotechnology* 2007;25:266.
- Petrini C. Ethical issues in translational research. *Perspectives in Biology and Medicine* 2010;53:517-533;
- Petrini C. From bench to bedside and to health policies: ethics in translational research. *Clin Ter* 2011 (in corso di stampa)
- Woolf SH. The meaning of translational research and why it matters. *JAMA* 2008;299:211-3.

EUROCARE-5: CANCER REGISTRY BASED PROJECT ON SURVIVAL AND CARE OF CANCER PATIENTS IN EUROPE

Milena Sant (a), Riccardo Capocaccia (b), Claudia Allemani (a), Claudio Lombardo (c, d), Franco Berrino (a)

(a) *Dipartimento di Medicina Predittiva e per la Prevenzione, Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori, Milano*

(b) *Centro Nazionale di Epidemiologia, Sorveglianza e Promozione della Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(d) *Rapporti Scientifici Internazionali, Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro, Genova*

(e) *Alleanza Contro il Cancro, Roma*

Introduzione

Il progetto EUROCARE (*EUROpean Cancer REgistry*) dal 1990 raccoglie e analizza i dati sulla sopravvivenza e la cura dei pazienti oncologici diagnosticati nelle aree dei registri tumori Europei. Il progetto – ora alla sua quinta edizione – è stato finanziato consecutivamente dagli inizi degli anni '90, prima dell'Unione Europea e poi dalla Compagnia di San Paolo. Inoltre, un ringraziamento particolare va ad Alleanza Contro il Cancro, che ha contribuito al finanziamento di iniziative editoriali relative a EUROCARE-4, al sostegno economico di workshops e riunioni plenarie dell'intero gruppo di lavoro europeo, oltre che al finanziamento di studi specifici condotti nell'ambito di EUROCARE.

Il progetto è condotto da un gruppo di ricercatori italiani della Fondazione Istituto Tumori di Milano (INT) e dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS), anche avvalendosi dell'attività di coordinamento svolta dalla rete di Alleanza Contro il Cancro.

La segreteria scientifica è principalmente a carico dell'INT (Dipartimento di Medicina Predittiva e per la Prevenzione, Unità di Epidemiologia Analitica) e ha il compito di coordinare le attività, assicurare i contatti e gli scambi fra i partecipanti, curare la stesura e diffusione dei protocolli di studio, promuovere la diffusione dei risultati.

Al progetto collaborano 83 registri tumore in 23 paesi Europei, che regolarmente inviano i dati relativi ai pazienti del proprio territorio.

Lo *Steering Committee* è composto da 10 ricercatori in rappresentanza di 7 regioni e paesi europei (Paesi Nordici, Regno Unito e Irlanda, Francia, Spagna, Italia, paesi dell'Europa Centrale e dell'Europa dell'Est). Lo *Steering Committee* sovrintende le attività scientifiche ed editoriali, esprime il proprio giudizio sulle proposte di nuovi studi e articoli scientifici e facilita i contatti fra registri tumori delle proprie aree e il gruppo di coordinamento.

Il progetto è un esempio eccellente di cooperazione scientifica internazionale nel quale l'Italia svolge da molti anni un ruolo di leadership; la competenza del gruppo coordinatore di EUROCARE è riconosciuta dalla rete di registri tumori collaboranti e comprovata dalle numerose pubblicazioni scientifiche con elevato Impact Factor (elenco delle pubblicazioni disponibile in www.eurocare.it)

Sintesi del progetto

EUROCARE si articola in due parti principali:

- *Analisi e sorveglianza della sopravvivenza dei pazienti oncologici e confronti temporali, fra paesi e fra aree all'interno di uno stesso paese (cosiddetto studio 'low resolution')*
La banca dati, centralizzata presso l'ISS, attualmente contiene le informazioni sulla sopravvivenza di più di 3 milioni di pazienti oncologici diagnosticati in Europa fino al 2007. Grazie allo sviluppo di adeguate procedure informatiche che consentono l'accesso ai dati contemporaneamente da parte di ricercatori dell'ISS e dell'INT, i controlli di qualità dei dati e le analisi statistiche vengono condotte in comune fra i due Istituti.
- *Descrizione analisi delle procedure diagnostiche terapeutiche (studi ad alta risoluzione) e loro confronti temporali e fra aree*
La banca dati Alta Risoluzione si trova presso la Fondazione IRCCS, Istituto nazionale dei Tumori di Milano (Dipartimento di Medicina Predittiva e per la Prevenzione - Unità di Epidemiologia Analitica). La gestione e le principali analisi statistiche di questa banca dati sono principalmente a carico del gruppo INT. Gli studi ad alta risoluzione hanno lo scopo di spiegare i motivi delle differenze di sopravvivenza; essi vengono condotti su campioni rappresentativi di pazienti, raccogliendo informazioni più dettagliate di quelle disponibili nello studio generale di sopravvivenza, su esami diagnostici, stadio tumorale, trattamento e follow-up.

Nell'ambito di EUROCARE sono stati inoltre sviluppati progetti per lo studio di specifiche patologie oncologiche, come le neoplasie ematologiche HAEMACARE, www.Haemacare.it e le neoplasie rare (RARECARE, www.rarecare.it).

EUROCARE inoltre contribuisce allo sviluppo di metodi innovativi per l'analisi della sopravvivenza e alla loro applicazione pratica. Ad esempio, la cosiddetta analisi 'period analysis' consente di stimare la sopravvivenza dei pazienti diagnosticati in anni recenti, per i quali si dispone solo di follow-up incompleto o comunque inferiore a 5 anni. Il metodo - ampiamente validato in studi di popolazione - consente di studiare l'effetto sulla sopravvivenza di recenti innovazioni diagnostiche terapeutiche.

Il lungo periodo di follow-up e la numerosità della casistica consente di calcolare sistematicamente la quota di pazienti guariti utilizzando modelli statistici ('mixture survival models') che separano l'intera quota di pazienti sopravvissuti alla malattia in una parte di guariti e in una parte destinata a recidivare o morire dopo un intervallo di tempo variabile dalla diagnosi.

Nel 2009 i risultati principali dello studio EUROCARE-4, che ha analizzato i dati relativi ai pazienti diagnosticati dal 1995 al 2002 in Europa sono stati pubblicati in un numero monografico della rivista scientifica *European Journal of Cancer*. Globalmente in Europa più del 50% delle donne e il 45% degli uomini sopravvivono almeno 5 anni dopo la diagnosi di un tumore. Per tumori quali il tumore del testicolo o il linfoma di Hodgkin (per i quali esistono oggi terapie efficaci) la sopravvivenza a 5 anni raggiunge il 90%. Anche per il tumore della mammella, grazie alla diagnosi precoce e ai progressi terapeutici, in media l'80% delle donne Europee sopravvive almeno 5 anni, con valori vicini al 90% nei paesi nordici, e in alcune regioni francesi e del nord-centro Italia.

Nonostante la sopravvivenza dei pazienti oncologici sia in miglioramento, sono ancora presenti notevoli diseguaglianze fra i paesi europei: per la maggior parte dei tumori solidi, per i quali la diagnosi precoce è determinante, la sopravvivenza più elevata si riscontra nei paesi del Nord Europa (Svezia, Islanda, Finlandia, Norvegia). La sopravvivenza è leggermente più bassa

o sovrapponibile nei paesi dell'Europa centrale e del Sud (Francia, Germania, Svizzera, Olanda, Italia, Spagna), mentre quella dei pazienti in Regno Unito, Irlanda e Danimarca rimane considerevolmente più bassa della media europea, nonostante sia aumentata negli ultimi anni; nei paesi dell'Est Europa la sopravvivenza dei pazienti oncologici è tuttora inaccettabilmente bassa.

L'Italia si colloca molto bene nel confronto con gli altri paesi, con valori di sopravvivenza dei propri pazienti sempre simili o superiori alla media europea. All'interno dell'Italia vi sono però notevoli differenze: i pazienti delle regioni del Nord e del Centro hanno una prognosi nettamente migliore dei pazienti che si ammalano e sono curati nelle regioni del Sud, paragonabile a quella rilevata nei paesi Europei a standard più avanzato. Questo dato era già emerso in passato, ma EUROCORE-4 ha confermato che purtroppo queste differenze erano ancora presenti per i pazienti ammalatisi alla fine degli anni '90. Per i tumori della mammella e della cervice uterina, la sopravvivenza più elevate nelle regioni del Nord e del Centro Italia sono verosimilmente dovute alla presenza di programmi di screening organizzato. Lo screening ha l'effetto di anticipare la diagnosi e quindi di allungare la sopravvivenza, anche indipendentemente dal beneficio in termini di possibilità di cura. I programmi di screening però presuppongono anche una migliore organizzazione delle cure oncologiche nel territorio, con conseguente beneficio per tutti i pazienti.

Grazie ai miglioramenti terapeutici, alla diagnosi precoce e ai programmi di screening attuati in molte regioni, la sopravvivenza dei pazienti oncologici italiani è in costante miglioramento e la mortalità per alcuni fra i tumori più frequenti, ad esempio tumori della mammella e colorettali, è in diminuzione.

È verosimile che la sopravvivenza per tumore sia destinata ad aumentare ulteriormente in un futuro prossimo, anche grazie allo sviluppo di terapie innovative a bersaglio molecolare. Queste terapie sono tuttavia molto costose e l'utilizzo inappropriato potrebbe aumentare in maniera incontrollata la spesa sanitaria pubblica del paese. È quindi importante sorvegliare la diffusione di queste innovazioni terapeutiche nella pratica clinica e studiarne gli effetti sulla sopravvivenza. Progetti collaborativi come EUROCORE sono lo strumento ottimale per questo obiettivo.

La prognosi dei pazienti oncologici peggiora con l'avanzare dell'età, anche tenendo conto della mortalità dovuta a malattie diverse dal tumore. Questo fenomeno è presumibilmente attribuibile ad una sottovalutazione della sintomatologia nei pazienti anziani, che conduce a diagnosticare il tumore in fase già avanzata, e alla mancanza di protocolli di trattamento specifici per l'anziano. Inoltre, situazioni di isolamento sociale e basso reddito possono limitare l'accesso a strutture sanitarie adeguate. Questo fenomeno – presente in tutte le aree italiane e nella maggior parte dei paesi europei – è particolarmente marcato nelle regioni del Sud Italia.

Le donne sopravvivono più a lungo degli uomini. Questo è verosimilmente dovuto al fatto che le donne hanno meno malattie concomitanti che possono aggravare la prognosi del tumore (ad es malattie cardiovascolari e respiratorie) e meno fattori di rischio (fumo, alcool, esposizioni lavorative), ma potrebbe anche essere dovuto ad una diagnosi più precoce e ad una migliore risposta ai trattamenti.

Nei paesi europei inclusi in EUROCORE la spesa sanitaria globale nazionale è correlata positivamente alla sopravvivenza dei pazienti oncologici. In altre parole, più elevati sono gli investimenti economici in campo sanitario, migliore è la sopravvivenza dei pazienti oncologici. Non si tratta però solo di aumentare la quantità di investimenti, ma anche di razionalizzarli. La sopravvivenza dei pazienti oncologici fornita dai registri tumori è un indicatore utile per valutare l'effetto di politiche sanitarie nell'intera popolazione.

Conclusioni e prospettive future

È attualmente in corso l'analisi dei dati di sopravvivenza EUROCORE-5, relativi ai pazienti diagnosticati dopo il 2002. L'analisi di questi dati verrà condotta tramite il metodo 'period survival', che fornirà la sopravvivenza dei pazienti alla fine del primo decennio del secolo 2000.

EUROCORE contribuirà al progetto dell'unione europea "European Partnership Action Against Cancer" (EPAAC) fornendo i dati sulla sopravvivenza e sulla cura dei pazienti oncologici nei paesi europei.

In collaborazione col progetto CONCORD Cancer survival comparison in five continents (diretto da Michel P Coleman, Non-Communicable Disease Epidemiology Unit, London School of Hygiene and Tropical Medicine, Londra, Regno Unito) verranno condotti studi comparativi intercontinentali. Con l'ultimo aggiornamento in corso, la banca dati EUROCORE verrà allineata con quella del SEER (*Surveillance, Epidemiology and End Results*) negli Stati Uniti e saranno quindi molto facilitati gli studi comparativi sulla sopravvivenza e le procedure diagnostico-terapeutiche fra Europa e USA.

Pubblicazioni conseguite nell'ambito del progetto

Il progetto ha prodotto le seguenti pubblicazioni*:

1. Allemani C, Berrino F, Krogh V, Sieri S, Pupa, Tagliabue E, Tagliabue G, Sant M. Do pre-diagnostic drinking habits influence breast cancer survival? *Tumori* 2010 (in corso di stampa)
2. Allemani C, Storm H, Voogd AC, Holli K, Izarzugaza I, Torrella-Ramos A, Bielska-Lasota M, Aareleid T, Ardanaz E, Colonna M, Crocetti E, Danzon A, Federico M, Garau I, Grosclaude P, Hédelin G, Martinez-Garcia C, Peignaux K, Plesko I, Primic-Zakelj M, Rachtan J, Tagliabue G, Tumino R, Traina A, Tryggvadóttir L, Vercelli M, Sant M. Variation in 'standard care' for breast cancer across Europe: a EUROCORE-3 high resolution study. *Eur J Cancer* 2010;46:1528-36.
3. Baili P, Micheli A, De Angelis R, Weir HK, Francisci S, Santaquilani M, Hakulinen T, Quaresmas M, Coleman MP; CONCORD Working Group. Life tables for world-wide comparison of relative survival for cancer (CONCORD study). *Tumori* 2008;94:658-68.
4. Berrino F, De Angelis R, Sant M, Rosso S, Bielska-Lasota M, Coebergh JW, Santaquilani M, EUROCORE Working group. Survival for eight major cancers and all cancers combined for European adults diagnosed in 1995-99: results of the EUROCORE-4 study. *Lancet Oncol* 2007;8:773-83. Erratum in: *Lancet Oncol* 2007;8:868.
5. Bouvier AM, Sant M, Verdecchia A, Forman D, Damhuis R, Willem Coebergh J, Crocetti E, Crosignani P, Gafa L, Launoy G, Martinez-Garcia C, Plesko I, Pompe-Kirn V, Rachtan J, Velten M, Vercelli M, Zwierko M, Esteve J, Faivre J What reasons lie behind long-term survival differences for gastric cancer within Europe? *Eur J Cancer* 2010;46:1086-92.
6. Brenner H, Francisci S, de Angelis R, Marcos-Gragera R, Verdecchia A, Gatta G, Allemani C, Ciccolallo L, Coleman M, Sant M; EUROCORE Working Group. Long-term survival expectations of cancer patients in Europe in 2000-2002. *Eur J Cancer* 2009;45:1028-41.
7. Coleman MP, Quaresma M, Berrino F, Lutz JM, De Angelis R, Capocaccia R, Baili P, Rachet B, Gatta G, Hakulinen T, Micheli A, Sant M, Weir HK, Elwood JM, Tsukuma H, Koifman S, E Silva GA, Francisci S, Santaquilani M, Verdecchia A, Storm HH, Young JL; CONCORD

* L'elenco completo delle pubblicazioni EUROCORE è disponibile nel sito del progetto www.eurocare.it. Qui sono riportate alcune fra le pubblicazioni recenti più significative.

- Working Group. Cancer survival in five continents: a worldwide population-based study (CONCORD). *Lancet Oncol* 2008;9:730-56.
8. De Angelis R, Francisci S, Baili P, Marchesi F, Roazzi P, Belot A, Crocetti E, Pury P, Knijn A, Coleman M, Capocaccia R. EURO CARE Working Group. The EURO CARE-4 database on cancer survival in Europe: data standardisation, quality control and methods of statistical analysis. *Eur J Cancer* 2009;45:909-30.
 9. Francisci S, Capocaccia R, Grande E, Santaquilani M, Simonetti A, Allemani C, Gatta G, Sant M, Zigon G, Bray F, Janssen-Heijnen M; EURO CARE Working Group. The cure of cancer: a European perspective. *Eur J Cancer* 2009;45:1067-79.
 10. Gatta G, Capocaccia R, Trama A, Martínez-García C; RARECARE Working Group. The burden of rare cancers in Europe. *Adv Exp Med Biol* 2010;686:285-303.
 11. Gatta G, Zigon G, Aareleid T, Ardanaz E, Bielska-Lasota M, Galceran J, Gózdź S, Hakulinen T, Martínez-García C, Plesko I, Zakelj MP, Rachtan J, Tagliabue G, Vercelli M, Faivre J. Patterns of care for European colorectal cancer patients diagnosed 1996-1998: a EURO CARE high resolution study. *Acta Oncol* 2010;49:776-83.
 12. Gatta G, Zigon G, Capocaccia R, Coebergh JW, Desandes E, Kaatsch P, Pastore G, Peris-Bonet R, Stiller CA; EURO CARE Working Group. Survival of European children and young adults with cancer diagnosed 1995-2002. *Eur J Cancer* 2009;45:992-1005.
 13. HAEMACARE Working Group Manual for coding and reporting haematological malignancies. *Tumori*. 2010;96:i-A32.
 14. Lepage C, Ciccolallo L, De Angelis R, Bouvier AM, Faivre J, Gatta G; EURO CARE working group. European disparities in malignant digestive endocrine tumours survival. *Int J Cancer* 2010;126:2928-34.
 15. Lepage C, Sant M, Verdecchia A, Forman D, Esteve J, Faivre J; and the EURO CARE working group. Operative mortality after gastric cancer resection and long-term survival differences across Europe. *Br J Surg* 2010;97:235-9.
 16. Marcos-Gragera R, Cervantes-Amat M, Vicente ML, de Sanjosé S, Guallar E, Godoy C, Calvo C, Giraldo P, Sant M, Peris-Bonet R, Carmen Martos M. Population-based incidence of childhood leukaemias and lymphomas in Spain (1993-2002). *Eur J Cancer* 2010;19:247-55.
 17. Micheli A, Ciampichini R, Oberaigner W, Ciccolallo L, de Vries E, Izarzugaza I, Zambon P, Gatta G, De Angelis R; EURO CARE Working Group. The advantage of women in cancer survival: an analysis of EURO CARE-4 data. *Eur J Cancer* 2009;45:1017-27.
 18. Quaglia A, Tavilla A, Shack L, Brenner H, Janssen-Heijnen M, Allemani C, Colonna M, Grande E, Grosclaude P, Vercelli M; EURO CARE Working Group. The cancer survival gap between elderly and middle-aged patients in Europe is widening. *Eur J Cancer* 2009;45:1006-16.
 19. Rosso S, De Angelis R, Ciccolallo L, Carrani E, Soerjomataram I, Grande E, Zigon G, Brenner H; EURO CARE Working Group. Multiple tumours in survival estimates. *Eur J Cancer* 2009;45:1080-94.
 20. Sant M, Allemani C, De Angelis R, Carbone A, de Sanjosé S, Gianni AM, Giraldo P, Marchesi F, Marcos-Gragera R, Martos-Jiménez C, Maynadié M, Raphael M, Berrino F; EURO CARE-3 Working Group. Influence of morphology on survival for non-Hodgkin lymphoma in Europe and the United States. *Eur J Cancer* 2008;44:579-87.
 21. Sant M, Allemani C, Santaquilani M, Knijn A, Marchesi F, Capocaccia R; EURO CARE Working Group. EURO CARE-4. Survival of cancer patients diagnosed in 1995-1999. Results and commentary. *Eur J Cancer* 2009;45:931-91.
 22. Sant M, Allemani C, Tereanu C, De Angelis R, Capocaccia R, Visser O, Marcos-Gragera R, Maynadié M, Simonetti A, Lutz JM, Berrino F. Incidence of hematological malignancies in Europe by morphological subtype: results of the HAEMACARE project. *Blood* 2010;116:3724-34.

23. Verdecchia A, Francisci S, Brenner H, Gatta G, Micheli A, Mangone L, Kunkler I; EUROCARE-4 Working Group. Recent cancer survival in Europe: a 2000-02 period analysis of EUROCARE-4 data. *Lancet Oncol* 2007;8:784-9. Erratum in: *Lancet Oncol* 2008;9:416.
24. Verdecchia A, Guzzinati S, Francisci S, De Angelis R, Bray F, Allemani C, Tavilla A, Santaquilani M, Sant M; EUROCARE Working Group. Survival trends in European cancer patients diagnosed from 1988 to 1999. *Eur J Cancer* 2009;45:1042-66.
25. Virgili G, Gatta G, Ciccolallo L, Capocaccia R, Biggeri A, Crocetti E, Lutz JM, Paci E; EUROCARE Working Group. Survival in patients with uveal melanoma in Europe. *Arch Ophthalmol* 2008;126:1413-8.

SOPRAVVIVENZA PER CANCRO NEL MONDO: IL PROGETTO CONCORD

Gemma Gatta (a), Riccardo Capocaccia (b), Milena Sant (a), Claudia Alemanni (a), Franco Berrino (a), Claudio Lombardo (c,d), Michel P Coleman (e)

(a) *Dipartimento di Medicina Predittiva e per la Prevenzione, Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori, Milano*

(b) *Centro Nazionale di Epidemiologia, Sorveglianza e Promozione della Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(c) *Rapporti Scientifici Internazionali, Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro, Genova*

(d) *Alleanza Contro il Cancro, Roma*

(e) *Cancer Research UK Cancer Survival Group, Department of Epidemiology & Population Health, London School of Hygiene and Tropical Medicine, Londra, Regno Unito*

Introduzione

Il primo studio di popolazione comparativo sulla sopravvivenza per cancro fu pubblicato negli anni '60, includeva registri di paesi europei (Francia, paesi scandinavi, Regno Unito) e lo stato americano del Connecticut. Esso rilevava risultati molto simili a quanto verrà mostrato nei successivi grandi studi del progetto EURO CARE e del programma americano SEER: una grande variabilità tra popolazioni, ma soprattutto la superiorità dell'outcome per la popolazione americana. Il confronto tra Stati Uniti ed Europa denunciava anche una più grande variabilità europea tra paesi e che la sopravvivenza si riduceva marcatamente col crescere dell'età alla diagnosi per i pazienti europei. La variabilità sia geografica che per età era minima o del tutto assente nella popolazione statunitense. Le differenze tra Stati Uniti ed Europa, inoltre erano ampie per tumori che si avvantaggiavano della diagnosi precoce, mentre scomparivano per i tumori infantili, per i quali il trattamento è particolarmente importante.

Il progetto CONCORD comincia nel 1999 come estensione del progetto EURO CARE, con lo scopo di assicurare un solido confronto sulla sopravvivenza per cancro nel mondo. Un centinaio circa di registri tumori di popolazione aderirono: uno o più registri a rappresentanza di ciascuno dei cinque continenti.

Tutti i registri partecipanti avevano rispettato i criteri di inclusione del settimo volume del *Cancer Incidence in Five Continents*. Lo studio includeva i casi diagnosticati dal 1990 al 1994 di tumore maligno mammario, coloretale e prostatico, cioè tumori frequenti la cui prognosi è influenzata dallo stadio alla diagnosi. Per tutti i casi venne effettuato un follow-up per la rilevazione dello stato in vita fino alla fine del 1999.

Le differenze della sopravvivenza a 5 anni dalla diagnosi erano ampie per tutti i tumori in studio. Le sopravvivenze in genere erano migliori nel Nord America, in Australia, in Giappone e in Europa (con l'esclusione dell'Est) e più basse in Algeria, Brasile e nell'Est Europa. CONCORD per la prima volta ha descritto la sopravvivenza negli Stati Uniti includendo ben 16 stati e sei aree metropolitane (42% della popolazione americana). Le sopravvivenze dei pazienti neri erano sistematicamente più basse di quelle dei bianchi, per tutti i tumori e in tutti gli stati americani. Questo primo studio ha confermato l'ampia variabilità di outcome tra popolazioni. Parte di queste differenze osservate sono probabilmente attribuibili ai diversi investimenti economici dei sistemi sanitari per la patologia tumorale.

Sintesi del progetto

Il secondo studio CONCORD includerà pazienti diagnosticati dal 1995 al 2004 con follow-up per lo stato in vita fino al termine del 2006. Oltre ai tre tumori precedentemente analizzati saranno inclusi anche i tumori del polmone, stomaco, fegato, ovaio, cervice e le leucemie. La disponibilità dei registri a partecipare sarà superiore a quella del primo studio con una maggior partecipazione da parte dei registri africani e asiatici.

La centralizzazione del controllo dei dati dei registri, che concordano un protocollo comune, e la metodologia adottata garantiscono la riduzione dei confondenti che potrebbero in parte invalidare i risultati. Lo studio si propone anche di interpretare le differenze di sopravvivenza attraverso studi ad hoc su base campionaria e di popolazione con la raccolta di informazioni cliniche non disponibili usualmente ai registri. Questi studi, cosiddetti di alta risoluzione, sono già stati avviati da una parte dei registri statunitensi ed europei.

Per compensare l'ampia variabilità dell'aspettativa di vita delle popolazioni coinvolte nello studio viene utilizzato il metodo della sopravvivenza relativa. Essa è il rapporto della sopravvivenza dei pazienti con cancro rispetto alla sopravvivenza che ci si sarebbe attesi in persone non malate dello stesso sesso nella stessa area geografica, a parità di età e periodo di calendario. Questo approccio comporta un rilevante lavoro su dati demografici: per l'analisi del primo studio CONCORD sono state ricostruite circa 2800 *life tables*. Le stime di sopravvivenza vengono inoltre standardizzate per età per controllare la differente struttura per età della popolazione di pazienti con cancro nelle diverse aree geografiche.

Lo studio CONCORD-2 è stato pianificato in tre fasi:

- *Fase descrittiva di bassa risoluzione*
Quantificazione delle differenze di sopravvivenza in popolazioni attraverso l'analisi della sopravvivenza relativa per sesso, età, paese e razza (quest'ultima solo per l'analisi interna agli USA). Questa parte costituisce l'aggiornamento, con l'analisi di un periodo successivo (1995-2004), e l'estensione geografica, con il coinvolgimento di nuovi registri, rispetto allo studio precedente.
- *Fase interpretativa di alta risoluzione*
Interpretazione delle differenze di sopravvivenza con la partecipazione di un sottoinsieme di registri in grado di recuperare informazioni cliniche (stadio alla diagnosi, procedure diagnostiche e trattamento) per un campione di casi. Alcuni registri hanno già iniziato questo tipo di rilevazione sulla base di progetti indipendenti. Lo sviluppo ulteriore richiederà il reperimento di finanziamenti ad hoc.
- *Fase interpretativa 2*
Revisione anatomo-patologica di un campione di casi da parte di un gruppo di esperti per comprendere quanto le differenze di sopravvivenza sono riconducibili a differenze nella definizione della malattia nei diversi paesi.

Pubblicazioni conseguite nell'ambito del progetto

Il progetto ha prodotto le seguenti pubblicazioni:

1. Coleman MP, Quaresma M, Berrino F, Lutz JM, De Angelis R, Capocaccia R, Baili P, Rachet B, Gatta G, Hakulinen T, Micheli A, Sant M, Weir HK, Elwood JM, Tsukuma H, Koifman S, E Silva GA, Francisci S, Santaquilani M, Verdecchia A, Storm HH, Young JL, CONCORD Working

- Group. Cancer survival in five continents: a worldwide population-based study (CONCORD). *Lancet Oncol* 2008;9:730-56.
2. Gatta G, Capocaccia R, Coleman MP, Ries G, Gloeckler LA, Berrino F. Childhood cancer survival in Europe and the United States. *Cancer* 2002;95:1767-72.
 3. Gatta G, Capocaccia R, Micheli A, Coleman MP, Ries A, Gloeckler L, Hakulinen T, Sant M., Verdecchia A, Berrino F. Toward a comparison of survival in American and European cancer patients. *Cancer* 2000;89:893-900.
 4. Verdecchia A, Francisci S, Brenner H, Gatta G, Micheli A, Mangone L, Kunkler I, EURO CARE-4 Working Group. Recent cancer survival in Europe: a 2000-02 period analysis of EURO CARE-4 data. *Lancet Oncol* 2007;8:784-96. Erratum in: *Lancet Oncol* 2008;9:416.

EUROPEAN PARTNERSHIP FOR ACTION AGAINST CANCER

Riccardo Capocaccia (a), Franco Berrino (b), Roberta De Angelis (a), Maria Ferrantini (c), Gemma Gatta (b), Claudio Lombardo (d, e), Andrea Micheli (b), Giovanni Nicoletti (f), Luigi G. Spagnoli (e, g), Marina Vercelli (d, h), Milena Sant (b)

(a) *Centro Nazionale di Epidemiologia, Sorveglianza e Promozione della Salute, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(b) *Dipartimento di Medicina Predittiva e per la Prevenzione, Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori, Milano*

(c) *Dipartimento di Biologia Cellulare e Neuroscienze, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(d) *Rapporti Scientifici Internazionali, Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro, Genova*

(e) *Alleanza Contro il Cancro, Roma*

(f) *Dipartimento della Prevenzione e della Comunicazione, Ministero della Salute, Roma*

(g) *Dipartimento di Biopatologia e Diagnostica per Immagini, Università di Tor Vergata, Roma*

(h) *Dipartimento di Scienze della Salute, Università di Genova, Genova*

Introduzione

In generale nell'Unione Europea, gli interventi per la tutela della salute e la cura delle malattie sono di competenza dei singoli stati membri. Tuttavia, il valore aggiunto di un coordinamento a livello comunitario delle azioni volte a rispondere ai bisogni di salute è ampiamente riconosciuto. La *European Partnership for Action Against Cancer* (EPAAC) è stata proposta per rendere più efficace il coordinamento delle politiche sanitarie nazionali nel settore oncologico. L'obiettivo finale è il perseguimento di una riduzione dell'impatto della patologia oncologica sulla popolazione della UE e delle relative disuguaglianze tra i diversi paesi e gruppi di popolazione. La EPAAC intende supportare gli stati membri partecipanti attraverso la collaborazione a progetti comuni ed un più efficiente scambio di informazioni e competenze per il controllo della patologia. La Partnership è configurata come una "Joint Action" rivolta ad istituzioni governative e di indirizzo in campo sanitario si sviluppa nel periodo 2011-2013 sotto il coordinamento dell'Istituto di sanità pubblica della Slovenia.

Il Consorzio EPAAC e la partecipazione italiana

Il Consorzio EPAAC è costituito da 40 Associated Partners, che comprendono per lo più Ministeri ed Istituti Governativi di sanità pubblica ed oncologia. Altre categorie di Partners comprendono università, associazioni scientifiche ed altre organizzazioni non-profit.

La partecipazione italiana, particolarmente importante sia in termini di responsabilità che di rappresentatività, è coordinata dal Ministero della Salute e comprende l'Istituto Superiore di Sanità, la rete "Alleanza Contro il Cancro" (ACC), gli Istituti Tumori di Genova e Milano, le Regioni Lombardia e Toscana, il Centro per la Prevenzione Oncologica del Piemonte, la Lega Italiana per la Lotta contro i Tumori (LILT).

L'Istituto Tumori di Milano coordina le attività del work package dedicato al sistema informativo. Ad ACC è affidata l'organizzazione del Satellite Meeting 2012 sul Cancro in Europa oltre a collaborare alla realizzazione dei 3 Forum previsti.

Sintesi del progetto

Le attività dell'EPAAC sono suddivise in 9 work packages (WP): 3 di coordinamento e 6 WP tematici, questi ultimi relativi a differenti settori di controllo e ricerca oncologica.

Gli obiettivi e le attività previste da questi ultimi sono di seguito brevemente descritti:

- *Prevenzione* (coordinamento: Association of European Cancer Leagues)
L'attività di prevenzione sarà essenzialmente di coordinamento di interventi già attivi a livello nazionale. Particolare attenzione sarà dedicata all'organizzazione delle prossime Settimane Europee Contro il Cancro in collaborazione con i paesi membri e con le strutture ed organizzazioni coinvolte nelle campagne di prevenzione. Fumo, alcool, nutrizione, attività fisica, ambiente ed agenti infettivi saranno i principali temi considerati. Particolare attenzione sarà riservata alle disuguaglianze.
- *Diagnosi precoce* (coordinamento: Cancer Society of Finland)
L'obiettivo finale dell'azione comunitaria sarà la copertura totale delle attività di screening di documentata efficacia: mammella, cervice uterina e colon-retto. A tale scopo saranno elaborate delle raccomandazioni sugli screening oncologici volte a rimuovere le barriere esistenti ad un accesso pieno e egualitario allo screening. Saranno organizzati corsi avanzati per l'implementazione degli screening sviluppati criteri qualitativi condivisi per le attività di diagnosi precoce di tumori non soggetti a screening.
- *Cura* (coordinamento: Catalan Cancer Institute)
Nel campo della cura dei pazienti oncologici, la EPAAC si propone di ridurre le disuguaglianze in termini di trattamenti, esiti e mortalità tra i diversi stati attraverso un'attività di promozione delle "best practices" nei diversi contesti locale, regionale e nazionale.
- *Ricerca* (coordinamento: European Cancer Organization)
Il work package dedicato alla ricerca si propone di individuare le limitazioni attualmente esistenti nel coordinamento della ricerca sul cancro in Europa, con l'obiettivo di sviluppare un approccio concertato per raggiungere entro il 2013 il coordinamento di un terzo delle risorse dedicate alla ricerca da tutte le fonti di finanziamento, in aree selezionate della ricerca sul cancro. Per quando riguarda in particolare il coordinamento dei finanziamenti, la EPAAC dovrà interagire con il progetto ERA-NET TRANSCAN, coordinato dal Ministero della Salute e dall'ISS in collaborazione con ACC. L'obiettivo principale del progetto TRANSCAN è di realizzare azioni di coordinamento a livello comunitario tra enti finanziatori per la costruzione di una piattaforma pan-europea per la ricerca traslazionale sul cancro.
- *Informazione e dati* (coordinamento: Istituto Nazionale Tumori di Milano)
Un sistema informativo sul cancro è uno strumento indispensabile per assicurare un'efficace azione di controllo sul cancro basata sull'evidenza. Un sistema informativo a livello europeo è il solo che permette un valido confronto tra i paesi, consentendo così l'identificazione e la promozione di "best practices" basate sull'evidenza. Confronti internazionali dei dati di sopravvivenza tra paesi (1) hanno permesso in passato di identificare aree di più elevata mortalità e di rivedere conseguentemente alcune delle politiche di assistenza sanitaria (2). L'attività in questo campo sarà rivolta alla definizione ed alla diffusione di indicatori sul cancro a livello europeo, allo studio della qualità di vita dei pazienti, e al coordinamento delle attività per la valutazione dei costi sanitari.

Il programma prevede di valutare le principali fonti di dati sul cancro in Europa ed identificare i bisogni informativi non completamente soddisfatti. Saranno a tale scopo considerati sia i dati derivanti dai registri tumori che da altre sorgenti (Istituti Statistici, Banche dati clinici, ecc) e la lista di indicatori identificati da precedenti progetti europei come ECHI ed EUROCHIP (3).

Saranno unificati in una comune piattaforma i dati di incidenza, mortalità (4), sopravvivenza e prevalenza forniti da diversi progetti – EUROCORE (2), EUROPREVAL (5), HAEMACARE (6), RARECARE (7) –, istituti scientifici, ed agenzie (WHO, IARC). Ulteriore obiettivo è quello di rafforzare il coordinamento europeo degli studi di alta risoluzione, che raccolgono a livello di registro e su base campionaria, dati dettagliati di natura clinica sui pazienti oncologici.

Sempre nell'ambito del WP dedicato al sistema informativo, si prevede di realizzare una "Task Force" per valutare la disponibilità di dati su base di popolazione sui costi del cancro e per valutare ed applicare le metodologie più appropriate per la raccolta e l'analisi dei dati. Le disuguaglianze di carattere socio-economico sia a livello di paesi che di gruppi di popolazione saranno analizzate in rapporto agli indicatori di sopravvivenza.

Verrà inoltre prodotto uno studio sulla qualità della vita dei pazienti oncologici dopo il trattamento clinico ed in particolare una volta raggiunta la guarigione clinica. Nell'ambito dell'EPAAC si svilupperà un approccio comune e standardizzato per la raccolta di dati mediante i registri tumori.

Per quanto attiene all'analisi dei dati relativi al cancro raccolti su base di popolazione, si produrrà una rassegna dei metodi di analisi statistica utilizzati e si attiverà una rete di ricercatori ed istituti accademici come nucleo di una futura forza operativa europea per l'analisi dei dati e la ricerca.

- *"Open Forum" della Partnership* (coordinamento: Istituto di Sanità Pubblica, Slovenia)
Allo scopo di unificare i contributi dei diversi gruppi di lavoro e di tradurli nell'identificazione di azioni comuni nei diversi paesi saranno organizzati tre convegni, oltre a diversi meeting satelliti. Gli incontri saranno aperti alla partecipazione dei componenti il consorzio EPAAC, e di esperti ed di altri attori coinvolti nel settore.
Nel 2012, un meeting rivolto alla presentazioni dei dati sul cancro in Europa sarà organizzato in Italia da ACC, congiuntamente alla sessione dell'Open Forum rivolta al sistema informativo.

Conclusioni e prospettive future

La partecipazione italiana alla EPAAC è stata un'eccellente dimostrazione della capacità di coordinamento che l'Italia ha acquisito anche grazie al supporto di ACC e del supporto dei funzionari ministeriali che operano per la promozione della partecipazione italiana alle attività internazionali. Il nostro Paese ha infatti raggiunto obiettivi, in termini di visibilità, responsabilità e risorse, che finalmente corrispondono alle competenze ed alla volontà di agire in sintonia.

La presenza italiana nel coordinamento dell'iniziativa europea rappresenta una tappa fondamentale per consentire di promuovere al meglio gli interessi del Paese nel prossimo Programma di Sanità Pubblica Europea per gli anni 2014-2020.

Bibliografia

1. Verdecchia A, Francisci S, Brenner H, Gatta G, Micheli A, Mangone L, *et al.* Recent cancer survival in Europe: a 2000-02 period analysis of EURO CARE-4 data. *Lancet Oncology* 2007;8:784-96.
2. Berrino F, Verdecchia A, Lutz JM, Lombardo C, Micheli A, Capocaccia R, EURO CARE Working Group. Comparative cancer survival information in Europe. *Eur J Cancer* 2009;45:901-8.
3. Micheli A, Capocaccia R, Martinez C, Mugno E, Coebergh JW, Baili P, Verdecchia A, Berrino F, Coleman M. Cancer control in Europe: a proposed set of European cancer health indicators. *Eur J Public Health* 2003;13:116-8.
4. Ferlay J, Autier P, Boniol M, Heanue M, Colombet M, Boyle P. Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006. *Annals of Oncology* 2007;18:581-92.
5. Capocaccia R, Colonna M, Corazzieri I, De Angelis R, Francisci S, Micheli A, Mugno E. Measuring cancer prevalence in Europe: the EURO PREVAL Project. *Annals of Oncology* 2002;13:831-39.
6. Sant M, Allemani C, Tereanu C, De Angelis R, Capocaccia R, Visser O, Marcos-Gragera R, Maynadié M, Simonetti A, Lutz JM, Berrino F, HAEMACARE Working Group. Incidence of hematologic malignancies in Europe by morphologic subtype: results of HAEMACARE project. *Blood* 2010,116:3724-34.
7. Gatta G, Capocaccia R, Trama A, Martinez-Garcia C, the RARECARE Working Group. The Burden of Rare Cancers in Europe. *Adv Exp Med Biol* 2010;686:285-303.

CONTRIBUTO ITALIANO AL PROGETTO EUROPEO EUROCANCERCOMS

Francesco De Lorenzo (a), Patrizia Gnagnarella (b), Gordon McVie (c), Laura Del Campo (a), Rosa Oricchio (d)

(a) *Federazione Italiana delle Associazioni di Volontariato in Oncologia, Roma*

(b) *Divisione di Epidemiologia e Biostatistica, Istituto Europeo di Oncologia, Milano*

(c) *Direzione Scientifica, Istituto Europeo di Oncologia, Milano*

(d) *Associazione Italiana Malati di Cancro, parenti e amici, Roma*

Introduzione

Affrontare un tumore è sempre difficile. Improvvisamente ci si trova a dover gestire non solo la paura della malattia e dei trattamenti necessari alla guarigione, ma anche le inevitabili conseguenze sul corpo e sull'immagine corporea, sulle abitudini che prima scandivano la quotidianità e sui "gusti". Gli stress fisici e psicologici che sono associati alla patologia neoplastica possono contribuire a determinare un cambiamento anche sulle abitudini alimentari. Anche in assenza di una vera depressione, la presenza del dolore, la diminuzione del senso di benessere, lo scoraggiamento e l'ansia circa il trattamento della patologia o la prognosi, tendono a causare degli stress emozionali che riducono il senso di gratificazione dei cibi. Se si avverte nausea o altri disturbi, spesso conseguenze della chemioterapia o della terapia radiante, può svilupparsi un'avversione condizionata all'introduzione di determinati alimenti. Queste avversioni, frequentemente, tendono a persistere a lungo dopo che la terapia è stata completata. Carenze o eccessi nutrizionali sono comuni, e si decide di evitare determinati alimenti a cui si attribuisce la genesi del cancro, oppure effetti benefici. Si possono notare ad esempio un'aumentata o ridotta percezione del gusto dolce. La soglia per i gusti salato e acido è spesso aumentata, mentre è diminuita di solito quella per il gusto amaro. Una soglia più bassa per il sapore amaro è spesso responsabile dell'avversione alla carne che così sovente è presente quando si affrontano le cure chemioterapiche.

Essere informati circa i corretti stili di vita e la corretta alimentazione risulta indispensabile per poter orientare il comportamento verso le scelte migliori, anche a tavola. Aumentare, quindi, le conoscenze sulle corrette scelte nutrizionali durante la patologia tumorale, può contribuire a migliorare la qualità della vita. Da qui è emersa l'esigenza di poter disporre di strumenti utili a tal fine. EuroCancerComs-FP7 è un progetto ambizioso finanziato dalla Commissione Europea per la realizzazione e la valutazione dell'efficacia di una nuova piattaforma per le informazioni sul cancro per pazienti e professionisti del settore sanitario in Europa. Seppure sia presente in rete un'enorme mole di materiale informativo riferito all'oncologia, spesso queste informazioni sono poco fruibili o accessibili per la comunità scientifica e per i cittadini. Questo progetto mira a invertire queste tendenze e fornire un nuovo approccio per trasformare le informazioni in "intelligence sul cancro" come raccolta e analisi di notizie e dati dalla cui elaborazione ricavare informazioni utili.

Il 5° Work Package "Disseminazione dei risultati" è coordinato dall'Organizzazione degli Istituti Europei del Cancro (Organization of European Cancer Institutes, OEI) che ha assegnato ad Alleanza Contro il Cancro (ACC) il compito di partecipare al Work Package favorendo l'interazione tra i partner e sviluppando, in particolare, il progetto "Supporto nutrizionale in soggetti con cancro: un sito internet dedicato".

Il coordinamento del Programma 4 del DM ISS per ACC ha individuato in FAVO (Federazione Italiana delle Associazioni di Volontariato in Oncologia) e IEO (Istituto Europeo di Oncologi) i partner che avrebbero potuto assumere tale compito, focalizzando pertanto l'attenzione sui problemi nutrizionali dei malati di cancro. La presenza di neoplasia può infatti avere conseguenze molto negative sullo stato nutrizionale del paziente e, a differenza del passato, la malnutrizione non deve essere più considerata un effetto a cui rassegnarsi ma una conseguenza prevenibile, grazie ad un adeguato intervento nutrizionale mirato. L'interesse verso la nutrizione da parte dei pazienti e dei loro familiari è dimostrato anche dall'elevato numero di libretti scaricati sull'argomento dal sito dell'Associazione Italiana Malati di Cancro (AIMaC) www.aimac.it. In considerazione di ciò e a seguito della proposta presentata al Direttivo di ACC, è stato assegnato un co-finanziamento italiano ai due soggetti attuatori nell'ambito del bilancio del Programma 4 "Rete nazionale solidale e collaborazioni internazionali" al fine di sviluppare il progetto "Supporto nutrizionale in soggetti con cancro: un sito internet dedicato". Lo studio potrà dunque contare sul contributo nazionale e su quello europeo che sarà reso disponibile dall'OECD a copertura di spese che si renderanno necessarie. IEO e FAVO, in collaborazione con altri partner europei, stanno sviluppando un intervento di ricerca collaborativa con l'obiettivo di valutare l'efficacia di un intervento educativo tramite l'utilizzo di un sistema multimediale. Il progetto servirà inoltre a verificare se la consultazione di un sito internet (www.supportonutrizionale.it) possa aumentare la conoscenza sulle corrette scelte nutrizionali in corso della patologia tumorale, migliorare la qualità della vita e il livello di ansia e depressione.

Sintesi del progetto

Il progetto "Supporto nutrizionale in soggetti con cancro: un sito internet dedicato" fa parte del progetto EuroCancerComs-FP7, un'azione coordinata della Comunità Europea per stabilire una comunicazione efficiente per tutte le persone coinvolte a vario livello in ambito oncologico. Tale progetto mira ad aiutare i malati di cancro fornendo valide raccomandazioni e consigli pratici sui problemi nutrizionali che si possono verificare durante la malattia. Obiettivo dello studio è infatti quello di verificare se la consultazione e la frequentazione di un sito internet possa aiutare il soggetto ad aumentare la sua opinione sulle corrette scelte nutrizionali in corso della patologia tumorale, migliorare la qualità della vita e il livello di ansia e depressione. Si tratta di uno studio di intervento randomizzato. In via preliminare, per sensibilizzare i malati a questa tematica è stato attivato un forum online, quale spazio dedicato al confronto dell'esperienza della malattia, con un'attenzione particolare alla nutrizione. Il tumore infatti lascia il "segno" anche nei nostri stili alimentari, lascia il segno sul nostro "gusto", sulle nostre scelte a tavola, sul nostro corpo. Nel forum si ci propone di chiarire dubbi, capire i bisogni legati a questo delicato ambito, o semplicemente condividere le varie esperienze.

Il gruppo di lavoro ed esperti del settore (dietisti, oncologi, psicologi, farmacisti, esperti in cure palliative e rappresentanti di pazienti), in una visione multidisciplinare, chiariranno i dubbi e risponderanno direttamente a specifiche domande al fine di aiutare il paziente oncologico a gestire meglio la sintomatologia nutrizionale in corso di cancro.

L'utente che decide di partecipare potrà essere incluso in uno dei due gruppi costituiti. Il primo è un gruppo di intervento nel quale il partecipante sarà invitato per 6 mesi a frequentare il sito internet dedicato allo studio. Questo sito sarà dedicato alla divulgazione di informazioni sui vari problemi nutrizionali che si possono verificare durante la malattia, in particolare come controllare la perdita di peso e mantenere il proprio peso corporeo; come gestire i problemi nutrizionali molto comuni durante la sintomatologia tumorale, e alcuni suggerimenti per una

corretta alimentazione. Sul sito internet ci sarà inoltre la possibilità di fare domande ad esperti, interagire con gli altri partecipanti allo studio e partecipare ad attività specifiche.

I soggetti inseriti nel gruppo di controllo, invece, non avranno accesso al sito web dedicato allo studio, ma riceveranno, nel corso dell'intervento, gli stessi contenuti pubblicati sul sito internet, tramite la posta elettronica. Tali soggetti non avranno quindi la possibilità di interagire tra di loro, ma saranno liberi di navigare in rete alla ricerca di altre informazioni.

Questo gruppo potrà inoltre contattare il gruppo di lavoro tramite una e-mail, facendo domande o chiedendo chiarimenti.

Conclusioni e prospettive future

L'intervento messo in atto da Alleanza Contro il Cancro per far confluire finanziamenti e competenze nazionali in progetti di ampio respiro europeo, dimostra come l'Associazione possa favorire il processo di internazionalizzazione dell'oncologia italiana evidenziando una posizione Paese e attuando un effetto moltiplicativo dei fondi disponibili a livello locale.

Per ulteriori informazioni consultare il sito internet: www.supportonutrizionale.it oppure scrivere a supportonutrizionale@ieo.it

Pubblicazioni conseguite nell'ambito del progetto

Il progetto ha prodotto le seguenti pubblicazioni:

1. De Lorenzo F, Ballatori E, Di Costanzo F, Giacalone A, Ruggeri B, Tirelli U. Improving information to Italian cancer patients: results of a randomized study. *Ann Oncology* 2004;15:721-5.
2. Alleanza contro il Cancro, Istituto Superiore di Sanità. *Indagine su cancro e informazione: che cosa chiedono i malati. ACC: PROGRAMMA 1 – WP 5 “Riduzione delle disparità nell'accesso dei pazienti ai mezzi diagnostici e alle terapie”*. Roma: AIMaC; 2009. Disponibile all'indirizzo: <http://www.aimac.it/getDoc.php?id=1KqU>; ultima consultazione 21/01/11.
3. Muscaritoli M, Preziosa I, Canelli A, De Leo S. *La nutrizione del malato oncologico*. Roma: AIMaC; 2008. Disponibile all'indirizzo: http://www.aimac.it/informazioni-tumore/nutrizione-malato-cancro/dieta-cancro_IKea_1pt.html; ultima consultazione 21/01/11.
4. Rossi Fanelli F, Muscaritoli M, Laviano A, Gavazzi C. *Neoplasia e perdita di peso, che cosa fare?* Roma: AIMaC; 2006. Disponibile all'indirizzo: <http://www.aimac.it/getDoc.php?id=k6SW&pdf=maid>; ultima consultazione 21/01/11.
5. Tomino C, De Lorenzo F, Casali PG, Perrone F, Geraci A, Petrini C, Vella S. *Gli studi clinici sul cancro informazioni per il malato*. Roma: AIMaC; 2007. Disponibile all'indirizzo: <http://www.aimac.it/getDoc.php?id=k6yX&pdf=k6mW>; ultima consultazione 21/01/11.

*La riproduzione parziale o totale dei Rapporti e Congressi ISTISAN
deve essere preventivamente autorizzata.
Le richieste possono essere inviate a: pubblicazioni@iss.it.*

*Stampato da Tipografia Facciotti srl
Vicolo Pian Due Torri 74, 00146 Roma*

Roma, gennaio-marzo 2011 (n. 1)