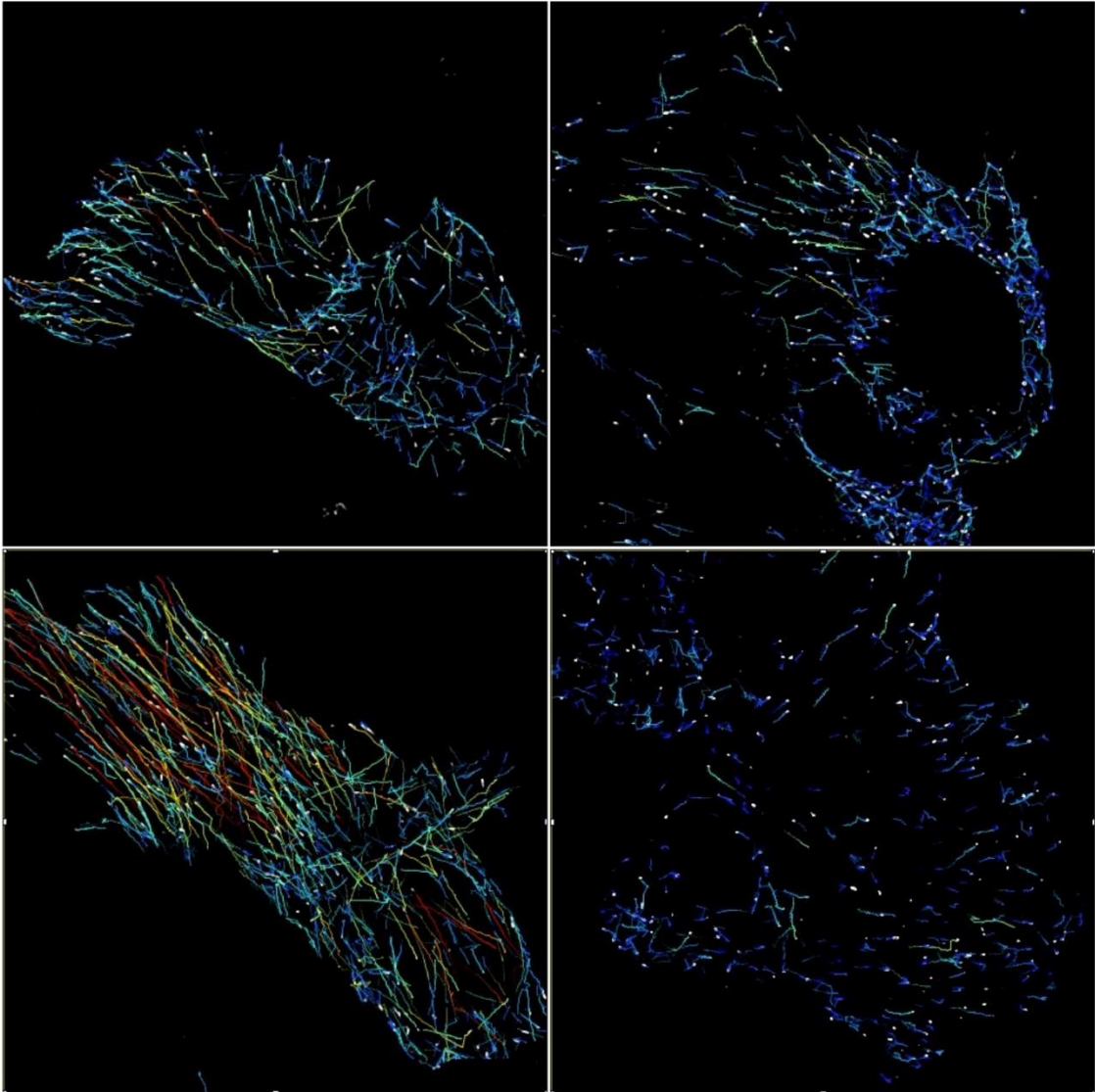


# IEO RESEARCH NEWSLETTER

***n. 4 - September 2024***



*Image by Luca Mazzarella and Eleonora Messuti  
(figure legend on the last page)*

# IEO RESEARCH NEWSLETTER

*n.4 - September 2024*

## WHAT'S NEW IN SCIENCE?

|   |                |
|---|----------------|
| <b>Interferire farmacologicamente con i meccanismi epigenetici: risultati di un clinical trial di fase I.</b> | <b>pag 4</b>   |
| <i>Interfering with epigenetic mechanisms: Results of a phase I clinical trial.</i>                           | <i>page 46</i> |

## WHAT'S NEW FROM IEO RESEARCHERS?

|   |                |
|---|----------------|
| <b>Il sistema di decodifica della cellula.</b>  | <b>pag 6</b>   |
| <i>The cell's decoding system.</i>  | <i>page 48</i> |
| <b>Blastocystis - a microorganism of the gut important for human health.</b>  | <b>pag 9</b>   |
| <i>Blastocystis - un microorganismo intestinale importante per la salute umana.</i>   | <i>page 51</i> |
| <b>Un batterio del microbiota orale è in grado di colonizzare l'intestino e indurre la tumorigenesi.</b>  | <b>pag 12</b>  |
| <i>An oral microbiota bacterium is able to colonize the gut and induce tumorigenesis.</i>   | <i>page 54</i> |
| <b>PETsign - come sfruttare il metabolismo alterato delle cellule tumorali per la prognosi dei pazienti.</b>  | <b>pag 15</b>  |
| <i>PETsign - exploiting the altered metabolism of cancer cells for patient prognosis.</i>   | <i>page 56</i> |
| <b>Un passo avanti verso la radioterapia di precisione in oncologia: sfruttare i complessi nanomolecolari per aumentare l'efficacia della radioterapia.</b> | <b>pag 17</b>  |
| <i>A further step towards precision radiation oncology: Exploiting nano-molecular complexes to enhance radiotherapy efficacy.</i>                           | <i>page 58</i> |
| <b>La messa a punto di un modello tumorale umano in vitro ha permesso l'identificazione di potenziali nuovi target terapeutici nel tumore ovarico.</b>      | <b>pag 19</b>  |
| <i>The set-up of a patient-derived in vitro tumor model enables the identification of potential novel therapeutic targets in ovarian cancer.</i>            | <i>page 60</i> |
| <b>L'epigenoma per predire la specificità degli inibitori delle chinasi.</b>  | <b>pag 21</b>  |
| <i>Exploiting the epigenome to predict specificity of kinase inhibitors.</i>  | <i>page 62</i> |
| <b>Un protocollo ottimizzato per caratterizzare una modificazione epigenetica ad oggi poco studiata e sfruttabile come marcatore tumorale.</b>              | <b>pag 23</b>  |
| <i>An optimized protocol to characterize a largely unexplored epigenetic modification exploitable as a tumor marker.</i>                                    | <i>page 64</i> |
| <b>Un approccio multi-omico per caratterizzare l' "ecosistema tumore".</b>  | <b>pag 25</b>  |

|   |                                 |
|---|---------------------------------|
| <i>A multi-omic approach to profile the “tumor ecosystem”.</i>  | <i>page 66</i>                  |
| <b>Svelati i meccanismi molecolari indotti dal trattamento con trametinib nel tumore pancreatico. E' possibile sfruttarli in chiave terapeutica?</b><br><i>Researchers unveil the molecular mechanisms induced by trametinib treatment in pancreatic cancer. Are they targetable for therapeutic purposes?</i>  | <i>pag 28</i><br><i>page 69</i> |
| <b>Definire l'eterogeneità delle cellule del tumore pancreatico, in termini di morfologia ed espressione genica, per predire in maniera accurata la prognosi dei pazienti.</b><br><i>Dissecting pancreatic cancer morphological and gene expression-related heterogeneity to accurately predict patient prognosis.</i>  | <i>pag 30</i><br><i>page 71</i> |
| <b>La collaborazione tra le proteine che termina la trascrizione.</b><br><i>Protein cooperation that terminates transcription.</i>  | <i>pag 33</i><br><i>page 74</i> |
| <b>La metilazione del DNA come potenziale biomarcatore nei tumori testa-collo con Susanna Chiocca e Mohssen Ansarin – lavori in corso.</b><br><i>DNA methylation as a potential head and neck cancer biomarker with Susanna Chiocca and Mohssen Ansarin – work in progress.</i>   | <i>pag 35</i><br><i>page 76</i> |
| <b>Quando diventa difficile, fai una siesta - sotto pressione indotta dalla terapia, le cellule tumorali si adattano ed entrano in uno stato di dormienza per sopravvivere e successivamente alimentare la recidiva.</b><br><i>When it's tough, take a nap - Under therapeutic pressure, cancer cells adapt and enter dormancy to survive and then fuel tumor recurrence.</i> | <i>pag 36</i><br><i>page 77</i> |

## NEWS, INITIATIVES AND EVENTS FROM THE IEO WORLD

|   |                                 |
|---|---------------------------------|
| <b>Auguri agli otto nuovi dottori di ricerca di IEO!</b><br><i>Congratulations to the eight new IEO PhDs!</i>   | <i>pag 39</i><br><i>page 80</i> |
| <b>Lo IEO ottiene anche quest'anno l'accreditamento all'eccellenza della Joint Commission International.</b><br><i>Once again, IEO has been accredited by the Joint Commission International.</i> | <i>pag 40</i><br><i>page 81</i> |
| <b>Giuseppe Curigliano, nuovo Presidente ESMO per il biennio 2027-2028.</b><br><i>Giuseppe Curigliano, new ESMO President for 2027-2028.</i>  | <i>pag 41</i><br><i>page 81</i> |

## IEO MEMBERS - LET'S GET TO KNOW THEM BETTER

|  |                         |
|--|-------------------------|
| <b>Chiara Battistini (Post-doc, Cavallaro Group), Francesco Gualdrini (Post-doc, Natoli Group), Elisa Piperni (PhD student, Segata Group), Deborah Mesa (Post-doc, Sigismund Group).</b> | <i>pag 42 - page 83</i> |
|--|-------------------------|

## THE BRIEFING

|  |                |
|--|----------------|
| <b>A glance through recent papers from IEO Researchers, and from the whole scientific community.</b> | <i>page 87</i> |
|--|----------------|

## THIS MONTH WE WELCOME

**Welcome to the new members of the IEO community!**

*page 101*

What's new in science?

# Interferire farmacologicamente con i meccanismi epigenetici: risultati di un clinical trial di fase I.

Uno studio clinico multicentrico di fase I mostra un'efficacia antitumorale duratura del trattamento con un farmaco epigenetico –che inibisce selettivamente una proteina coinvolta nella modificazione epigenetica delle proteine istoniche– somministrato da solo o in combinazione con fulvestrant, in pazienti per cui ancora oggi le opzioni terapeutiche disponibili sono limitate, ovvero pazienti con tumore al seno metastatico/avanzato in cui il tumore è progredito dopo un precedente trattamento. Questi risultati incoraggiano ulteriori studi preclinici e clinici volti ad esplorare il mondo dei farmaci epigenetici in ambito clinico.

L'epigenetica gioca un ruolo fondamentale nei processi cellulari. La modificazione chimica del DNA o di proteine associate al DNA è il risultato di un equilibrio dinamico tra la deposizione e la rimozione di gruppi chimici. Le proteine responsabili di queste modificazioni epigenetiche sono quindi coinvolte in maniera critica nella fisiologia e nella patologia della cellula e diversi studi hanno mostrato che nel cancro l'attività di queste proteine è spesso alterata.

In particolare, l'acetilazione delle proteine istoniche è il risultato dell'attività di acetiltransferasi (HAT) e deacetilasi istoniche (HDAC), che rispettivamente aggiungono e rimuovono gruppi acetile dalle proteine istoniche. L'inibizione dell'attività di queste proteine rappresenta quindi un campo di ricerca in crescita, per via del potenziale che potrebbe avere sul decorso della malattia interferire con i meccanismi associati. Gli inibitori di HDAC sono stati approvati per il trattamento dei pazienti con tumori ematologici e studi preclinici in vivo hanno mostrato l'attività antitumorale degli inibitori di HAT –nello specifico, inibitori delle proteine KAT, che sono un tipo di HAT– nei tumori solidi.

**Scoperta principale.** Nel contesto di uno studio clinico multicentrico di fase I, i ricercatori hanno mostrato che il trattamento dei pazienti con un farmaco epigenetico –PF-07248144– che inibisce selettivamente la proteina KAT, somministrato da

solo o in combinazione con fulvestrant (farmaco antiestrogeno utilizzato per il trattamento di donne in menopausa con tumore al seno ER+ recidivante) ha un'efficacia antitumorale durevole, e un profilo di tossicità gestibile, nei pazienti con tumori solidi, in particolare in pazienti con tumore al seno avanzato/metastatico in cui il tumore è progredito dopo un precedente trattamento. Per questo sottogruppo di pazienti ancora oggi le opzioni terapeutiche disponibili sono limitate.

**Risultati.** Tra i pazienti arruolati nel trial clinico, alcuni sono stati inclusi nella fase di "dose escalation" al fine di identificare la dose massima di farmaco epigenetico somministrata e ben tollerata dai pazienti (somministrando il farmaco epigenetico soltanto, a cinque diversi dosaggi) e la dose ottimale (raccomandata) da sottoporre ad analisi ulteriori, da sola o in combinazione con fulvestrant, nelle fasi successive. Nella fase di "dose expansion", la dose ottimale selezionata (5mg una volta al giorno) è stata ulteriormente valutata, sia da sola che in combinazione con fulvestrant.

**Sicurezza.** Quasi tutti i pazienti in seguito alla somministrazione del farmaco epigenetico da solo e tutti i pazienti che ricevevano la terapia di combinazione mostravano un qualche tipo di evento avverso. Alcuni eventi avversi erano di

grado elevato. Tuttavia, in generale il profilo di tossicità era gestibile.

**Efficacia.** In termini di efficacia clinica, i risultati erano incoraggianti. Il trattamento era in grado di inibire fortemente l'attività della proteina target –KAT– ed aveva un'efficacia anti-tumorale duratura. Quando somministrato da solo, l'inibitore determinava una notevole riduzione della lesione tumorale in un'elevata percentuale di pazienti. Gli effetti clinici del farmaco (in termini di progression-free survival, risposta

*“Questi risultati incoraggiano ulteriori studi preclinici e clinici volti ad esplorare il mondo dei farmaci epigenetici in ambito clinico”*

generale, benefici clinici) erano significativi soprattutto in combinazione con fulvestrant e nel trattamento di pazienti con tumore al seno ER+HER2– metastatico precedentemente trattati (con inibitori di CDK4/6 o terapia endocrina), per cui ad oggi le opzioni terapeutiche disponibili sono limitate.

Infine, gli autori hanno confermato l'efficacia del farmaco nel ridurre i livelli di acetilazione delle proteine istoniche attraverso l'inibizione della

proteina KAT (che aggiunge gruppi acetile agli istoni), sia quando somministrato da solo che quando somministrato in combinazione con fulvestrant, così come la capacità della biopsia liquida di rilevare, in un gran numero di pazienti, i cambiamenti indotti dalla terapia sul numero di mutazioni nel DNA tumorale circolante.

**Conclusioni.** Gli incoraggianti risultati raccolti nell'ambito di questo trial clinico di fase I indicano un'efficacia antitumorale significativa e duratura di un farmaco epigenetico che agisce inibendo in maniera selettiva l'attività delle proteine coinvolte nell'acetilazione delle proteine istoniche, soprattutto quando somministrato in combinazione con fulvestrant, per il trattamento di un sottogruppo di pazienti con tumore al seno per cui ad oggi le opzioni terapeutiche disponibili sono limitate, ovvero pazienti con tumore al seno in stadio avanzato, precedentemente trattati. Inoltre, il profilo di tossicità, nel complesso gestibile, incoraggia ulteriori studi volti ad approfondire l'efficacia di questa terapia di combinazione in studi clinici di fasi successive e supporta ulteriori studi preclinici e clinici volti ad esplorare il mondo dei farmaci epigenetici in ambito clinico.

---

**Referenza.** Inhibition of lysine acetyltransferase KAT6 in ER+ HER2– metastatic breast cancer: a phase 1 trial. Toru Mukohara, Yeon Hee Park, David Sommerhalder, Kan Yonemori, Erika Hamilton, Sung-Bae Kim, Jee Hyun Kim, Hiroji Iwata, Toshinari Yamashita, Rachel M. Layman, Monica Mita, Timothy Clay, Yee Soo Chae, Catherine Oakman, Fengting Yan, Gun Min Kim, Seock-Ah Im, Geoffrey J. Lindeman, Hope S. Rugo, Marlon Liyanage, Michelle Saul, Christophe Le Corre, Athanasia Skoura, Li Liu, Meng Li & Patricia M. LoRusso. Nature Medicine 2024. doi: 10.1038/s41591-024-03060-0.

What's new from IEO Researchers?

## Il sistema di decodifica della cellula.

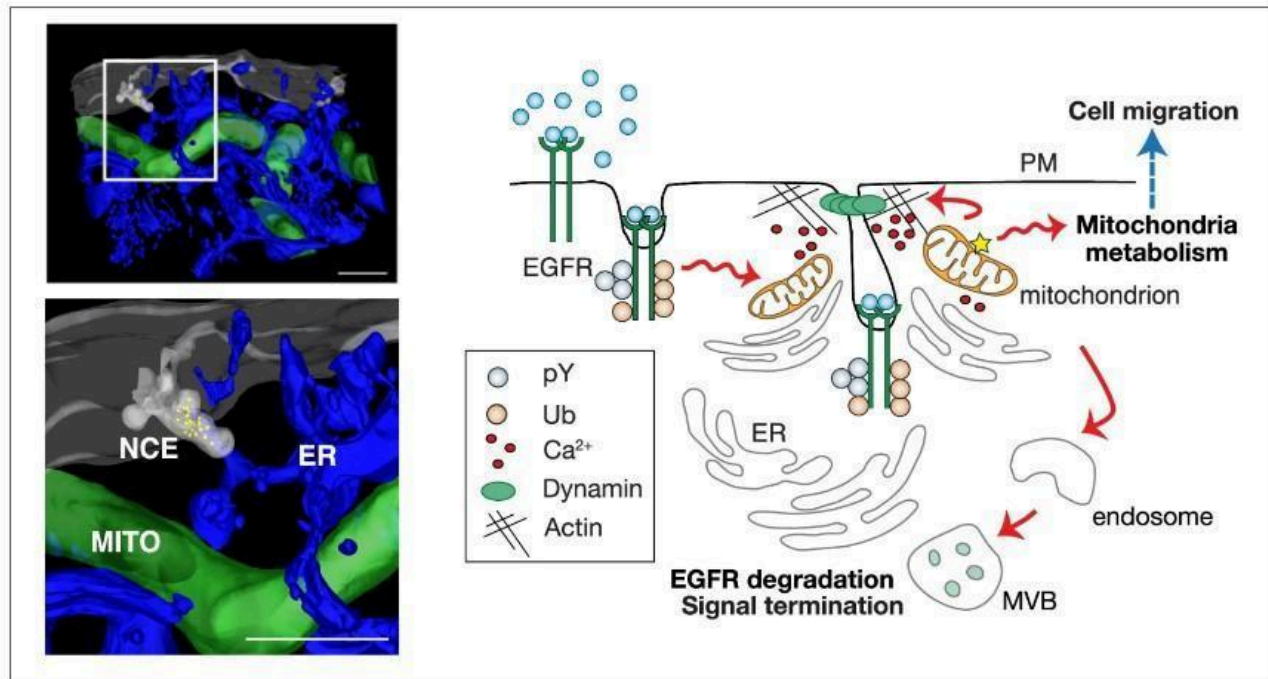


Figure adapted from Mesa et al., Nature communications 2024. \*

Le cellule interagiscono e rispondono a stimoli esterni sfruttando un “linguaggio”, una sorta di “codice molecolare” costituito da molecole diverse, a diverse concentrazioni, che legano proteine diverse (recettori), con una diversa durata, inducendo processi cellulari diversi. Ad esempio, quando la concentrazione di EGF è bassa, il legame al suo recettore (EGFR) induce una serie di processi all’interno della cellula che portano alla proliferazione, mentre quando la concentrazione di EGF è più alta questo segnale è attenuato. Comprendere il “codice molecolare” delle cellule è fondamentale per poter interferire quando necessario, ad esempio in contesti patologici, per ripristinare le normali condizioni fisiologiche.

In un articolo recente di Deborah Mesa et al., gli autori, diretti da Sara Sigismund e Pier Paolo di Fiore –entrambi PI del dipartimento di Oncologia Sperimentale di IEO–, hanno svelato il “codice” usato dalle cellule per tradurre uno specifico segnale, indotto da una certa concentrazione di EGF, in uno specifico comportamento cellulare, ovvero hanno descritto, con una risoluzione subcellulare, i meccanismi attraverso cui a dosi elevate di EGF viene indotta la migrazione cellulare. Questi meccanismi implicano cambiamenti transienti della concentrazione di calcio a livello di specifiche strutture all’interno della cellula –delle “piattaforme” funzionali– che si formano in seguito alla diretta interazione tra la membrana cellulare, il reticolo endoplasmatico e i mitocondri. Gli aumenti transienti di concentrazione di calcio vengono percepiti dai mitocondri, che rispondono aumentando l’attività mitocondriale; la cascata di eventi a valle porta all’internalizzazione dell’EGFR e alla migrazione cellulare. La temporanea formazione di questa “piattaforma” membrana cellulare-mitocondri-reticolo endoplasmatico all’interno della cellula permette infatti l’incremento significativo, ma transiente, della concentrazione di calcio in specifiche aree ristrette, fornendo al segnale la necessaria specificità.

La scoperta di questo meccanismo può essere sfruttata in ambito clinico? Le alterazioni (mutazioni o amplificazioni) del gene EGFR, determinando un’iperattivazione anomala (spesso indipendente da ligando)



*Sara Sigismund*

dei processi cellulari a valle, sono note contribuire al processo di tumorigenesi. Infatti, ad esempio, anticorpi coniugati a farmaci che colpiscono EGFR si sono dimostrati efficaci in diversi tumori solidi. Rivelando i meccanismi molecolari alla base della cascata di eventi associata alla stimolazione con EGF in condizioni fisiologiche e l'associazione con l'attività mitocondriale, gli autori suggeriscono un potenziale nuovo target farmacologico in tumori collegati a EGFR, attraverso la combinazione con terapie mitocondriali, sempre più spesso indagate per il loro potenziale terapeutico in numerose condizioni patologiche, tra cui il cancro.

### ----- TELL ME MORE! -----

Diverse concentrazioni di EGF inducono comportamenti cellulari differenti: a basse concentrazioni, l'EGF si lega al recettore e ne induce l'endocitosi attraverso la via mediata da clatrina (CME) che sostiene il *signaling* di EGFR e promuove la proliferazione (re-indirizzando i recettori verso la membrana cellulare); ad alte concentrazioni di EGF si attiva anche l'endocitosi non mediata da clatrina (NCE) che attenua questo *signaling* (indirizzando i recettori verso la degradazione).

In questo lavoro, gli autori mostrano che soltanto dosi elevate di EGF inducono la transiente, diretta interazione del machinery responsabile dell'internalizzazione di EGFR, situato a livello della membrana plasmatica, con il reticolo endoplasmatico, che a sua volta è in stretto contatto con i mitocondri. L'interazione di queste strutture cellulari determina la formazione di una piattaforma funzionale, implicata nella risposta cellulare alla stimolazione con EGF, modulando il comportamento della cellula stessa.

I ricercatori hanno analizzato in dettaglio gli specifici meccanismi coinvolti nella formazione di questa "piattaforma": la stimolazione con concentrazioni elevate di EGF induce delle oscillazioni nella concentrazione di calcio a livello della membrana che dipendono dall'attività di buffering di calcio dei mitocondri. Inoltre, i mitocondri percepiscono questi cambiamenti della concentrazione di calcio e rispondono aumentando la loro attività e la produzione di ATP in specifiche aree in prossimità della membrana cellulare, dove si forma questa "piattaforma".

***"la temporanea formazione di questa "piattaforma" membrana cellulare-mitocondri-reticolo endoplasmatico all'interno della cellula permette infatti l'incremento significativo, ma transiente, della concentrazione di calcio in specifiche aree ristrette, fornendo al segnale la necessaria specificità"***

Questo aumento di ATP è necessario per portare a termine l'internalizzazione di EGFR via NCE –ma non via CME–, influenzando il rimodellamento del citoscheletro di actina, portando alla



degradazione del recettore e infine attenuando i segnali di proliferazione.

La cascata di eventi indotta da concentrazioni elevate di EGF –che include le oscillazioni di calcio in aree spazialmente ristrette, la produzione di ATP, il rimodellamento dell’actina– aumenta la migrazione cellulare, dimostrando un nuovo meccanismo di regolazione della migrazione cellulare indotta da EGF.

Infine, gli autori hanno mostrato che il meccanismo descritto non è specifico di EGFR, ma avviene anche in seguito alla stimolazione di HGFR (MET) con HGF, indicando che le cellule usano lo stesso “codice” per tradurre elevate concentrazioni di un dato fattore di crescita in uno specifico comportamento cellulare.

### Colpire l’attività mitocondriale in chiave terapeutica.

I mitocondri sono considerati target importanti in diverse patologie, tra cui i tumori, le malattie neurodegenerative e le sindromi metaboliche. L’attività dei mitocondri gioca un ruolo cruciale nella sopravvivenza e nella proliferazione cellulare e rappresenta quindi un punto debole delle cellule tumorali. Metformina e IACS-010759 sono due esempi di farmaci che inibiscono il metabolismo mitocondriale, con risultati promettenti, in studi preclinici in vitro e in vivo, in diversi tipi di tumore. La metformina è comunemente impiegato in ambito clinico per il trattamento del diabete, con pochi effetti collaterali ed è stato ampiamente investigato in ambito preclinico, epidemiologico e clinico per il suo potenziale antitumorale. IACS-010759 ha mostrato, in vitro e in studi preclinici in vivo, una notevole efficacia antitumorale. Entrambe le molecole agiscono inibendo il complesso mitocondriale I. Nonostante le difficoltà emerse dalla sperimentazione preclinica e clinica, le terapie che puntano ad interferire con il metabolismo mitocondriale per contrastare –o prevenire– il processo di tumorigenesi possiedono in principio un gran potenziale e la possibile sinergia con altri trattamenti potrebbe portare alla definizione di approcci terapeutici nuovi ed efficaci. Sulla base dei risultati di questo studio, si potrebbe ad esempio immaginare una terapia di combinazione che interferisca allo stesso tempo con il *signaling* associata all’iperattivazione di EGFR e con l’alterata attività mitocondriale?

**Referenza.** A tripartite organelle platform links growth factor receptor signaling to mitochondrial metabolism. Mesa D, Barbieri E, Raimondi A, Freddi S, Miloro G, Jendrisek G, Caldieri G, Quarto M, Schiano Lomoriello I, Malabarba MG, Bresci A, Manetti F, Vernuccio F, Abdo H, Scita G, Lanzetti L, Polli D, Tacchetti C, Pinton P, Bonora M, Di Fiore PP, Sigismund S. Nat Commun. 2024 doi: 10.1038/s41467-024-49543-z.

\*Figure adapted from Mesa et al., an open access [article](#) under the [CC-BY](#) licence.

What's new from IEO Researchers?

# Blastocystis - un microorganismo intestinale importante per la salute umana.

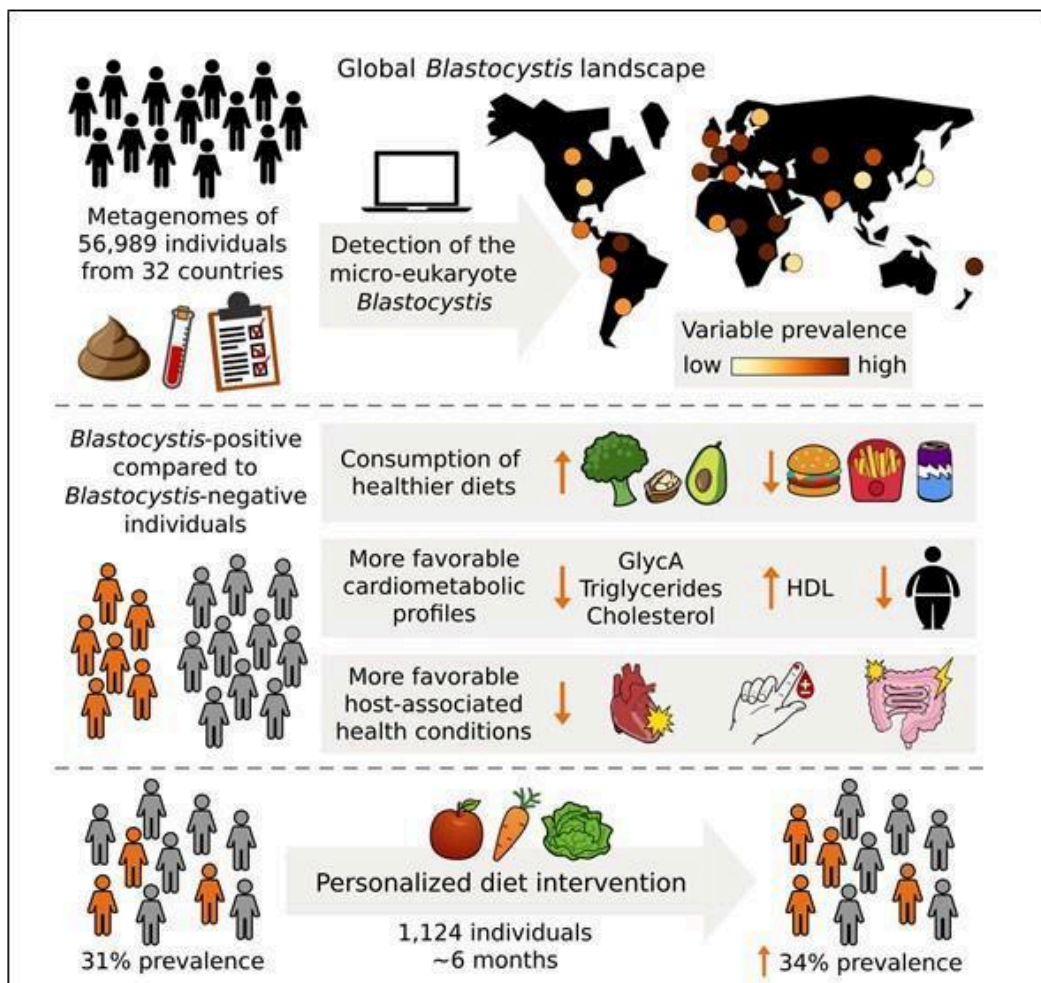


Figure from Piperni, Nguyen et al., Cell 2024. \*

Il microbioma intestinale è l'insieme dei microrganismi che colonizzano l'intestino umano. I batteri che abitano l'intestino sono ampiamente studiati ed è stato evidenziato il loro ruolo nella salute umana. Ad esempio, nel cancro, i batteri intestinali sono coinvolti in maniera cruciale nella risposta ad immunoterapia e studi precedenti suggeriscono che, nel neuroblastoma, potrebbero essere sfruttati per alleviare la sintomatologia associata al tumore. Il microbioma intestinale contiene però anche microrganismi eucarioti, ad oggi molto poco studiati. I microrganismi eucarioti giocano un ruolo simile ai batteri intestinali nella salute e nella patologia umana?

In uno studio recente, coordinato da Nicola Segata -Group leader del dipartimento di oncologia sperimentale di IEO e professore dell'Università di Trento- e Francesco Asnicar -dell'università di Trento-

Elisa Piperni -dottoranda del gruppo Segata- e colleghi hanno mostrato che *Blastocystis*, uno specifico microrganismo eucariote intestinale, è un marcatore, e probabilmente un attore importante, nello stato di salute. Nello specifico, gli autori hanno scoperto che la prevalenza di *Blastocystis* è direttamente collegata alla dieta, è inversamente correlata con il peso corporeo, aumenta in seguito ad un miglioramento della qualità della dieta, ed è correlato con la salute cardiometabolica, suggerendo fortemente un ruolo attivo e potenzialmente benefico di *Blastocystis* nella salute umana.

Uno stile di vita sano, che include una dieta sana, con un elevato consumo di alimenti di origine vegetale e un ridotto consumo di cibi altamente processati, è solitamente consigliato per ridurre il rischio di malattie croniche e il microbiota intestinale rappresenta “l’anello di congiunzione” e la ragione “meccanicistica” per queste raccomandazioni. Questo studio indica il ruolo chiave di *Blastocystis* in questo scenario, specialmente nel contesto della salute cardiometabolica. E’ plausibile quindi ipotizzare un ruolo simile di *Blastocystis* nel cancro? “In questo studio –spiega Elisa Piperni, prima firma del lavoro- mostriamo una minore probabilità di ospitare *Blastocystis* in individui con malattie legate a disbiosi intestinale, come diabete, malattia infiammatoria intestinale, o anche tumore del colon retto, suggerendo un impatto favorevole di *Blastocystis* sulla salute umana che potrebbe essere chiarito in futuro attraverso ulteriori studi sperimentali. Inoltre, ad oggi la presenza di *Blastocystis* nell’intestino è un criterio per escludere potenziali donatori da interventi di trapianto di microbiota fecale (FMT). I nostri risultati evidenziano la necessità di studi mirati a valutare la sicurezza e l’efficacia di FMT anche da donatori positivi per *Blastocystis*. In generale, questo lavoro sottolinea l’importanza di investigare maggiormente la componente non-batterica del microbiota intestinale”.

**“questo lavoro sottolinea l’importanza di investigare maggiormente la componente non-batterica del microbiota intestinale”**

### ----- TELL ME MORE! -----

Tramite l’analisi di circa 57 mila campioni metagenomici con metodi computazionali, gli autori hanno caratterizzato *Blastocystis* nel microbioma umano. Dalle loro analisi è emerso che *Blastocystis* era presente solo nel microbioma intestinale (non nella cavità orale né sulla cute) e la sua prevalenza variava in maniera significativa geograficamente (e.g. ~7% in Nord America vs ~22% in Europa) e con il peso corporeo (era infatti meno prevalente in individui obesi/sovrappeso). Inoltre, *Blastocystis* non era presente nei neonati, indicando che non era trasmesso verticalmente dalla madre al figlio. *Blastocystis* era rilevabile già in campioni antichi (ad esempio in paleofeci del 600 d.C.), indicando che la sua presenza non è strettamente collegata ai tempi moderni. La colonizzazione intestinale da parte di *Blastocystis* persisteva nel tempo e analisi su coppie di gemelli hanno rivelato che non appariva collegata alle caratteristiche genetiche dell’ospite, ma era piuttosto associata a fattori ambientali. Inoltre, la presenza di *Blastocystis* era associata al tipo di dieta (ovvero, onnivoro, vegetariano, vegano) ed era maggiore nei vegetariani. Anche tra individui con regimi dietetici paragonabili, la prevalenza di *Blastocystis* correlava con un più basso indice di massa

corporea, suggerendo un effetto diretto di *Blastocystis* sull’adiposità.

Approfondendo l’analisi, e focalizzandosi sulla prevalenza di ogni specifico sottotipo umano di *Blastocystis* in relazione alla località geografica e allo stile di vita (ovvero occidentalizzato vs. non-occidentalizzato, sulla base di fattori come dieta, assunzione di calorie e grassi, uso di antibiotici e farmaci, ecc.), gli autori hanno osservato che la prevalenza dei diversi sottotipi (ST) variava a seconda dello stile di vita: ad esempio, ST1 e ST2 erano prevalenti nelle popolazioni non-occidentalizzate, mentre ST4 era presente solo nelle popolazioni occidentalizzate ed era comune tra gli europei. Inoltre, i sottotipi di *Blastocystis* profilati erano poco presenti negli altri esseri viventi (e, quando c’erano, si trattava soprattutto di primati in cattività).

Diversi marcatori di salute cardiometabolica erano associati con la presenza di *Blastocystis* (ma non associati in maniera specifica con i diversi sottotipi di *Blastocystis*). E’ importante sottolineare che *Blastocystis* era di per sé un marcatore di salute cardiometabolica, indipendentemente dalla dieta, suggerendo che la presenza di *Blastocystis* potrebbe avere un effetto benefico sulla salute cardiometabolica, in



Nicola Segata

aggiunta alla dieta. Nel complesso, *Blastocystis* era prevalente negli individui sani rispetto ai soggetti malati, indicando che potrebbe essere una componente integrante del microbioma più sano.

Dato che *Blastocystis* abita l'intestino umano insieme ai batteri, gli autori hanno valutato l'esistenza di eventuali interazioni tra *Blastocystis* e altri membri del microbiota. I risultati hanno mostrato che gli individui *Blastocystis*-positivi

avevano una più alta *alpha diversity* (ovvero, numero di specie) e una specifica composizione, in termini di popolazioni batteriche, del microbiota intestinale, che poteva essere sfruttata per predire la presenza di *Blastocystis*. Hanno anche identificato alcune determinate specie batteriche direttamente e inversamente correlate con la presenza di *Blastocystis*, suggerendo fortemente un'associazione tra la componente batterica del microbiota intestinale e *Blastocystis*.

Infine, in una coorte di più di mille individui che per sei mesi hanno migliorato la qualità della loro dieta, gli autori hanno osservato un aumento della prevalenza e abbondanza di *Blastocystis*. In particolare, *Blastocystis* è stato acquisito da circa il doppio degli individui rispetto a quelli in cui invece è scomparso, e la sua abbondanza

relativa è aumentata negli individui colonizzati da *Blastocystis* sia prima che dopo il miglioramento di dieta, indicando un impatto positivo della qualità della dieta sulla presenza di *Blastocystis*. Uno sguardo approfondito al regime dietetico ha rilevato che l'aumento di *Blastocystis* era legato ad un consumo più alto di fibre e ad una diminuzione del peso corporeo.

---

**Referenza.** Intestinal *Blastocystis* is linked to healthier diets and more favorable cardiometabolic outcomes in 56,989 individuals from 32 countries. Piperni E, Nguyen LH, Manghi P, Kim H, Pasolli E, Andreu-Sánchez S, Arrè A, Birmingham KM, Blanco-Míguez A, Manara S, Valles-Colomer M, Bakker E, Busonero F, Davies R, Fiorillo E, Giordano F, Hadjigeorgiou G, Leeming ER, Lobina M, Masala M, Maschio A, McIver LJ, Pala M, Pitzalis M, Wolf J, Fu J, Zhernakova A, Cacciò SM, Cucca F, Berry SE, Ercolini D, Chan AT, Huttenhower C, Spector TD, Segata N, Asnicar F. Cell 2024. doi: 10.1016/j.cell.2024.06.018.

\*Figure from Piperni, Nguyen et al., an open access [article](#) under the [CC-BY NC ND](#) licence.

What's new from IEO Researchers?

# Un batterio del microbiota orale è in grado di colonizzare l'intestino e indurre la tumorigenesi.

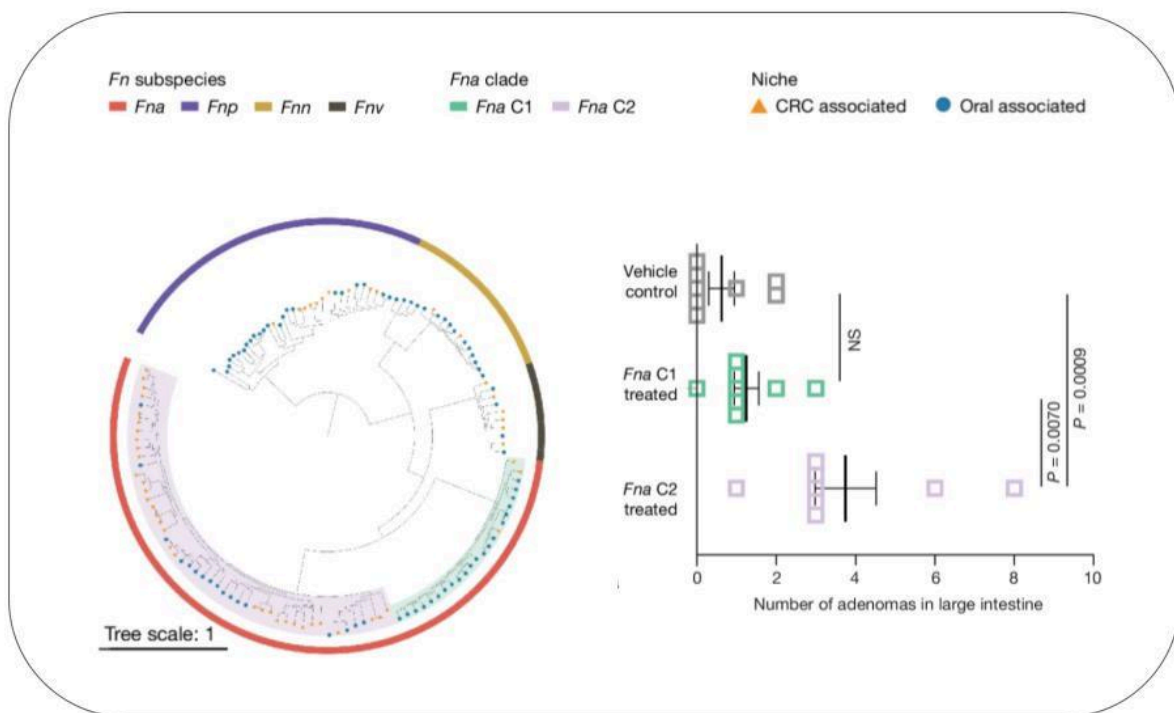


Figure from Zepeda-Rivera et al., Nature 2024. \*

*Fusobacterium nucleatum* (FN) è un batterio comunemente presente nella cavità orale. Studi recenti hanno però rivelato un suo ruolo anche nel tratto gastrointestinale inferiore: FN è abbondante nel tessuto tumorale rispetto al tessuto sano del colon; i pazienti con livelli elevati di FN hanno una prognosi peggiore e interventi diretti contro il microbiota, per colpire in maniera specifica FN, sono in grado di interferire con il decorso della malattia. La specie FN è tuttavia molto eterogenea e diverse sottospecie potrebbero avere giocare un ruolo diverso nel processo di tumorigenesi.

In un articolo di Martha Zepeda-Rivera et al., recentemente pubblicato sulla rivista Nature, gli autori, tra cui Nicola Segata -Group Leader del Dipartimento di Oncologia Sperimentale di IEO e professore ordinario all'Università di Trento- mostrano che alcune sottospecie di FN -nello specifico, un clade, ovvero "gruppi" di batteri con la stessa specie di origine- sono abbondanti nel microambiente tumorale del colon e promuovono la tumorigenesi. Questi batteri sono diversi dal punto di vista genetico e hanno la capacità di gestire condizioni diverse e "ostili" come quelle dello stomaco, caratterizzate da un pH molto acido, sopravvivere e quindi migrare fino all'intestino. Una volta colonizzato l'intestino, questi batteri modificano il microambiente del tessuto colonizzato, alterando il profilo metabolomico e promuovendo la formazione del tumore.

Questo studio fornisce una spiegazione meccanicistica alla base del ruolo patogenico di certe componenti del microbiota e indica che le sottospecie di FN appartenenti a questo specifico clade potrebbero essere

considerate in prospettiva terapeutica, come target farmacologico per interferire con gli effetti patogeni di alcune componenti del microbiota.

### ----- TELL ME MORE! -----

I ricercatori hanno caratterizzato e confrontato il genoma di diverse sottospecie di FN isolate dal tessuto tumorale dei pazienti con tumore del colon (CRC) e, come controllo, da campioni orali di donatori sani, evidenziando numerose differenze nel genoma: le sottospecie di FN associate con il CRC avevano un genoma accessorio (ovvero la parte “non-core” del genoma, quella che non è conservata in tutti i membri di FN) più piccolo rispetto a quelle che colonizzavano la cavità orale. Molti geni erano diversamente arricchiti (cioè, più/meno presenti nell'intero genoma microbico) nelle sottospecie di FN associate con il tessuto tumorale rispetto a quelle della cavità orale, tra cui, principalmente, geni del metabolismo.

Analisi approfondite hanno rivelato che la specie FN poteva essere ulteriormente suddivisa in quattro sottospecie e solo una di esse (FNA) era associata con il CRC. Ulteriori analisi ad alta risoluzione hanno mostrato che la sottospecie -FNA- associata al tumore era formata da due diversi clade: FNA clade 1 (FnaC1) e FNA clade 2 (FnaC2). Entrambi i clade erano presenti nella cavità orale, ma solo FnaC2 era associato con il CRC.

Sebbene FnaC1 e FnaC2 avessero un genoma “core” simile (in termini di dimensioni), FnaC2 aveva un genoma accessorio più grande, che probabilmente rappresentava quei fattori che fornivano a questo clade la capacità di colonizzare il CRC. FnaC2 possedeva quindi (nel genoma accessorio) le caratteristiche che gli permettevano di colonizzare, oltre alla cavità orale, il tratto inferiore dell'intestino, che FnaC1, invece, non possedeva. I geni del metabolismo erano particolarmente arricchiti in FnaC2 rispetto a FnaC1. I due clade erano anche morfologicamente diversi.

Inoltre, analisi trascrittomiche dei batteri esposti ai metaboliti intestinali hanno rivelato diversi geni diversamente espressi in FnaC1 e FnaC2. I due clade mostravano una diversa capacità di percepire e gestire il pH più basso -rispetto alla cavità orale- dello stomaco. La capacità di sopravvivere e proliferare nell'ambiente

fortemente acido dello stomaco era dovuto principalmente alla presenza, in FnaC2, del sistema GDAR (glutamate-dependent acid resistance) per il controllo del pH. L'evoluzione di questo sistema di controllo del pH contribuiva probabilmente all'accesso, alla sopravvivenza e alla colonizzazione del microambiente del tratto gastrointestinale da parte di FnaC2 (gli autori

*“alcune sottospecie di Fusobacterium Nucleatum sono abbondanti nel microambiente tumorale del colon e promuovono la tumorigenesi. Questi batteri sono diversi dal punto di vista genetico e hanno la capacità di gestire condizioni diverse e “ostili” come quelle dello stomaco, caratterizzate da un pH molto acido, sopravvivere e quindi migrare fino all'intestino.*

*Una volta colonizzato l'intestino, questi batteri modificano il microambiente del tessuto colonizzato, alterando il profilo metabolomico e promuovendo la formazione del tumore”*

hanno anche riscontrato, in FnaC2, l'up regolazione degli stessi geni del metabolismo emersi dall'analisi genomica, i geni eut e pdu).

In vivo, la somministrazione di FnaC2 agli animali risultava in un numero significativamente maggiore di masse tumorali, soprattutto quando si confrontavano gli animali a cui veniva somministrato FnaC2 rispetto al veicolo, ma anche, sebbene in minor misura, confrontando quelli a cui veniva somministrato FnaC2 rispetto a quelli a cui veniva somministrato FnaC1. Le analisi metabolomiche dell'intestino degli animali hanno rivelato che mentre il profilo metabolomico degli animali a cui era stato somministrato FnaC1 era simile a quello degli animali iniettati con il veicolo, i topi trattati con FnaC2 avevano un diverso profilo metabolomico: l'abbondanza di FnaC2 era quindi in grado di alterare il profilo metabolico dell'intestino, promuovendo l'insorgenza del tumore.

Nei campioni umani (tessuti umani e campioni fecali), FnaC2 -ma non FnaC1- era infatti più abbondante nel tessuto del tumorale rispetto al tessuto adiacente sano.

In conclusione, tramite analisi ad alta risoluzione, gli autori hanno dimostrato l'esistenza di quattro sottospecie di FN, una delle quali comprendente due diversi clade. Uno di questi due clade si è

evoluto per sopravvivere in condizioni microambientali ostili come quelle dello stomaco -caratterizzate da un pH molto acido- e colonizzare quindi l'intestino, alterare il profilo metabolomico del tessuto ed instaurare delle condizioni in grado di sostenere la crescita del

---

tumore. Infine, gli autori hanno identificato i determinanti genetici che consentono l'adattamento, la sopravvivenza e la colonizzazione di questo clade al microambiente intestinale.

---

**Referenza.** A distinct *Fusobacterium nucleatum* clade dominates the colorectal cancer niche. *Martha Zepeda-Rivera, Samuel S Minot, Heather Bouzek, Hanrui Wu, Aitor Blanco-Míguez, Paolo Manghi, Dakota S Jones, Kaitlyn D LaCourse, Ying Wu, Elsa F McMahon, Soon-Nang Park, Yun K Lim, Andrew G Kempchinsky, Amy D Willis, Sean L Cotton, Susan C Yost, Ewa Sicinska, Joong-Ki Kook, Floyd E Dewhirst, Nicola Segata, Susan Bullman, Christopher D Johnston.* Nature 2024. doi: 10.1038/s41586-024-07182-w.

\*Figure from Zepeda-Rivera et al., an open access [article](#) under the [CC-BY](#) licence.

What's new from IEO Researchers?

# PETsign - come sfruttare il metabolismo alterato delle cellule tumorali per la prognosi dei pazienti.

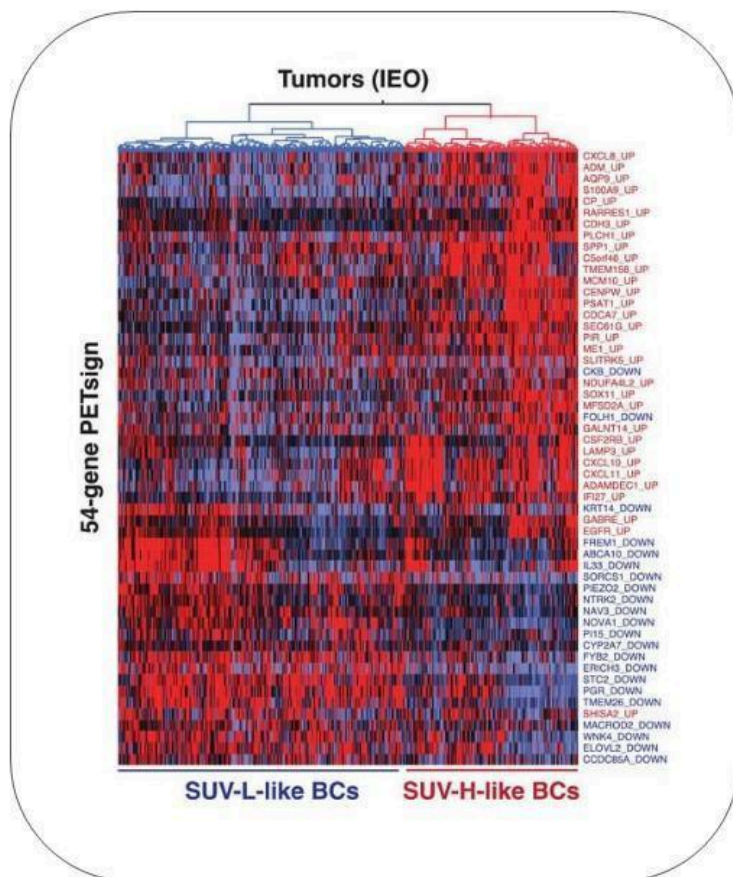


Figure from Confalonieri et al., *Advanced Science* 2024.\*

Durante la progressione del tumore, le cellule tumorali modificano il loro metabolismo. Questi cambiamenti del metabolismo cellulare possono essere rilevati sperimentalmente attraverso diversi approcci, tra cui la FDG-PET. FDG è una molecola (derivata dal glucosio) che viene assorbita dalle cellule. Quando le cellule tumorali modificano il loro metabolismo, la quantità di FDG assorbita cambia. Le analisi PET misurano la quantità di FDG assorbita dalle cellule, che correla con l'aggressività del tumore: un metabolismo più veloce significa un tumore più aggressivo. Misurando i cambiamenti del metabolismo, FDG-PET viene quindi utilizzata per la diagnosi tumorale e il monitoraggio della malattia.

In un articolo recente di Confalonieri et al., gli autori, co-diretti da Pier Paolo Di Fiore -Group leader del dipartimento di oncologia sperimentale di IEO e professore dell'Università di Milano-, sfruttando le

caratteristiche metaboliche delle cellule del tumore al seno, hanno sviluppato una firma molecolare -PETsign-, ovvero uno specifico gruppo di geni i cui livelli di espressione rispecchiano lo stato metabolico delle cellule tumorali, come rilevato sfruttando FDG-PET. PETsign è in grado di identificare i tumori con un comportamento più aggressivo e quindi distinguere i pazienti con una buona prognosi da quelli con una cattiva prognosi, soprattutto nel tumore al seno di tipo luminale, che rappresenta il sottotipo di tumore al seno più comune.

Il potenziale di PETsign in ambito clinico è triplice: rappresenta uno strumento utile per supportare i clinici nel selezionare il miglior approccio di trattamento, innanzitutto identificando i pazienti con i tumori più aggressivi, che quindi necessitano di una terapia più potente, evitando allo stesso tempo un sovratrattamento inutile -con associati effetti collaterali- ai pazienti che non ne hanno bisogno. Inoltre, essendo basata sulle caratteristiche metaboliche delle cellule tumorali, PETsign permette di identificare i



pazienti con maggiori probabilità di rispondere ad una data terapia che interferisce con il metabolismo delle cellule tumorali. Infine, questo studio mostra il ruolo attivo nel processo di tumorigenesi di due geni di PETsign -EGFR e CXCL8- suggerendo il potenziale terapeutico di un trattamento di combinazione che colpisca simultaneamente EGFR -il cui targeting in monoterapia ha fallito nel trattamento del tumore al seno triplo-negativo- e CXCL8.

### ----- TELL ME MORE! -----

Sulla base dei valori di FDG-PET, i pazienti con tumore al seno potevano essere divisi in due gruppi: quelli con valori di FDG più alti (FDGhigh) e quelli con valori bassi di FDG (FDGlow). L'analisi dell'espressione genica dei campioni dei pazienti ha rivelato un certo numero di geni diversamente espressi tra i due gruppi. Tra questi, 54 erano associati con una cattiva prognosi e costituivano PETsign, ovvero una firma molecolare che caratterizzava le cellule tumorali con valori elevati di FDG.

Il profilo di espressione genica alterato delle cellule tumorali caratterizzate da PETsign, associato con i valori alti di FDG e un comportamento molto aggressivo, non veniva acquisito durante la progressione tumorale, ma era presente già nelle fasi iniziali del processo di tumorigenesi. PETsign distingueva, infatti, pazienti FDGhigh e FDGlow già nelle lesioni tumorali localizzate (ductal carcinoma in situ, DCIS), ovvero lo stadio più precoce di tumore al seno.

Sebbene analisi approfondite abbiano rivelato che solo pochi geni di PETsign erano di fatto associati al metabolismo, mentre la maggior parte di essi era associata a pathway infiammatori, PETsign rifletteva delle differenze nel metabolismo delle cellule tumorali (nello specifico, le cellule FDGhigh apparivano dipendere più dalla glicolisi aerobica, mentre le

cellule FDGlow sembravano dipendere più dalla ossidazione degli acidi grassi).

I geni di PETsign non solo rappresentavano dei marcatori delle cellule tumorali più aggressive e con metabolismo alterato, ma giocavano anche un ruolo attivo nel processo di tumorigenesi. Infatti, la stimolazione di due geni di PETsign (EGF e CXCL8) modificava il metabolismo delle cellule tumorali.

Un valore alto di FDG correlava quindi con una cattiva prognosi e PETsign era in grado di distinguere i pazienti FDGlow dai pazienti FDGhigh, identificando i pazienti con prognosi

*“PETsign è una firma molecolare, ovvero uno specifico gruppo di geni i cui livelli di espressione rispecchiano lo stato metabolico delle cellule tumorali, come rilevato sfruttando FDG-PET. PETsign è in grado di identificare i tumori con un comportamento più aggressivo e quindi distinguere i pazienti con una buona prognosi da quelli con una cattiva prognosi”*

peggiore. Inoltre, combinando PETsign con StemPrintER -un'altra firma molecolare sviluppata da ricercatori IEO che riflette il numero di cellule staminali tumorali nella massa tumorale e quindi l'aggressività del tumore- il potere prognostico aumentava significativamente, coerentemente con il fatto che le due firme molecolari rispecchiano tratti biologici diversi: metabolismo e staminalità.

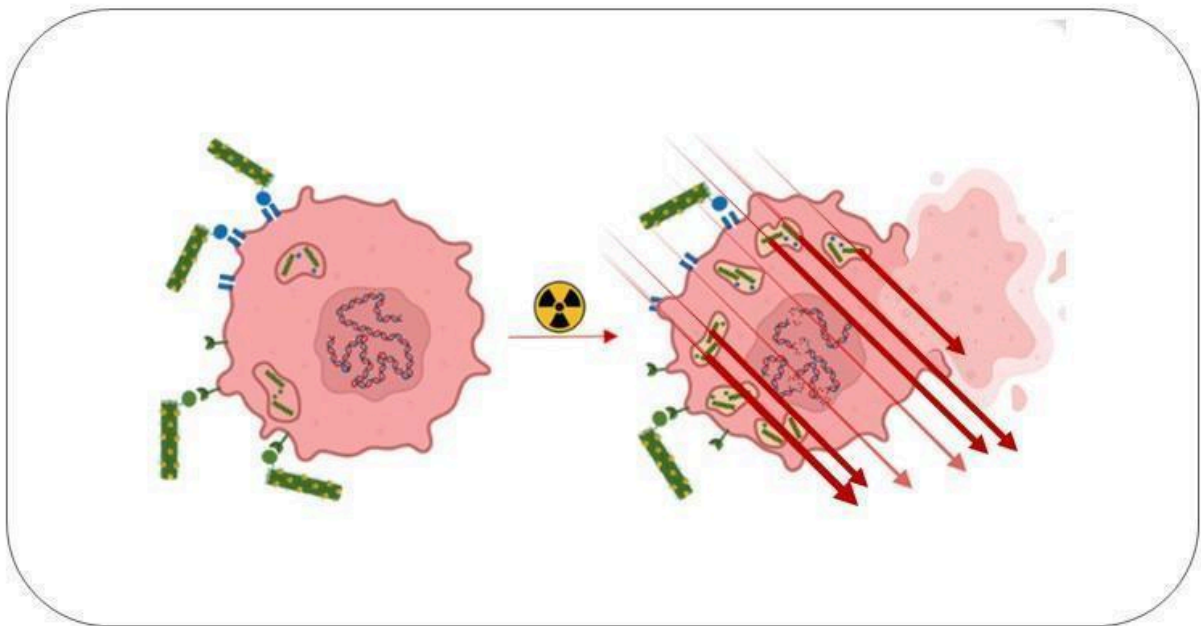
---

**Referenza.** A PET-Surrogate Signature for the Interrogation of the Metabolic Status of Breast Cancers. Confalonieri S, Matoskova B, Pennisi R, Martino F, De Mario A, Miloro G, Montani F, Rotta L, Ferrari ME, Gilardi L, Ceci F, Grana CM, Rizzuto R, Mammucari C, Di Fiore PP, Lanzetti L. Adv Sci (Weinh) 2024. doi: 10.1002/advs.202308255.

\*Figure from Confalonieri et al., an open access [article](#) under the [CC-BY](#) licence.

*What's new from IEO Researchers?*

# Un passo avanti verso la radioterapia di precisione in oncologia: sfruttare i complessi nanomolecolari per aumentare l'efficacia della radioterapia.



*Figure adapted from Biagiotti et al., Nanoscale Horizons 2024.\**

La radioterapia (RT) rappresenta una delle principali opzioni terapeutiche per il trattamento dei tumori solidi e, negli ultimi decenni, è stata oggetto di notevoli progressi tecnologici che, modulando la dose somministrata e aumentando la precisione della somministrazione, hanno determinato un miglioramento significativo della risposta dei pazienti al trattamento.

La RT sfrutta fonti di energia elevata per colpire e uccidere le cellule tumorali, o rallentarne la proliferazione, idealmente risparmiando i tessuti circostanti sani o almeno limitando fortemente la dose ricevuta da questi ultimi. A questo scopo, possono essere impiegate delle molecole chiamate “radiosensibilizzanti”. I radiosensibilizzanti possono essere somministrati in maniera specifica alle cellule tumorali, dove si accumulano rendendo le cellule più sensibili alla radioterapia. In questo modo, pur utilizzando la stessa dose di radiazione, le cellule tumorali che hanno accumulato i radiosensibilizzanti sono più sensibili e quindi è più probabile che muoiano per via della radioterapia rispetto alle altre cellule. In questo scenario, somministrare in maniera precisa i radiosensibilizzanti alle cellule tumorali è di importanza fondamentale.

In un articolo recente di Biagiotti et al., i ricercatori coordinati da Saverio Minucci -Group leader al dipartimento di oncologia sperimentale di IEO e professore all'Università di Milano- e Barbara Richichi -dell'Università di Firenze- hanno sviluppato un complesso molecolare in grado di essere internalizzato in

maniera specifica ed efficiente dalle cellule tumorali e accumularsi all'interno delle cellule, agendo come radiosensibilizzante e rendendo quindi le cellule tumorali più sensibili alla radioterapia.

Le pazienti con tumore al seno triplo-negativo sono generalmente trattate chirurgicamente e successivamente sottoposte a radioterapia. I tumori residui, però, sopravvissuti al primo ciclo di radioterapia, frequentemente sviluppano radioresistenza e, quindi, le pazienti manifestano recidiva. Sfruttando colture in vitro di tumore al seno triplo-negativo, questo lavoro mostra come questa tecnologia permetta di somministrare in maniera efficiente e specifica i radiosensibilizzanti, così da aumentare la radiosensibilità delle cellule tumorali e rendere più efficace il trattamento radioterapico. Sebbene siano necessarie ulteriori validazioni precliniche in vivo e cliniche, i risultati di questo lavoro propongono un nuovo utile strumento per migliorare ulteriormente l'efficacia della radioterapia e ridurre allo stesso tempo gli effetti collaterali associati alla radiazione indesiderata ricevuta dai tessuti circostanti sani.

*“sebbene siano necessarie ulteriori validazioni precliniche in vivo e cliniche, i risultati di questo lavoro propongono un nuovo utile strumento per migliorare ulteriormente l'efficacia della radioterapia e ridurre allo stesso tempo gli effetti collaterali associati alla radiazione indesiderata ricevuta dai tessuti circostanti sani”*

---

### ----- TELL ME MORE! -----

Gli autori hanno ottimizzato i complessi molecolari precedentemente pubblicati, contenenti delle “teste di zuccheri” fusi a nanoparticelle d'oro: le teste di zuccheri mediavano l'interazione con il recettore GLUT, molto espresso nelle cellule di tumore al seno triplo-negativo, e servivano a “colpire” in maniera specifica le cellule tumorali, mentre le nanoparticelle d'oro servivano da radiosensibilizzanti. Questi complessi sono stati somministrati in colture in vitro di tumore al seno triplo-negativo -generalmente resistenti a radioterapia- e alla loro controparte normale. Pur essendo internalizzati in maniera efficiente nelle cellule tumorali -e poco nelle cellule normali- i complessi molecolari non erano di per sé tossici. Eppure, il pretrattamento delle cellule tumorali con questi complessi molecolari che portavano i radiosensibilizzanti potenziava in maniera significativa l'effetto citotossico della radioterapia: l'effetto della dose di radiazione all'interno delle cellule tumorali era più alta nelle

cellule pre-trattate rispetto alle cellule non pre-trattate. Inoltre, la radioterapia, nel breve termine, riduceva fortemente la sopravvivenza delle cellule tumorali pre-trattate e, nel lungo termine (cioè 14 giorni dopo l'irradiazione), danneggiava la capacità delle cellule di proliferare. In altre parole, le cellule tumorali pre-trattate con il complesso molecolare/radiosensibilizzante morivano di più in seguito all'irradiazione rispetto alle cellule non pre-trattate e la dose di radiazione necessaria ad uccidere le cellule tumorali era dimezzata. L'irradiazione causa la morte cellulare danneggiando il DNA e altre strutture cellulari critiche. Le cellule con DNA danneggiato possono riparare il DNA o morire. Gli autori hanno mostrato che le cellule tumorali pre-trattate con il radiosensibilizzante somministrato con il complesso molecolare mostravano un maggiore danno al DNA dopo irradiazione rispetto alle cellule non pre-trattate.

---

**Referenza.** Biocompatible cellulose nanocrystal-based Trojan horse enables targeted delivery of nano-Au radiosensitizers to triple negative breast cancer cells. *Giacomo Biagiotti, Riccardo Cazzoli, Patrizia Andreozzi, Giusi Aresta, Mattii Francesco, Chiara Mangini, Paolo di Gianvincenzo, Chiara Tobia, Sandro Recchia, Laura Polito, Mirko Severi, Orazio Vittorio, Stefano Cicchi, Sergio E Moya, Roberto Ronca, Adriana Albini, Debora Berti, Roberto Orecchia, Cristina Garibaldi, Saverio Minucci, Barbara Richichi.* Nanoscale Horizons 2024. doi: 10.1039/d4nh00042k.

\*Figure adapted from Biagiotti et al., an open access [article](#) under the [CC-BY 3.0](#) licence.

*What's new from IEO Researchers?*

## La messa a punto di un modello tumorale umano *in vitro* ha permesso l'identificazione di potenziali nuovi target terapeutici nel tumore ovarico.



*Ugo Cavallaro*

Nel contesto di un progetto finanziato da OCRA e recentemente concluso, in collaborazione con l'Università di Chicago, l'Università Queen Mary di Londra e il programma di Ginecologia di IEO guidato da Nicoletta Colombo, Ugo Cavallaro –PI del Dipartimento di Oncologia Sperimentale di IEO– e il suo team hanno sfruttato un modello tumorale *in vitro* di ultima generazione per investigare il ruolo del microambiente tumorale –attraverso la sua azione sulle cellule staminali tumorali (CSC)– nella progressione del tumore ovarico. Le CSC sono una sottopopolazione all'interno della massa tumorale responsabile della crescita del tumore e della disseminazione metastatica; sono inoltre in grado di resistere alla chemioterapia e dare origine alla recidiva. Identificare i meccanismi molecolari responsabili della sopravvivenza e dell'identità delle CSC, così da poter interferire con essi in maniera specifica, rappresenta quindi l'approccio ideale per sconfiggere la malattia, riducendo il rischio di recidiva. Il microambiente tumorale gioca un ruolo cruciale nell'identità delle CSC. Il modello sperimentale messo a punto dal gruppo di Ugo Cavallaro, in particolare da Chiara Battistini e collaboratori, in cui, diversamente dai modelli tipicamente impiegati, sia le cellule tumorali che la componente del microambiente tumorale sono isolate dalle pazienti, permette

di riprodurre fedelmente, *in vitro*, le caratteristiche principali del tumore della paziente. Impiegando queste colture organotipiche tridimensionali, i ricercatori hanno mostrato che la proteina FOXM1 (un fattore di trascrizione) viene attivata in maniera specifica nelle cellule staminali del tumore ovarico in seguito al contatto con il microambiente tumorale, attraverso l'attivazione della pathway FAK/YAP. Quando attivata, FOXM1 contribuisce a mantenere le caratteristiche staminali delle cellule, influenzando così indirettamente

la progressione del tumore e la recidiva. Al contrario, l'inibizione farmacologica di FOXM1 riduce la sopravvivenza delle cellule staminali tumorali, sottolineando il ruolo chiave di questa proteina nella



*Chiara Battistini*

progressione del tumore. Dato il suo ruolo fondamentale nel mantenere i tratti staminali delle CSC, FOXM1 rappresenta un punto vulnerabile delle CSC e quindi un potenziale target terapeutico per prevenire la recidiva: bloccando l'attività di una proteina chiave per la sopravvivenza delle cellule staminali che sostengono la progressione del tumore, si riduce la crescita tumorale.

La collaborazione di Ugo Cavallaro e del suo team con Nicoletta Colombo e i suoi colleghi del Programma di Ginecologia IEO ha permesso di mettere a punto un workflow che ha consentito l'accesso sistematico ai campioni chirurgici e quindi la messa a punto di un modello ottimizzato di co-coltura 3D che è stato il prerequisito per il successivo lavoro che ha rivelato il ruolo chiave della proteina FOXM1 nell'interazione tra le cellule tumorali e il microambiente nella progressione tumorale. Durante l'intervento chirurgico, che rappresenta l'approccio standard nel trattamento delle pazienti con tumore ovarico, insieme alla massa

tumorale viene isolato il tessuto omentale sano. L'omento è una sorta di "grembiule" che riveste gli organi addominali e rappresenta il sito primario di disseminazione del carcinoma ovarico. Le cellule mesoteliali e i fibroblasti isolati dal tessuto omentale sono messe in coltura con le cellule tumorali, ricreando una condizione simil-in vivo che permette di analizzare la progressione del tumore ovarico e identificare target terapeutici clinicamente significativi. L'identificazione di FOXM1 come uno dei principali attori nel mantenere le caratteristiche staminali delle cellule staminali tumorali ovariche, a valle della signaling FAK/YAP è rilevante, dal punto di vista clinico, dato che inibitori di FAK sono attualmente in sperimentazione clinica per diversi tipi di tumore, incluso il tumore ovarico. Questi inibitori potrebbero quindi essere sfruttati, in combinazione con la chemioterapia, per eliminare completamente la malattia, spegnendo i programmi molecolari che controllano la staminalità delle cellule tumorali, sensibilizzandole così al trattamento chemioterapico.

I risultati di questo lavoro sono stati recentemente pubblicati su Cell Death and Disease.

---

**Referenza.** Tumor microenvironment-induced FOXM1 regulates ovarian cancer stemness. Chiara Battistini, Hilary A. Kenny, Melissa Zambuto, Valentina Nieddu, Valentina Melocchi, Alessandra Decio, Pietro Lo Riso, Carlo Emanuele Villa, Alessia Gatto, Mariacristina Ghioni, Francesca M. Porta, Giuseppe Testa, Raffaella Giavazzi, Nicoletta Colombo, Fabrizio Bianchi, Ernst Lengyel & Ugo Cavallaro. Cell Death & Disease 2024. doi: 10.1038/s41419-024-06767-7.

What's new from IEO Researchers?

# L'epigenoma per predire la specificità degli inibitori delle chinasi.

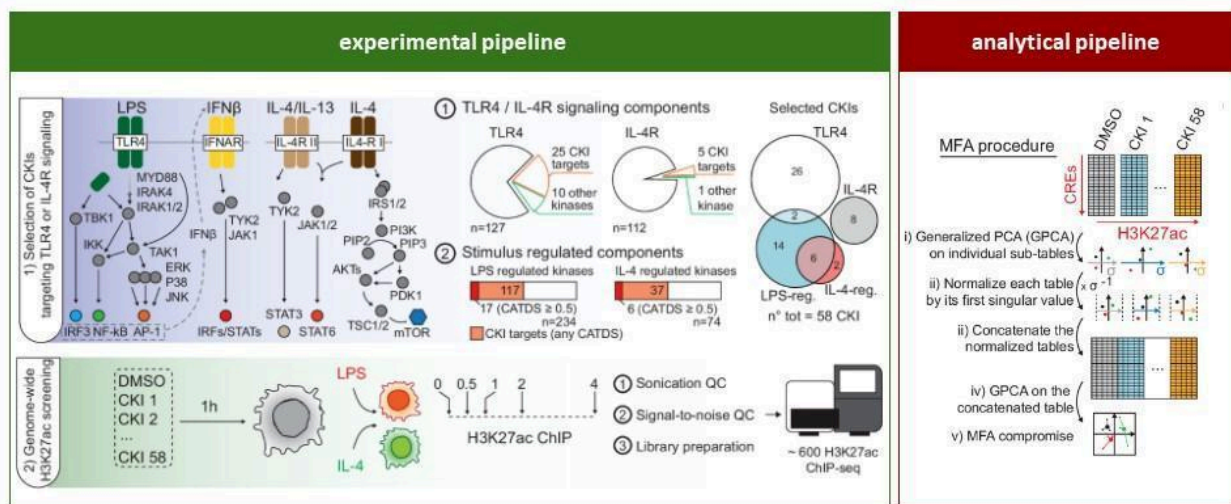


Figure adapted from Gualdrini et al., *Molecular Systems Biology* 2024. \*

Le chinasi sono proteine che giocano un ruolo chiave in diversi processi cellulari, in condizioni fisiologiche e patologiche, e costituiscono quindi un interessante target farmacologico. Molti inibitori delle chinasi sono infatti in sviluppo in diversi contesti patologici, tra cui il cancro, e diversi sono stati clinicamente approvati, come ad esempio trametinib (un inibitore di MEK1/2), utilizzato per il trattamento di alcuni tumori in stadio avanzato.

Sebbene gli effetti sulle cellule di molte piccole molecole impiegate in ambito clinico siano frequentemente il risultato di una combinazione di effetti specifici e aspecifici, con conseguente impatto su efficacia e tossicità, l'approvazione di nuovi inibitori dell'attività delle chinasi richiede analisi dettagliate dei loro effetti biologici e della loro specificità. Inibitori poco specifici possono essere approvati per uso in ambito clinico, ma la mancanza di una conoscenza approfondita dei loro effetti biologici potrebbe portare a effetti collaterali indesiderati nei pazienti.

In un articolo recente di Gualdrini et al., gli autori, supervisionati da Gioacchino Natoli, Group Leader del Dipartimento di Oncologia Sperimentale di IEO, hanno messo a punto un protocollo sperimentale e strumenti analitici per investigare la selettività e l'effetto biologico degli inibitori clinici delle chinasi, sfruttando l'epigenoma. Nello specifico, dato che la maggioranza dei processi biologici associati con il trattamento con inibitori delle chinasi è in qualche modo correlata con cambiamenti nell'attività dei fattori di trascrizione e infine con l'espressione genica, gli autori hanno analizzato eventi "intermedi" come la modificazione (acetilazione) delle proteine istoniche associate al DNA e il legame dei fattori di trascrizione per valutare i cambiamenti dell'espressione genica indotti dagli inibitori.

Questo lavoro fornisce uno strumento utile per analisi accurate, ad elevata risoluzione, della specificità degli inibitori delle chinasi, permettendo sia di selezionare quelli più promettenti, da portare avanti verso uno ulteriore sviluppo clinico, sia per il riposizionamento di inibitori già approvati.

## TELL ME MORE!

Inibitori con la stessa chinasi target possono avere effetti biologici molto diversi a seconda

dello specifico contesto, ovvero le proteine con cui interagiscono e i diversi stimoli, indicando la

necessità di altri strumenti per predire questi effetti, come appunto le alterazioni epigenomiche.

Prima di tutto, gli autori hanno dimostrato che l'analisi dei livelli di acetilazione degli istoni rappresentasse un readout adeguato per valutare, in maniera obiettiva, gli effetti degli inibitori delle chinasi. Sfruttando uno score da loro precedentemente sviluppato (che misura, in lisati cellulari, l'affinità di un inibitore per le protein chinasi), hanno selezionato in maniera razionale diversi inibitori da includere nelle analisi. Hanno confrontato i cambiamenti nei livelli di acetilazione in cellule trattate con LPS o con IL4 in presenza o assenza dei diversi inibitori.

Variazioni nei livelli di acetilazione sono state osservate in centinaia o migliaia di regioni genomiche, in diversi momenti dopo il trattamento, in seguito a stimoli diversi e con i diversi inibitori. Per analizzare questa gran quantità di dati complessi, hanno sviluppato nuovi strumenti analitici. In generale, molti inibitori riducevano principalmente i livelli di acetilazione, alcuni li aumentavano, altri invertivano completamente le modifiche indotte dallo stimolo iniziale (cioè LPS e IL4).

I ricercatori hanno quindi messo a punto un sistema per *predire* la specificità dell'inibitore per una data chinasi (cioè dedurre le signaling cellulari inibite dal trattamento con queste molecole). Dato che le alterazioni epigenomiche rispecchiano i cambiamenti trascrizionali indotti dagli inibitori, gli autori hanno aggiunto informazioni riguardanti gli specifici fattori di trascrizione influenzati dai diversi inibitori. I risultati dell'integrazione, attraverso approcci di

machine learning, dei dati di acetilazione e delle informazioni riguardanti le regioni legate dai fattori di trascrizione considerati, nelle cellule trattate con gli inibitori, indicano che attraverso il profilo di legame dei fattori di trascrizione è possibile predire gli effetti epigenomici (alterazioni dell'acetilazione) dei vari inibitori (sebbene le specifiche chinasi inibite non possano

*“questo lavoro fornisce uno strumento utile per analisi accurate, ad elevata risoluzione, della specificità degli inibitori delle chinasi, permettendo sia di selezionare quelli più promettenti, da portare avanti verso uno ulteriore sviluppo clinico, sia per il riposizionamento di inibitori già approvati”*

essere direttamente associate ad un dato fattore di trascrizione).

Applicando questo strumento al loro dataset, hanno osservato, ad esempio, che alcune molecole approvate come inibitori delle chinasi JAK, possedevano invece una specificità completamente differente, inibendo più fortemente altre chinasi (sebbene inibissero comunque JAK e influenzassero la signaling a valle, ma in maniera più debole), suggerendo che gli effetti aspecifici giocano un ruolo importante nelle variazioni osservate.

In conclusione, questo studio ha sfruttato i dati di analisi epigenomiche per fornire informazioni ad elevata risoluzione sulla specificità di inibitori delle chinasi attualmente impiegati in ambito clinico o in fase di sviluppo, con risultati inattesi, e fornisce uno strumento per predire il target specifico di nuovi inibitori, al fine di selezionare quelli da sottoporre ad ulteriori studi clinici.

---

**Referenza.** An integrative epigenome-based strategy for unbiased functional profiling of clinical kinase inhibitors. Gualdrini F, Rizzieri S, Polletti S, Pileri F, Zhan Y, Cuomo A, Natoli G. Mol Syst Biol 2024. doi: 10.1038/s44320-024-00040-x.

\*Figure adapted from Gualdrini et al., an open access [article](#) under the [CC-BY](#) licence.

What's new from IEO Researchers?

# Un protocollo ottimizzato per caratterizzare una modificazione epigenetica ad oggi poco studiata e sfruttabile come marcatore tumorale.

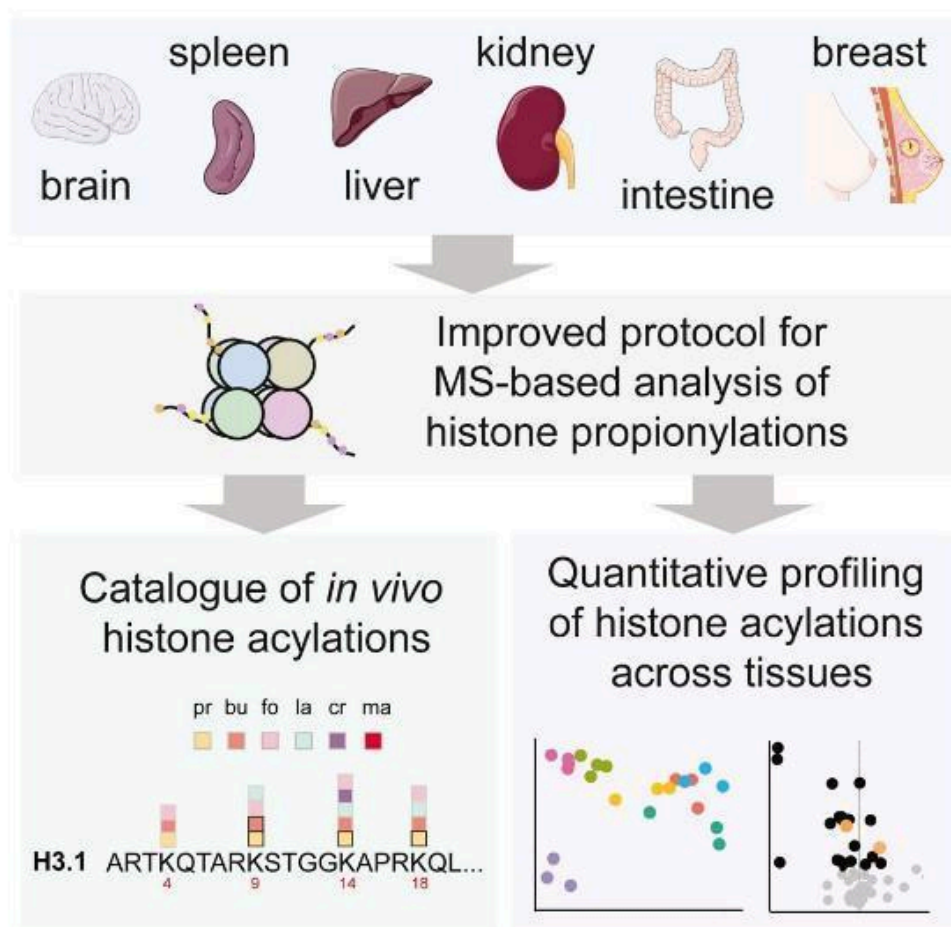


Figure from Vai, Noberini, Ghirardi et al., *Molecular and cellular proteomics* 2024. \*

Le modificazioni post-traduzionali degli istoni (hPTMs) sono modificazioni chimiche di proteine istoniche, che giocano un ruolo funzionale cruciale in numerosi processi biologici. Esistono diversi tipi di hPTMs; metilazione e acetilazione (a livello dei residui di lisina) sono quelle meglio caratterizzate. Escludendo l'acetilazione, le acilazioni sono hPTM poco note e caratterizzate, principalmente a causa della scarsa efficienza dei metodi analitici basati su spettrometria di massa attualmente disponibili. Eppure studi precedenti hanno associato le acilazioni con il metabolismo della cellula, con l'espressione genica e con diversi processi biologici e patologici, tra cui il cancro.

In un articolo recente di Vai, Noberini, Ghirardi et al., gli autori supervisionati da Tiziana Bonaldi -Group leader del Dipartimento di Oncologia Sperimentale di IEO- hanno sviluppato e ottimizzato un protocollo per



*“la messa a punto di questa metodologia ha permesso di caratterizzare diversi tessuti e ha mostrato che queste modificazioni epigenetiche possono essere usate come biomarcatori, consentendo di distinguere il tessuto del tumore al seno dal tessuto mammario non maligno, dimostrando ancora una volta il potere della spettrometria di massa applicata a campioni clinici”*

l'analisi basata su spettrometria di massa delle acilazioni degli istoni; nello specifico, propionilazione e butirilazione. Sfruttando questo protocollo, hanno caratterizzato la propionilazione e la butirilazione degli istoni in diversi campioni tissutali di origine murina e umana, rivelando che, nonostante siano poco studiate, le propionilazioni sugli istoni sono abbondanti, con livelli paragonabili alle meglio caratterizzate metilazione e

acetilazione e quindi, sebbene ad oggi trascurate, molto probabilmente coinvolte in processi biologici importanti, evidenziando la necessità di strumenti adatti per poterle analizzare in maniera adeguata.

La messa a punto di questa metodologia ha permesso agli autori di caratterizzare diversi tessuti, e ha mostrato che queste modificazioni epigenetiche possono essere usate come biomarcatori, consentendo di distinguere il tessuto del tumore al seno dal tessuto mammario non maligno, dimostrando ancora una volta il potere della spettrometria di massa applicata a campioni clinici.

### ----- TELL ME MORE! -----

Gli autori hanno testato diversi protocolli e ne hanno sviluppato uno ottimizzato che, modificando chimicamente i residui di lisina, permette la successiva identificazione dei peptidi acilati attraverso analisi di spettrometria di massa. In generale i composti impiegati per la modificazione chimica delle lisine acilate distingue i diversi protocolli testati e le specifiche acilazioni identificate: il protocollo D3Ac-PIC si è rivelato efficiente nel rilevare propionilazioni e butirilazioni, mentre il protocollo PRO-PIC identificava in maniera efficiente tutte le altre acilazioni, in aggiunta a metilazione e acetilazione. Combinare i due metodi permetteva quindi una caratterizzazione completa di metilazione, acetilazione e acilazione.

Impiegando il protocollo D3Ac-PIC, i ricercatori si sono focalizzati sull'analisi di propionilazione e butirilazione, che ad oggi sono poco studiati. La messa a punto di questa metodologia, che sfruttando reagenti non costosi è utilizzabile per screening su larga scala, ha permesso loro di caratterizzare tessuti diversi, tra cui tessuti mammari normali e tumorali. La quantificazione

dei diversi livelli di propionilazione e butirilazione nei diversi tessuti analizzati ha rivelato, innanzi tutto, che le propionilazioni erano molto abbondanti, suggerendo un ruolo rilevante di queste modificazioni chimiche nei processi biologici. In secondo luogo, l'analisi ha evidenziato livelli diversi di acilazione in tessuti diversi. Inoltre, questo studio ha mostrato che alcuni peptidi propionilati distinguevano i diversi tipi di tessuto, il che significa che questi peptidi propionilati definiscono l'identità tissutale. Infine, gli autori hanno scoperto che la propionilazione può essere sfruttata sia per distinguere il tessuto mammario sano dal tessuto tumorale, sia per distinguere i sottotipi di tumore al seno: l'analisi dei peptidi propionilati infatti distingueva in maniera efficiente il tumore al seno triplo-negativo dal sottotipo Luminal-A (mentre il sottotipo luminal-A era abbastanza simile al tessuto normale, in accordo con studi precedenti che hanno mostrato che il suo profilo di espressione genica somiglia a quella del tessuto normale).

---

**Referenza.** Improved Mass Spectrometry-Based Methods Reveal Abundant Propionylation and Tissue-Specific Histone Propionylation Profiles. Vai A, Noberini R, Ghirardi C, Rodrigues de Paula D, Carminati M, Pallavi R, Araújo N, Varga-Weisz P, Bonaldi T. Mol Cell Proteomics 2024. doi: 10.1016/j.mcpro.2024.100799.

\*Figure from Vai, Noberini, Ghirardi et al., an open access [article](#) under the [CC-BY](#) licence.

*What's new from IEO Researchers?*

## Un approccio multi-omico per caratterizzare l' "ecosistema tumore".



*Martin Schaefer*

Nel tumore del colon-retto, le masse tumorali in posizioni diverse lungo il colon mostrano caratteristiche molecolari e cliniche diverse. Ad esempio, i tumori distali (ovvero quelli localizzati nel lato sinistro del colon) sono diversi da quelli prossimali (localizzati nel lato destro del colon) e, sebbene i meccanismi coinvolti non siano del tutto chiari, sono state riportate delle differenze in termini prognostici, suggerendo che una descrizione più precisa dei tumori localizzati in diversi punti lungo il colon potrebbe fornire informazioni utili per un approccio terapeutico più adeguato.

In un articolo recente di Dallavilla et al., gli autori guidati da Martin Schaefer, Group leader del dipartimento di oncologia sperimentale di IEO, sfruttano un approccio multi-omico per descrivere in che modo le caratteristiche intrinseche del tumore del colon-retto e le caratteristiche del microambiente variano lungo il colon, rivelando delle correlazioni che in futuro potrebbero essere sfruttate a scopi prognostici e diagnostici. In altre parole, se il tumore nel colon distale è più strettamente associato a recidiva di quello nel colon prossimale e si accompagna ad un determinato profilo metabolomico o del microbioma, è possibile analizzare il microbioma o il metaboloma per scegliere la terapia più appropriata?

In particolare, gli autori hanno sfruttato uno strumento computazionale da loro recentemente sviluppato, in grado di estrarre dati riguardanti il microbioma dai dati di sequenziamento dei tessuti tumorali dei pazienti (che, essendo ottenuti attraverso il sequenziamento dell'intero campione tumorale, contengono sia i dati

delle cellule tumorali sia quelli del microbioma associato al tumore), permettendo così di ottenere, con una risoluzione spaziale, informazioni riguardanti il microbioma. Applicando questo strumento sia a dataset pubblici che a dati raccolti in IEO, e considerando altri dati omici, hanno analizzato il modo in cui le caratteristiche tumorali intrinseche -come l'espressione genica, le mutazioni, i livelli di metilazione- e le caratteristiche del microambiente tumorale -come fattori metabolici e del microbioma- variano lungo il colon, mostrando prima di tutto che alcuni di questi tratti cambiano gradualmente lungo il colon mentre altri mostrano un repentino cambiamento lato destro-lato sinistro; inoltre, le variazioni di alcuni di questi fattori intrinseci e microambientali sono correlate, suggerendo una potenziale co-evoluzione, in cui questi fattori si influenzano a vicenda come parte di uno stesso ecosistema: l'ecosistema tumore.

### ----- TELL ME MORE! -----

Prima di tutto, gli autori hanno analizzato il modo in cui i vari fattori tumorali intrinseci variavano lungo il colon. I **livelli di espressione** di alcuni geni, come quelli coinvolti nel ciclo cellulare, nella replicazione del DNA e nel mantenimento della cromatina, cambiavano in maniera repentina dal lato destro al lato sinistro del colon, mentre altri, come i geni coinvolti nel metabolismo e nell'adattamento al microambiente, cambiavano gradualmente. Analisi dei livelli di **metilazione** hanno rivelato che la maggioranza dei promotori metilati seguiva un cambiamento graduale, mentre una piccola parte mostrava un cambiamento chiaro lato destro-lato sinistro. Nel complesso, la metilazione era più elevata nel tratto destro/proximale del colon. Analizzando le **mutazioni**, hanno osservato che la frequenza dei diversi geni driver mutati variava in maniera significativa a seconda della specifica posizione del tumore lungo il colon: i geni driver erano nel complesso più frequentemente mutati nel tratto destro/proximale del colon. La percentuale di geni di cui frequenza delle mutazioni mostrava un repentino cambiamento lato destro-lato sinistro era paragonabile a quella dei geni la cui frequenza di mutazione variava gradualmente lungo il colon. Da notare, i diversi sottotipi in cui il CRC è solitamente suddiviso -ovvero CIMP, CIN, MSI- erano diversamente frequenti nelle differenti sezioni del colon: il tipo CIN era più frequente nel colon distale, e la frequenza cambiava drasticamente tra lato destro e sinistro; anche la frequenza del MSI cambiava in maniera repentina da destra a sinistra, ma seguiva un andamento opposto al CIN, essendo cioè più frequente nel colon proximale; la frequenza del CIMP variava invece gradualmente lungo il colon.

Successivamente, hanno valutato i potenziali effetti del microambiente tumorale sul cancro,

valutando fattori microambientali come metaboloma, microbioma e sistema immunitario. La caratterizzazione del **metaboloma** di 27 pazienti IEO con tumore del colon ha rivelato che nessuno dei metaboliti mostrava un cambiamento repentino, ma alcuni, tra cui gli acidi grassi, che giocano un ruolo chiave nella tumorigenesi, variava in maniera graduale lungo il colon. Dato che il **microbioma** è stato dimostrato giocare un ruolo cruciale nei tumori e gli autori hanno precedentemente dimostrato che può essere dedotto dai dati trascrittomici dei campioni tumorali (attraverso il loro strumento computazionale recentemente sviluppato), i ricercatori hanno caratterizzato il microbioma, con una risoluzione spaziale, lungo il colon. La loro analisi ha rivelato che nessuna specie del microbioma mostrava dei cambiamenti repentini, in termini di abbondanza, ma alcune cambiavano

*“applicando un approccio multi-omico, i risultati di questo studio indicano che i fattori tumorali intrinseci e i fattori microambientali sono collegati, attraverso il microbioma e il metaboloma, indicando che si influenzano a vicenda, evolvendo come un unico ecosistema tumorale, che come tale dovrebbe essere studiato per essere compreso appieno”*

gradualmente lungo il colon, suggerendo che il microbioma (e probabilmente la dieta) possa influenzare il tumore in maniera gradualmente diversa lungo il colon; inoltre, la presenza di alcune specie del microbiota correlava con i cambiamenti graduali osservati nei livelli dei metaboliti. Analizzando la componente **immunitaria**, hanno osservato delle variazioni graduali lungo il colon: alcuni tipi cellulari immunitari erano più presenti nel colon proximale (come cellule T CD4, CD8, helper), altri in quello distale (macrofagi).

I loro risultati suggeriscono quindi che specifiche caratteristiche del microambiente potrebbero influenzare direttamente il tumore, "imponendo" il manifestarsi di alcuni tratti. Tipicamente, il microambiente cambia gradualmente lungo il colon. Il tumore potrebbe essere influenzato mostrando delle variazioni graduali nei livelli di espressione genica, metilazione, frequenza delle mutazioni, in geni associati al microambiente tumorale. Per esplorare ulteriormente questa possibilità, hanno valutato se l'intero ecosistema tumorale, esemplificato e semplificato in quest'analisi da espressione genica (a rappresentare una caratteristica tumorale intrinseca) e livelli dei metaboliti (a rappresentare un aspetto del microambiente), evolveva come un tutt'uno, valutando l'esistenza di eventuali correlazioni tra i profili di espressione genica e i

livelli di metaboliti, che variavano in maniera graduale. I loro risultati hanno rivelato che alcuni pathway cellulari includevano sia alcuni dei geni che alcuni dei metaboliti che cambiavano gradualmente, suggerendo la potenziale co-evoluzione del tumore e del microambiente. Applicando un approccio multi-omico, i risultati di questo studio indicano che i fattori tumorali intrinseci e i fattori microambientali sono collegati, attraverso il microbioma e il metaboloma, indicando che si influenzano a vicenda, evolvendo come un unico ecosistema tumorale, che come tale dovrebbe essere studiato per essere compreso appieno. In futuro, una validazione sperimentale potrebbe contribuire ad aggiungere a questa interazione multipla una componente causale.

---

**Referenza.** Differences in the molecular organisation of tumours along the colon are linked to interactions within the tumour ecosystem. Tiziano Dallavilla, Serena Galiè, Gaia Sambruni, Simona Borin, Nicola Fazio, Uberto Fumagalli-Romario, Teresa Manzo, Luigi Nezi, Martin H Schaefer. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2024. doi: 10.1016/j.bbadis.2024.167311.

What's new from IEO Researchers?

# Svelati i meccanismi molecolari indotti dal trattamento con trametinib nel tumore pancreatico. E' possibile sfruttarli in chiave terapeutica?

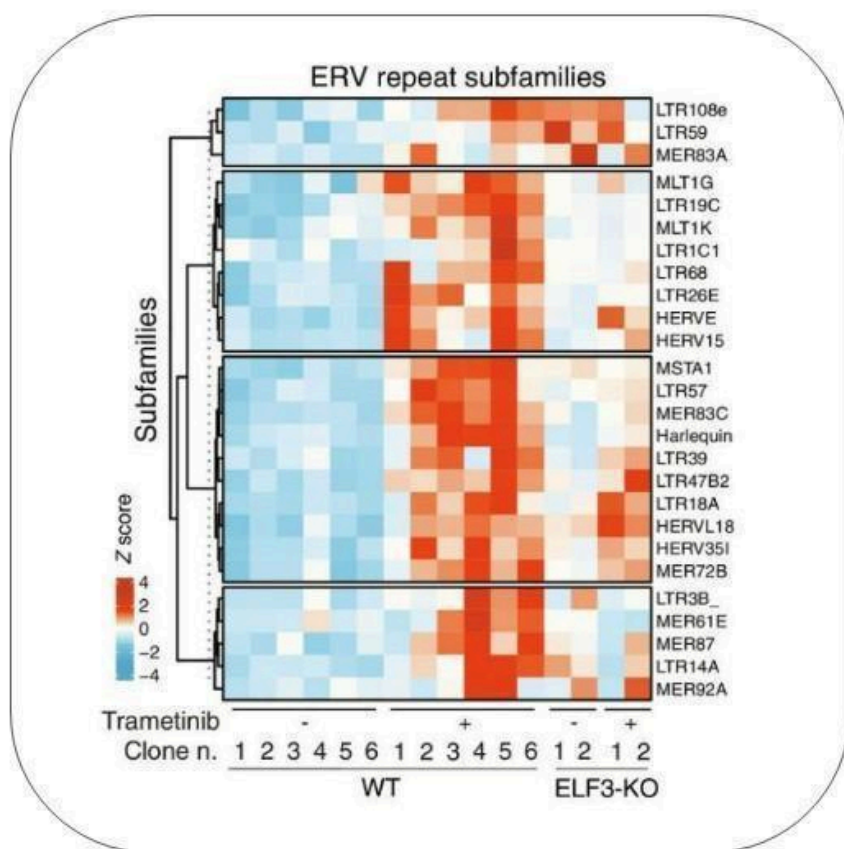


Figure from Cortesi, Gandolfi et al., Science Advances 2024. \*

La stragrande maggioranza dei tumori pancreatici sono causati da mutazioni nel gene KRAS (in particolare la mutazione G12D). Queste mutazioni, che possono precedere di decenni lo sviluppo di un tumore clinicamente evidente, determinano l'iperattivazione di processi cellulari a valle (controllati da KRAS) che conferiscono alle cellule una maggiore capacità di sopravvivere e proliferare, promuovendo così lo sviluppo e la crescita del tumore. Eppure, pur essendo un evento fondamentale nella tumorigenesi del pancreas, l'inibizione farmacologica dei processi cellulari a valle di KRAS -costitutivamente attivi- con trametinib -un farmaco approvato per il trattamento di alcuni tumori in stadio avanzato- di fatto non ha effetti terapeutici nei pazienti e anche in vitro gli effetti sono solo marginali.

E' possibile che il trattamento

con gli inibitori dei processi associati a KRAS, pur non avendo effetti significativi per sé, possa rendere le cellule sensibili ad altri trattamenti che, quindi, agendo in sinergia, risultino efficaci?

In un recente articolo di Cortesi, Gandolfi et al., gli autori, supervisionati da Gioacchino Natoli -Group Leader al Dipartimento di Oncologia Sperimentale di IEO- hanno analizzato le alterazioni molecolari delle cellule con mutazioni del gene KRAS trattate con trametinib, rivelando una profonda modificazione del programma di espressione genica, con conseguente attivazione di specifiche regioni del genoma -retrotrasposoni- e la produzione di RNA simili a quelli virali, a cui la cellula reagisce attivando i meccanismi immunitari (ovvero il suo principale sistema antivirale, l'Interferone alpha/beta). Ciò promuove la risposta

immunitaria contro le cellule tumorali. In questo modo, il trametinib rende le cellule del tumore pancreatico più sensibili all'immunoterapia. Infatti, in modelli preclinici in vivo di tumore pancreatico, il pre-trattamento con trametinib seguito da

immunoterapia con anticorpi anti-PD1 aumenta significativamente la sopravvivenza degli animali; al contrario, i due agenti usati singolarmente non hanno alcun effetto. E' importante sottolineare che l'attivazione dei retrotrasposoni è stata precedentemente associata con la produzione di neoantigeni (ovvero molecole anomale derivanti da alterazioni del DNA delle cellule tumorali, che stimolano l'attività del sistema immunitario), suggerendo che questo meccanismo potrebbe essere sfruttato in chiave terapeutica: modulare l'attivazione dei retrotrasposoni per "segnalare" al sistema immunitario la presenza delle cellule tumorali e promuoverne l'eliminazione.

Questo lavoro rivela quindi i meccanismi molecolari indotti dal trattamento con trametinib nel tumore pancreatico, che sensibilizza le cellule tumorali ad immunoterapia con anticorpi anti-PD1, fornendo il razionale per futuri studi preclinici/traslazionali, e successivamente clinici, volti a sfruttare questa sinergia in un contesto terapeutico.

*“questo lavoro rivela i meccanismi molecolari indotti dal trattamento con trametinib nel tumore pancreatico, che sensibilizza le cellule tumorali ad immunoterapia con anticorpi anti-PD1, fornendo il razionale per futuri studi preclinici/traslazionali, e successivamente clinici, volti a sfruttare questa sinergia in un contesto terapeutico”*

### ----- TELL ME MORE! -----

Gli autori hanno definito i meccanismi molecolari indotti dall'inibizione di MEK1/2 con trametinib che, pur non riducendo la vitalità cellulare, induce una pseudo-infezione virale che innesca un rapido reprogramming dell'espressione genica: l'inibizione di MEK1/2 con trametinib rimuove la repressione su ELF3 che quindi risulta attivato. ELF3 attivato da un lato lega ed induce l'attivazione di alcune sequenze genomiche, i retrovirus endogeni (ERVs, endogenous retroviruses); dall'altro attiva un altro fattore di trascrizione -IRF1- che a sua volta contribuisce a incrementare l'espressione degli ERVs. I retrotrasposoni sono un sottotipo di ERVs e sono degli elementi altamente ripetuti del genoma che agiscono principalmente come regolatori dell'espressione genica e che giocano un ruolo importante nella risposta immunitaria e nella tumorigenesi. A causa del loro ruolo chiave nella modulazione dell'espressione genica, queste regioni genomiche sono solitamente repressi. Quando sfuggono alla repressione, ad esempio in

seguito al trattamento con trametinib, l'attivazione dei retrotrasposoni può portare all'aumento di RNA a doppia elica (dsRNA), che viene percepito dalla cellula come la manifestazione di un'infezione virale, determinando così l'attivazione dei pathway dell'interferone e la stimolazione della risposta immunitaria. Gli autori hanno scoperto i meccanismi epigenetici che controllano l'attivazione dei retrotrasposoni in seguito al trattamento con trametinib, che implicano la modificazione (aumentata acetilazione) di proteine istoniche. L'attivazione della risposta ad interferone a seguito del trattamento con trametinib non è una specificità del tumore pancreatico. Infatti, anche nel tumore del colon-retto, l'inibizione di MEK1/2 da parte di trametinib determina l'attivazione del pathway ELF3/IRF1/ERV, suggerendo la possibilità di un uso razionale della terapia con Trametinib e checkpoint del sistema immunitario anche in questo caso.

---

**Referenza.** Activation of endogenous retroviruses and induction of viral mimicry by MEK1/2 inhibition in pancreatic cancer. Alice Cortesi#, Francesco Gandolfi#, Fabiana Arco, Pierluigi Di Chiaro, Emanuele Valli, Sara Polletti, Roberta Noberini, Francesco Gualdrini, Sergio Attanasio, Francesca Citron, I-Lin Ho, Rutvi Shah, Er-Yen Yen, Mara Cetty Spinella, Simona Ronzoni, Simona Rodighiero, Nico Mitro, Tiziana Bonaldi, Serena Ghisletti, Silvia Monticelli, Andrea Viale, Giuseppe Riccardo Diaferia, Giocchino Natoli. Sci Adv 2024. doi: 10.1126/sciadv.adk5386.

\*Figure from Cortesi, Gandolfi et al., an open access [article](#) under the [CC-BY-NC](#) licence.

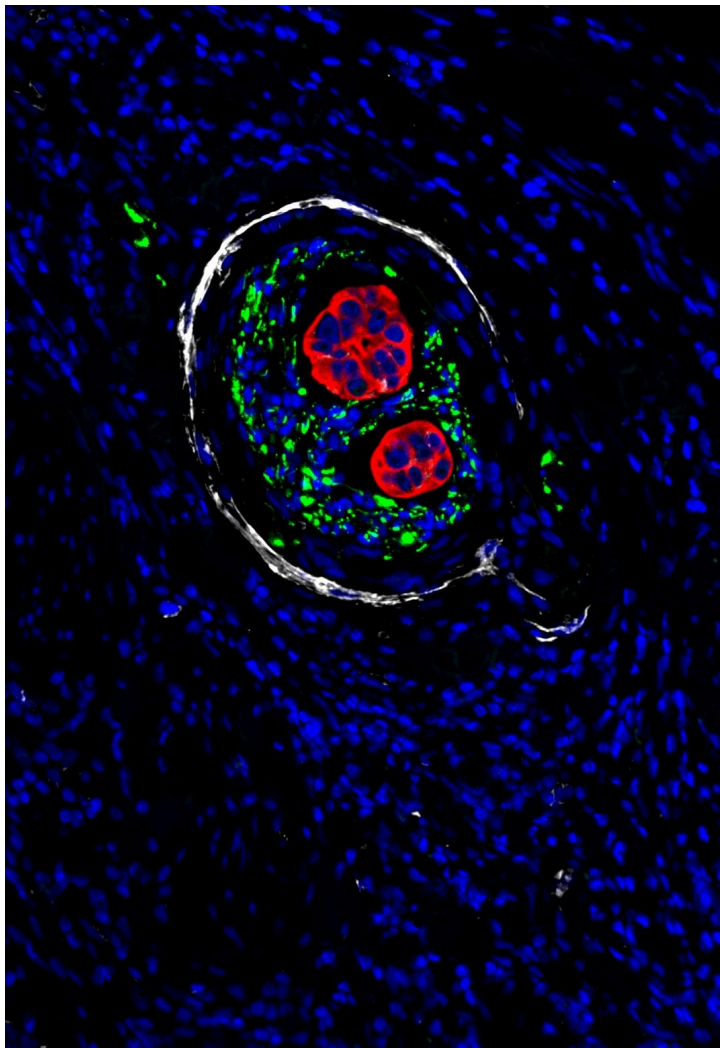
*What's new from IEO Researchers?*

## Definire l'eterogeneità delle cellule del tumore pancreatico, in termini di morfologia ed espressione genica, per predire in maniera accurata la prognosi dei pazienti.

Il tumore pancreatico (PC) è caratterizzato da un'elevata eterogeneità intratumorale, sia in termini di morfologia cellulare che di espressione genica, che ha un impatto sulla prognosi del paziente. Non è del tutto chiaro però in che modo, nel PC, differenze in termini di morfologia cellulare forniscano informazioni riguardo ai diversi programmi di espressione genica e proprietà funzionali delle cellule tumorali.

In un articolo recente di Di Chiaro, Nacci et al., gli autori, guidati da Gioacchino Natoli -Group Leader del

Dipartimento di Oncologia Sperimentale di IEO- e Giuseppe Diaferia -ricercatore IEO-, riportano una descrizione, ad elevata risoluzione, dell'eterogeneità molecolare (trascrizionale/funzionale) del PC in relazione all'eterogeneità morfologica del PC, identificando tre classi principali di cellule di PC organizzate nello spazio in gruppi -o "cluster", definiti da una data morfologia e un dato profilo molecolare, chiamati quindi "morfbiotipi". Diversi morfbiotipi coesistono all'interno della massa tumorale, in diverse proporzioni. Il loro studio indica che l'organizzazione spaziale di cellule di PC funzionalmente diverse (i morfbiotipi), e con un differente grado di differenziamento, influenza la progressione/aggressività del tumore e quindi la prognosi del paziente. Gli autori hanno inoltre identificato la proteina -sFRP2- come uno dei fattori principali in grado di regolare questi morfbiotipi; modificando la struttura del microambiente tumorale (in particolare, l'architettura della matrice extracellulare), questa proteina modula la capacità delle cellule tumorali di invadere i tessuti circostanti e disseminare, influenzando di conseguenza la prognosi del paziente.



*Figure by Giuseppe Diaferia*

Questo studio contribuisce quindi a fornire un razionale per la classificazione dell'eterogeneità del PC, associando la diversa morfologia delle cellule tumorali al loro profilo di espressione genica, alle proprietà del microambiente che le circonda e alla prognosi del paziente, suggerendo che strumenti di intelligenza artificiale, sviluppati utilizzando le caratteristiche morfologiche delle cellule di PC per dedurre i profili molecolari, potrebbero essere sfruttati in futuro in un contesto clinico, per fornire ai clinici informazioni utili per predire la prognosi dei pazienti e guidarli nella scelta della migliore opzione terapeutica.

### ----- TELL ME MORE! -----

Analisi molecolari di aree tumorali (isolate tramite microdissezione laser) morfologicamente eterogenee hanno consentito di "raggruppare" le cellule tumorali in "classi" sulla base del loro profilo di espressione genica. Queste "classi" (identificate sulla base del profilo di espressione genica) coincidevano con i tipi di cellule del PC, morfologicamente diverse, che vengono generalmente associate alla diversa prognosi dei pazienti. Gli autori hanno definito queste classi

"ben differenziato"), "di transizione" (corrispondente alle cellule tumorali che andavano incontro a transizione epitelio-mesenchimale), "indifferenziato" (privo di segni evidenti di differenziamento endodermico).

Sulla base dei geni diversamente espressi nei diversi morfobiotipi, hanno sviluppato un modello di machine learning. Questo modello permetteva di estrapolare, dai dati di espressione

#### Perché è così importante definire l'eterogeneità tumorale -morfologica e molecolare- nel percorso clinico/diagnostico?

Sebbene i meccanismi coinvolti non siano completamente chiari, è ben nota l'esistenza di eterogeneità intratumorale, sia morfologica che molecolare -derivante da una combinazione di segnali cellulari intrinseci o esterni, indotti dal microambiente- nel tumore pancreatico. Evidenze scientifiche indicano l'eterogeneità tumorale come una delle ragioni principali del fallimento della terapia e della prognosi infausta dei pazienti. All'interno della massa tumorale, infatti, cellule tumorali diverse possono rispondere in maniera diversa ad un dato trattamento, a causa delle loro specifiche caratteristiche genomiche, epigenomiche, proteomiche, metabolomiche, o associate all'espressione genica: alcune cellule tumorali potrebbero essere sensibili mentre altre potrebbero essere resistenti ad una terapia o acquisire resistenza attraverso meccanismi adattativi, determinando quindi una risposta incompleta e limitando l'efficacia terapeutica. Eppure, la valutazione dell'eterogeneità tumorale non viene inclusa sistematicamente nel percorso diagnostico. Avere una visione accurata dell'eterogeneità tumorale è però un aspetto cruciale per poter selezionare il miglior approccio terapeutico e massimizzare le probabilità che il paziente risponda al trattamento, per poter comprendere la farmaco-resistenza, migliorare gli attuali approcci terapeutici e limitare la recidiva.

Da un lato, diversi studi hanno analizzato -e integrato- i tratti omici delle cellule tumorali che conferiscono sensibilità/resistenza a specifiche terapie, o che sono responsabili dell'aggressività del tumore. Dall'altro, sebbene la valutazione istologica/patologica delle lesioni tumorali sia informativa riguardo alla prognosi del paziente, le analisi istologiche, nel contesto diagnostico, tipicamente non approfondiscono l'eterogeneità tumorale ma sono, in alcuni casi, sfruttate solo per confermare la diagnosi e non per guidare l'approccio clinico, che in realtà varia a seconda dello stadio della malattia (approssimativamente: localizzato/resecabile, localmente avanzato/non resecabile, metastatico/non resecabile). Integrare l'analisi istologica e molecolare della lesione tumorale consentirà una valutazione della malattia e una stratificazione del paziente più accurata, permettendo così un più efficace trattamento dei tumori.

"morfobiotipi", evidenziando come ogni morfobiotipo fosse descritto sia sulla base della morfologia cellulare che sulla base dell'espressione genica e quindi delle proprietà funzionali. I diversi morfobiotipi sono stati definiti "ghiandolare" (corrispondente al tipo "classico",

genica (in bulk), le proporzioni dei diversi morfobiotipi. Gli autori hanno osservato che, nella massa tumorale, c'era generalmente un morfobiotipo dominante, mentre gli altri erano presenti in diverse proporzioni. Sulla base del morfobiotipo dominante, il paziente poteva essere assegnato ad una diversa "classe di rischio", che correlava con la prognosi: i tumori dominati dal morfobiotipo "di transizione" avevano una prognosi

significativamente peggiore di quelli dominati dal morfobiotipo "ghiandolare".

Per migliorare ulteriormente il potere prognostico del modello, hanno considerato tutti i geni che definivano i diversi morfobiotipi (ovvero, hanno



messo insieme tutti i geni delle firme molecolari dei diversi morfobiotipi). Tra questi, 23 geni separavano in maniera accurata i pazienti a basso rischio da quelli ad alto rischio, con un'aspettativa di vita molto diversa. E' interessante sottolineare che i morfobiotipi, identificabili sulla base della

***“Non è del tutto chiaro in che modo, nel tumore del pancreas, differenze in termini di morfologia cellulare forniscano informazioni riguardo ai diversi programmi di espressione genica e proprietà funzionali delle cellule tumorali.”***

loro firma molecolare, esprimevano in maniera diversa proteine target di farmaci attualmente approvati.

I diversi morfobiotipi erano inoltre caratterizzate da diversi gradi di differenziamento, e quindi di aggressività del tumore (nello specifico, il morfobiotipo ghiandolare era caratterizzato dal più alto grado di differenziamento, mentre il morfobiotipo indifferenziato era quello con il più basso grado di differenziamento. Il morfobiotipo “di transizione” mostrava proprietà intermedie).

Mentre i profili genetici dei diversi morfobiotipi erano molto simili, le differenze tra di essi apparivano correlate con i diversi microambienti. Le proteine della matrice extracellulare erano infatti diversamente secrete dai diversi morfobiotipi, e quindi diversamente abbondanti nel mezzo extracellulare dei diversi morfobiotipi, influenzando a loro volta il comportamento delle cellule tumorali: modificando l'organizzazione del microambiente extracellulare e l'abilità delle cellule tumorali di invadere i tessuti circostanti e

migrare -attraverso i cambiamenti indotti nel profilo di espressione genica delle cellule tumorali-, l'interazione bidirezionale tra matrice extracellulare e morfobiotipi influenzava l'invasività del tumore. Ad esempio, l'invasione perineurale è una caratteristica tipica delle cellule di PC e rappresenta una delle principali vie di disseminazione delle cellule tumorali. Gli autori hanno mostrato che le cellule di PC che invadevano i nervi erano caratterizzate da un diverso profilo di espressione genica rispetto alle cellule localizzate esternamente ai nervi; in parallelo, anche la matrice extracellulare mostrava delle alterazioni, suggerendo

che il contatto delle cellule PC con uno specifico microambiente tumorale induca un particolare morfobiotipo, che a sua volta induce la secrezione, da parte delle cellule tumorali, di componenti della matrice extracellulare che modificano il microambiente tumorale. Una volta invasi i nervi, le cellule tumorali, dotate di un certo grado di plasticità, alterano ancora una volta il loro profilo di espressione genica, per potersi adattare al nuovo microambiente.

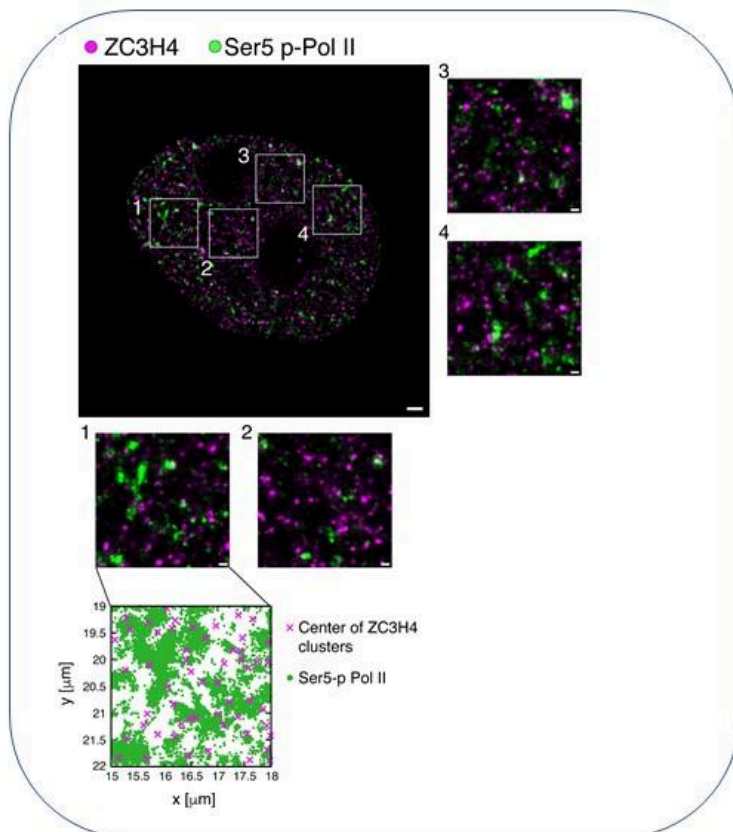
Infine, questo lavoro ha rivelato che il gene sFRP2 (che codifica per una proteina che agisce da antagonista della signaling Wnt) agiva da regolatore del comportamento descritto delle cellule PC, dato che un elevato livello di espressione di sFRP2 aumentava la capacità migratoria ed invasiva delle cellule di PC, probabilmente anche influenzando e modificando l'architettura della matrice extracellulare, e correlava con una cattiva prognosi del paziente.

---

**Referenza.** Mapping functional to morphological variation reveals the basis of regional extracellular matrix subversion and nerve invasion in pancreatic cancer. *Pierluigi Di Chiaro#, Lucia Nacci#, Fabiana Arco, Stefania Brandini, Sara Polletti, Andrea Palamidessi, Benedetta Donati, Chiara Soriani, Francesco Gualdrini, Gianmaria Frigè, Luca Mazzarella, Alessia Ciarrocchi, Alessandro Zerbi, Paola Spaggiari, Giorgio Scita, Simona Rodighiero, Iros Barozzi, Giuseppe R Diaferia, Gioacchino Natoli.* Cancer Cell 2024. doi: 10.1016/j.ccell.2024.02.017.

What's new from IEO Researchers?

## La collaborazione tra le proteine che termina la trascrizione.



Adapted from Russo, Piccolo, Polizzese et al., *Genes Dev* 2023. \*

Il complesso "Restrictor", un complesso proteico che regola -nello specifico, arresta- la trascrizione dell'RNA sintetizzato da regioni extra-geniche regolatorie (enhancer e promotori). Tuttavia, non è noto in che modo esattamente WDR82 e ZC3H4, le due componenti principali del complesso Restrictor, agiscano nell'arrestare la trascrizione.

In un articolo recente di Marta Russo, Viviana Piccolo, Danilo Polizzese et al., gli autori, supervisionati da Gioacchino Natoli -Group Leader al Dipartimento di Oncologia Sperimentale di IEO-, hanno mostrato che, a livello delle regioni extra-geniche, il complesso Restrictor recluta le proteine Symplekin e PNUTS. L'interazione di Symplekin (una proteina strutturale associata con i complessi di terminazione) e PNUTS (un adattatore, che trasloca la Protein phosphatase 1 al nucleo, precedentemente implicato nella terminazione della trascrizione) con Restrictor permette di arrestare la trascrizione non necessaria di RNA nascenti da regioni extra-geniche. Mentre Symplekin e PNUTS non interagiscono nelle cellule di mammifero, fanno parte degli stessi complessi proteici coinvolti nella terminazione della trascrizione in lievito. Questo studio aggiunge quindi un altro elemento verso la comprensione approfondita dei meccanismi molecolari che regolano la fisiologia della cellula e gli stati patologici.

La regolazione precisa della trascrizione dell'RNA è fondamentale per il corretto funzionamento cellulare, dato che delle alterazioni possono determinare uno stato patologico. L'RNA viene trascritto non solo a partire dalle regioni del DNA che codificano per i geni, ma anche da regioni extra-geniche coinvolte nella regolazione dell'espressione genica, ovvero unità di trascrizione che originano da enhancer e promotori. Sebbene ad oggi non sia noto il ruolo biologico, se esiste, di molte di queste molecole di RNA, alcuni studi suggeriscono che la trascrizione alterata dell'RNA da regioni extra-geniche potrebbe influenzare la stabilità genomica ed essere coinvolta nella tumorigenesi. Per questo i meccanismi che controllano la trascrizione -o la terminazione della trascrizione- a livello di queste regioni giocano un ruolo cruciale nel corretto funzionamento della cellula e probabilmente nel processo di tumorigenesi. Ricercatori IEO hanno precedentemente mostrato che la proteina ZC3H4 interagisce con la proteina WDR82 all'interno del

----- **TELL ME MORE!** -----

Innanzitutto, gli autori hanno osservato che la subunità ZC3H4 del complesso Restrictor era in stretta vicinanza con il complesso Pol II "impegnato" nell'inizio e nell'allungamento delle molecole di RNA, indicando un ruolo cruciale di Restrictor a questo stadio. Inoltre, numerose proteine interagivano con ZC3H4, come Symplekin e PNUMS, ma anche proteine del complesso PFS (polyadenylation specificity factor, responsabile del legame di RNA nascenti a livello del sito di Poly-A, PAS), del complesso PAF (polymerase-associated factor, un fattore di allungamento della trascrizione) e diversi regolatori dello splicing. Al contrario, non hanno rilevato alcuna interazione del complesso Restrictor con le proteine dotate di attività di clivaggio del RNA, come ad esempio la componente principale del complesso di clivaggio di CPSF (Cleavage and Polyadenylation Specificity Complex).

Per investigare le conseguenze funzionali dell'interazione di Symplekin con il complesso Restrictor, hanno alternativamente silenziato Symplekin o ZC3H4, o sovraespresso ZC3H4, e valutato gli effetti sulla trascrizione dell'RNA. Il silenziamento di ZC3H4 induceva un aumento della trascrizione a livello delle regioni extra-geniche. Inoltre, in accordo con la mancanza di interazione del complesso di clivaggio CPSF con ZC3H4, la trascrizione extra-genica era influenzata dalla delezione di ZC3H4, ma non influenzata dalla delezione di CPSF. Sebbene in teoria Symplekin sia in grado di interagire sia con ZC3H4 che con CPSF, i loro dati hanno mostrato che Symplekin agiva in collaborazione con il complesso Restrictor (ovvero con ZC3H4) per arrestare la trascrizione extra-genica. Quindi, essendo legato a Restrictor, Symplekin non era disponibile per interagire con

il complesso CPSF e l'arresto della trascrizione era mediato da Symplekin-Restrictor e non coinvolgeva il clivaggio mediato da CPSF. Ciò risultava ancora più evidente in caso di sovraespressione di ZC3H4, quando, presente in grandi quantità, ZC3H4 "sequestrava" Symplekin, prevenendo di conseguenza altri meccanismi di terminazione che necessitano di Symplekin, come

***"a livello delle regioni extra-geniche, il complesso Restrictor recluta le proteine Symplekin e PNUMS. L'interazione di Symplekin e PNUMS con Restrictor permette di arrestare la trascrizione non necessaria di RNA nascenti da regioni extra-geniche"***

quelli mediati da CPSF.

Gli autori hanno anche rilevato un ruolo di Symplekin nella regolazione dell'espressione di elementi retrovirali endogeni, sebbene considerevolmente minore rispetto agli effetti osservati in seguito alla modulazione dell'espressione di ZC3H4.

Infine, pur non essendo assolutamente necessaria per l'attività del complesso Restrictor, a livello di alcune regioni, la proteina PNUMS agiva in collaborazione con Symplekin e con il complesso Restrictor, sostenendo l'arresto della trascrizione.

In conclusione, gli autori hanno dimostrato che le proteine Symplekin e PNUMS interagiscono con ZC3H4 -una componente centrale del complesso Restrictor, responsabile della terminazione della trascrizione a livello delle regioni extra-geniche-, sostenendo l'attività di Restrictor. Sebbene Symplekin potrebbe potenzialmente interagire anche con il complesso CPSF, il coinvolgimento di Symplekin nell'arresto della trascrizione a livello delle regioni extra-geniche è indipendente dall'attività di CPSF.

---

**Referenza.** Restrictor synergizes with Symplekin and PNUMS to terminate extragenic transcription. *Marta Russo#, Viviana Piccolo#, Danilo Polizzese#, Elena Prosperini, Carolina Borriero, Sara Polletti, Fabio Bedin, Mattia Marenda, Davide Michieletto, Gaurav Madappa Mandana, Simona Rodighiero, Alessandro Cuomo, Gioacchino Natoli.* Genes Dev 2023. doi: 10.1101/gad.351057.123.

\*Figure from Russo, Piccolo, Polizzese et al., an open access [article](#) under the [CC-BY-NC](#) licence.

*What's new from IEO Researchers?*

## La metilazione del DNA come potenziale biomarcatore nei tumori testa-collo con Susanna Chiocca e Mohssen Ansarin – lavori in corso.



*Susanna Chiocca*

In collaborazione con Elisabetta Fratta, ricercatrice del Centro di Riferimento Oncologico di Aviano, Susanna Chiocca –PI al Dipartimento di Oncologia Sperimentale di IEO– e Mohssen Ansarin –Direttore del programma clinico cervico-facciale di IEO– analizzeranno il valore prognostico dei livelli di metilazione di regioni del DNA altamente ripetute –le regioni LINE1– nei tumori testa-collo (nello specifico, i tumori dell'orofaringe).

Le regioni LINE1 sono generalmente altamente metilate. Studi precedenti hanno mostrato che alterazioni dei livelli di metilazione –nello specifico, l'ipo-metilazione– sono associati con la tumorigenesi in diversi tipi di tumore. Nei tumori del cavo orale, l'ipo-metilazione di LINE1 correla con un intervallo di tempo più breve prima della manifestazione della recidiva, suggerendo un potenziale ruolo della metilazione di LINE1 nel rischio di recidiva. Nei tumori dell'orofaringe, l'ipo-metilazione di LINE1 è un fattore prognostico negativo. In particolare, i tumori positivi per infezione da papillomavirus umano (HPV) con le regioni LINE1 ipo-metilate hanno mostrato un rischio di

ricidiva cinque volte più alto rispetto ai tumori in cui le regioni LINE1 erano iper-metilate; il rischio di recidiva era paragonabile a quello dei tumori testa-collo HPV-negativi.

Con queste premesse, l'obiettivo di questo progetto è quello di valutare se il livello di metilazione di LINE1 può essere sfruttato come marcatore per identificare i pazienti con tumore testa-collo HPV-positivi con cattiva prognosi e testare se, indipendentemente dall'infezione da HPV, le mutazioni di p53 potrebbero influenzare lo stato di metilazione di LINE1. A questo scopo, i pazienti arruolati in nove centri oncologici del nord Italia saranno sottoposti ad analisi molecolari per definire lo stato di metilazione delle regioni LINE1, la presenza/assenza di infezione da HPV, l'espressione e lo stato mutazionale della proteina p53. Le analisi sono in corso.

Nell'ottica di approcci di medicina personalizzata, è di importanza fondamentale l'identificazione di biomarcatori di malattia. In questo contesto, l'epigenetica si sta dimostrando uno degli attori principali. Questo progetto ha il potenziale di usare alterazioni epigenetiche/di metilazione delle regioni LINE1 come strumento per la stratificazione dei pazienti e la selezione del miglior approccio di trattamento.



*Mohssen Ansarin*

What's new from IEO Researchers?

**Quando diventa difficile, fai una siesta – sotto pressione indotta dalla terapia, le cellule tumorali si adattano ed entrano in uno stato di dormienza per sopravvivere e successivamente alimentare la recidiva.**

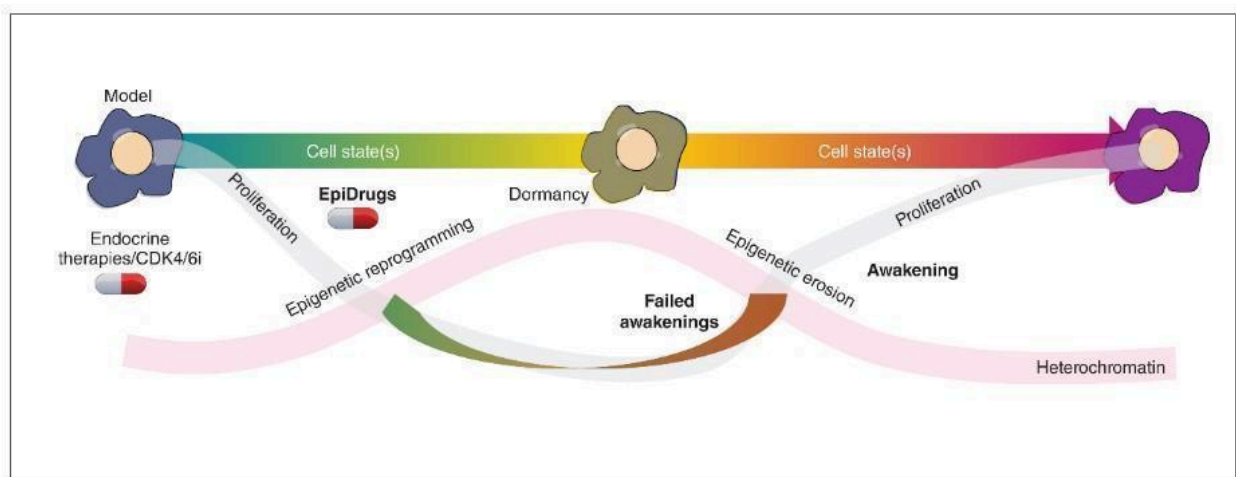


Figure from Rosano, Sofyali, Dhiman et al., Cancer Discovery 2024. \*

In un articolo recente, i ricercatori, tra cui Tiziana Bonaldi, Roberta Noberini e Chiara Ghirardi del Dipartimento di Oncologia Sperimentale di IEO, in collaborazione con Luca Magnani –Group Leader del Breast Epigenetic Plasticity and Evolution group (Imperial College London, The Breast Cancer Now Toby Robins Research Center, The Institute of Cancer Research, UK)– hanno mostrato che nel tumore al seno ER+, la terapia induce un adattamento delle cellule tumorali che entrano in uno stato cosiddetto di “dormienza”, durante il quale smettono di proliferare. I ricercatori dimostrano che la dormienza è un evento adattativo, reversibile, casuale ed imprevedibile, associato con cambiamenti nel profilo di espressione genica della cellula tumorale, modulato (stabilizzato) da processi epigenetici. Durante

**“la dormienza è un evento adattativo, reversibile, casuale ed imprevedibile, associato con cambiamenti nel profilo di espressione genica della cellula tumorale, modulato da processi epigenetici”**

**“l’adattamento che induce la dormienza, e i processi epigenetici che, attraverso l’espressione genica, la controllano, è un evento cruciale nella progressione tumorale, responsabile della resistenza e della recidiva”**

la dormienza indotta dalla terapia, un singolo clone cellulare si adatta nuovamente per uscire da questo stato di dormienza, ovvero si “sveglia” e ricomincia a proliferare, alimentando la recidiva. In altre

parole, quando la terapia induce delle condizioni di stress insostenibili, alcune cellule tumorali trovano il modo di affrontare le nuove, difficili, condizioni e sopravvivere, “si spengono”, entrando in una sorta di letargo –la dormienza–, uno stato che non è sostenibile a lungo e dal quale infine le cellule si svegliano; il risveglio di queste cellule non è un evento prevedibile nemmeno in sistemi in vitro. Questo studio rivela come l’adattamento che induce la dormienza, e i processi epigenetici che, attraverso l’espressione genica, la controllano, sia un evento cruciale nella progressione tumorale, responsabile della resistenza e della recidiva, che ad oggi costituiscono due delle principali sfide della ricerca sul cancro. La capacità delle cellule tumorali di adattarsi e diventare dormienti rappresenta quindi un punto vulnerabile: è necessario perché la cellula tumorale sopravviva al trattamento e successivamente alimenti la recidiva. Questo studio dimostra inoltre che è possibile interferire in chiave terapeutica con questo punto vulnerabile: essendo un meccanismo chiave del processo di adattamento/dormienza, la riprogrammazione epigenetica rappresenta infatti un potenziale target farmacologico nel contesto di terapie di combinazione, dato che interferire con questi processi comprometterebbe l’abilità delle cellule tumorali di sopravvivere alla terapia e alimentare la recidiva.

**In che modo queste scoperte potrebbero essere sfruttate clinicamente?**

Questi risultati possono essere utili in un contesto clinico in molti modi. Prima di tutto, firme molecolari epigenetiche possono essere usate per la stratificazione dei pazienti; ovvero, i pazienti con una bassa espressione degli enzimi responsabili delle modificazioni epigenetiche che “stabilizzano” i cambiamenti di espressione genica associati alla dormienza hanno buone probabilità di beneficiare di un trattamento combinato con terapia standard e terapie epigenetiche che interferiscono con questi meccanismi di adattamento/dormienza. Inoltre, modulando con precisione questi meccanismi epigenetici, si potrebbe pensare, da un lato, di agevolare l’uscita dalla dormienza per rendere le cellule tumorali sensibili al trattamento standard e aumentare l’efficacia della terapia; dall’altro, di favorire l’entrata delle cellule in dormienza, o prolungarne la durata, evitando così che, uscendo dalla dormienza, le cellule ricomincino a proliferare, alimentando la recidiva, mantenendo così la malattia in uno stato “cronico”, monitorabile.

**TELL ME MORE!**

Le analisi molecolari hanno rivelato che né la dormienza né il risveglio erano associati a specifici tratti genetici, preesistenti o *de novo*, nelle cellule tumorali che sopravvivevano alla terapia. Al contrario, gli autori hanno osservato che il periodo di dormienza rappresentava lo stadio con il grado di eterogeneità trascrizionale ed epigenetica più basso in questo processo. L’entrata in dormienza era un tratto acquisito, che conferiva alle cellule tumorali delle capacità ulteriori; ciò corrispondeva all’acquisizione di un profilo di espressione genica caratterizzato dalla ridotta attivazione di pathway metabolici e collegati al ciclo cellulare. Il profilo di espressione genica associato all’entrata in dormienza indotta dalla terapia era diverso dal profilo di espressione genica associato con l’uscita dalla dormienza e da quello delle cellule prima del trattamento (e

prima della dormienza): rappresentava uno stato (tratto) unico, non genetico, indotto dalla terapia. Così come l’entrata in questo stato dormiente, l’uscita dalla dormienza, che si verificava sotto continua pressione terapeutica, avveniva in maniera imprevedibile. Cloni cellulari “svegli” coesistevano nella stessa coltura cellulare insieme a cloni cellulari dormienti, suggerendo che il risveglio sia un processo raro che, nel tempo, avviene in un limitato numero di cloni cellulari. È importante sottolineare che dato un periodo di tempo sufficiente, altri cloni cellulari possono svegliarsi e il fenotipo finale è associato alla resistenza alla terapia, suggerendo che eliminare definitivamente i cloni “risvegliati” potrebbe essere estremamente difficile, considerando la plasticità e l’eterogeneità associata con questo stato.

La dormienza –uno stato G1 del ciclo cellulare prolungato– non era facile da invertire: non tutte le cellule che tentavano di uscire dalla dormienza riuscivano; alcune facevano alcuni cicli di replicazione, ma non riuscivano a completare l'uscita dalla dormienza (un processo definito “risveglio fallito”), indicando che altri meccanismi, in aggiunta alla modulazione dei geni del ciclo cellulare, erano coinvolti e necessari. Gli autori hanno infatti mostrato che era necessaria una riprogrammazione epigenetica per “stabilizzare” i cambiamenti dell'espressione genica associati all'uscita dalla dormienza; in particolare le modificazioni post-traduzionali degli istoni. Analisi basate su spettrometria di massa delle modificazioni istoniche durante l'adattamento/dormienza delle cellule hanno rivelato i cambiamenti epigenetici indotti con la dormienza e invertiti in seguito all'uscita dalla dormienza (come l'accumulo di marcatori di eterocromatina H3K9me2, H3K27me3,

H4K20me3, e la riduzione di H3K4me3 e H3K9/14ac durante l'entrata in dormienza). L'inibizione farmacologica degli enzimi responsabili di queste modificazioni epigenetiche associate alla dormienza, limitando il potenziale di adattamento della cellula tumorale, compromettevano fortemente la capacità delle cellule di diventare dormienti. Gli autori ritengono che colpire l'adattamento alla terapia endocrina che potrebbe potenzialmente verificarsi in cellule microdisseminate all'inizio dell'esposizione al trattamento potrebbe rappresentare un'interessante nuova strategia terapeutica. Inoltre, i tumori umani caratterizzati da una bassa espressione di questi enzimi (responsabili di queste modificazioni epigenetiche) erano più sensibili alla terapia e meno predisposti ad andare incontro a recidiva (mentre i tumori umani non trattati no, sottolineando come questo fosse un tratto collegato al trattamento).

---

**Referenza.** Long-term Multimodal Recording Reveals Epigenetic Adaptation Routes in Dormant Breast Cancer Cells. *Dalia Rosano#, Emre Sofyali#, Heena Dhiman#, Chiara Ghirardi, Diana Ivanoiu, Timon Heide, Andrea Vingiani, Alessia Bertolotti, Giancarlo Pruneri, Eleonora Canale, Hannah F Dewhurst, Debjani Saha, Neil Slaven, Iros Barozzi, Tong Li, Grigory Zemlyanskiy, Henry Phillips, Chela James, Balázs Györfy, Claire Lynn, George D Cresswell, Farah Rehman, Roberta Noberini, Tiziana Bonaldi, Andrea Sottoriva, Luca Magnani.* Cancer Discov 2024. doi: 10.1158/2159-8290.CD-23-1161.

\*Figure from Rosano, Sofyali et al., an open access [article](#) under the [CC-BY](#) licence.

*News, initiatives and events from the IEO world!*

## Auguri agli otto nuovi dottori di ricerca di IEO!



Il giorno 11 aprile si è tenuto al campus l'esame finale per il conseguimento del titolo di dottore di ricerca in Medicina dei sistemi. Il programma di dottorato è gestito dalla Scuola Europea di Medicina Molecolare (SEMM), in collaborazione con UNIMI, e l'IEO è una delle sedi ospitanti. La [SEMM](#) (Scuola Europea di Medicina Molecolare), fondazione istituita nel 2001, ha l'obiettivo di promuovere l'alta formazione e la ricerca nei settori emergenti nel campo della biomedicina. Le attività di ricerca e formative degli studenti di dottorato sono portate avanti in otto istituti in Italia (Istituto Europeo di Oncologia (IEO) a Milano, Istituto Fondazione di Oncologia Molecolare (IFOM) a Milano, Center for Genomic Science dell'Istituto Italiano di Tecnologia (IIT) a Milano; Human Technopole (HT) a Milano; Istituto Nazionale di Genetica Molecolare (INGM) a Milano; Italian Institute for Genomic Medicine (IIGM) a Torino; TIGEM e CEINGE a Napoli).

L'11 aprile otto giovani ricercatori dello IEO hanno ottenuto il titolo di dottore di ricerca in Medicina dei Sistemi discutendo il loro lavoro di tesi di fronte ad una commissione universitaria che ha espresso parere positivo per il rilascio del titolo.

Facciamo i nostri migliori auguri per un futuro luminoso ai nuovi dottori di ricerca!

**Fabiana Arco** (Natoli lab). Titolo della tesi "Integrated molecular investigations of MYRF and SFRP2: unveiling regulatory mechanisms of ER stress and ECM re-modelling in pancreatic cancer".

**Micol Baronio** (Cavallaro lab). Titolo della tesi "Crosstalk between tumour vasculature and ovarian cancer stem cells: the role of L1CAM".

**Richard Heery** (Schaefer lab). Titolo della tesi "Redefining Promoter DNA Methylation Change in Cancer".

**Marica R. Ippolito** (Santaguida lab). Titolo della tesi "Deciphering and exploiting aneuploidy in cancer".

**Valentino Martis** (Santaguida lab). Titolo della tesi "A molecular understanding of aneuploid cell clearance".



**Danilo Polizzese** (Natoli lab). Titolo della tesi “Termination of extragenic transcription by the Restrictor complex: dissecting RNA binding specificity”.

**Eleonora Ponzo** (Pasini lab). Titolo della tesi “Defining the role of the PCGF3-containing Polycomb Repressive Complex 1 in Synovial Sarcoma”.

**Gokce Senger** (Schaefer lab). Titolo della tesi “Causes of Aneuploidy in Tumors and the Consequences on Gene Expression and Protein Complex Stoichiometry”.

*News, initiatives and events from the IEO world!*

## Lo IEO ottiene anche quest'anno l'accreditamento all'eccellenza della Joint Commission International.



Siamo orgogliosi di comunicarvi che lo IEO è il primo ospedale in Italia ad aver ottenuto, per l'ottava volta consecutiva, l'accreditamento all'eccellenza della Joint Commission International, l'ente di certificazione in sanità più grande e autorevole al mondo, che identifica, misura e condivide le best practices nella qualità delle procedure e sicurezza dei pazienti.

Quest'anno JCI ha focalizzato la valutazione sui percorsi di prevenzione e controllo delle infezioni, gestione del farmaco, percorsi diagnostico-terapeutici e assistenziali, gestione delle risorse umane, sicurezza delle cure e creazione di un ambiente sicuro per pazienti, visitatori e professionisti.

La visita di accreditamento ha confermato che i processi del nostro ospedale sono sicuri e di eccellenza, in linea con gli standard internazionali richiesti.

Il raggiungimento di questo importante risultato sottolinea il costante impegno dello IEO nel mettere il paziente e i suoi bisogni al centro di tutti i percorsi clinici, organizzativi e strutturali, riflettendo il principio della centralità della persona assistita, su cui l'Istituto è stato fondato 30 anni fa.

Clicca [qui](#) per saperne di più.

*News, initiatives and events from the IEO world!*

## Giuseppe Curigliano, nuovo Presidente ESMO per il biennio 2027-2028



*Giuseppe Curigliano, Presidente ESMO 2027-2028.*

Con grande orgoglio annunciamo che il Prof. Giuseppe Curigliano, direttore della Divisione di Sviluppo Nuovi Farmaci per Terapie Innovative e condirettore del Programma Nuovi Farmaci IEO, nonché professore di Oncologia Medica del Dipartimento di Oncologia ed Emato-Oncologia all'Università degli Studi di Milano, sarà il nuovo Presidente dell'ESMO (European Society of Medical Oncology) per il biennio 2027-2028.

ESMO, con oltre 35.000 soci, è la più importante società di oncologia medica al mondo e Curigliano è il suo IV presidente italiano in quasi 50 anni di storia.

“ESMO dovrebbe avere un ruolo trainante nella decodifica delle complessità del cancro, per prevenire e curare questa malattia attraverso la scienza e la formazione, trasformando i risultati su pazienti e

sopravvissuti al di là dei confini geografici. Come Presidente di ESMO, la mia missione sarà quella di superare le attuali sfide riguardanti l'integrazione tra le diverse discipline oncologiche, grazie a un piano a tutto tondo incentrato sulla formazione e sull'inclusività, finalizzato a un progresso globale nella cura del cancro”, ha dichiarato il professor Curigliano.

Congratulazioni e i migliori auguri di buon lavoro!

# IEO MEMBERS - LET'S GET TO KNOW THEM BETTER.

## Chiara Battistini, Post-doc, Cavallaro Group.



Mi chiamo Chiara Battistini, sono nata e cresciuta a Pistoia e le mie passioni sono i viaggi, i libri e l'arte (anche se solo da osservatrice). Ho studiato Biologia a Firenze, poi mi sono trasferita a Torino dove ho ottenuto il dottorato di ricerca in Medicina Molecolare presso l'Istituto di Candiolo. Ho sempre lavorato nel campo dell'oncologia molecolare, anche se durante il dottorato ho seguito progetti più di ricerca di base, e credo che questo mi abbia consentito di approfondire molto i meccanismi

molecolari fondamentali che regolano il comportamento delle cellule tumorali, una conoscenza che mi è stata molto utile nei momenti successivi della mia carriera. Sono rimasta a Candiolo per un primo post-doc e mi sono poi trasferita a Milano a gennaio 2020, iniziando il mio lavoro in IEO nel gruppo del Dott. Ugo Cavallaro. Qui la mia ricerca ha subito una decisa svolta in senso traslazionale: nel mio gruppo infatti lavoriamo a stretto contatto con i clinici dell'Ovarian Cancer Center, guidato dalla Prof. Nicoletta Colombo, cercando di mettere al centro dei nostri progetti le domande cliniche più urgenti. Inoltre, questa collaborazione ci consente di avere accesso a campioni di tessuto fresco prelevato alla chirurgia, che utilizzo di routine nel mio lavoro per allestire modelli organotipici innovativi e interamente derivati da paziente, in cui le cellule tumorali vengono coltivate insieme al loro microambiente. Questi modelli sono alla base del progetto a cui mi sto dedicando adesso, un progetto finanziato dalla Comunità Europea in cui il nostro gruppo coordina un consorzio internazionale. In questo studio ci proponiamo di definire i meccanismi di risposta e di resistenza a PARP-inibitori, con l'obiettivo ultimo di personalizzare il trattamento delle pazienti e migliorare la risposta a questa classe di farmaci.

# IEO MEMBERS - LET'S GET TO KNOW THEM BETTER.

## Francesco Gualdrini, Post-doc, Natoli Group.



Sono un biologo computazionale con esperienza sia in biologia computazionale che sperimentale. Quando non sono immerso nella ricerca, mi dedico all'alpinismo e all'arrampicata, dove l'equilibrio tra concentrazione mentale e resistenza fisica complementa la mia passione per la ricerca.

Il mio percorso accademico è iniziato con una laurea magistrale in Biotecnologie Molecolari presso l'Università di Bologna. Successivamente, ho conseguito un dottorato in Genomica e Bioinformatica presso il London Research Institute (CRUK), lavorando nel laboratorio del Dr. Richard Treisman, dove ho sviluppato un forte interesse nel combinare approcci sperimentali e computazionali per affrontare problemi biologici complessi.

Dopo il dottorato, ho ottenuto una Marie Curie Individual Fellowship, che mi ha portato a Milano, nel laboratorio del Dr. Gioacchino Natoli all'IEO. Lì, mi sono dedicato

allo studio della biologia dei macrofagi, concentrandomi sulla comprensione dei meccanismi epigenetici, della trascrizione e del ruolo degli elementi ripetuti nel genoma, sviluppando al contempo nuovi strumenti e metodologie computazionali per caratterizzare inibitori e composti usati in clinica.

Sono impegnato nella scienza open-source, nell'integrazione dei big data e nell'applicazione del machine learning alle scienze della vita. La mia futura ricerca si concentrerà sullo sviluppo di nuovi metodi per caratterizzare composti clinici attraverso i cambiamenti epigenetici e sulla comprensione del ruolo evolutivo degli elementi ripetuti nel genoma.

# IEO MEMBERS - LET'S GET TO KNOW THEM BETTER.

## Elisa Piperni, Dottoranda, Segata Group.

Mi chiamo Elisa Piperni e sono una dottoranda SEMM nel gruppo di Nicola Segata. Sono nata e cresciuta a Roma, dove ho studiato Bioinformatics all'Università "La Sapienza". Durante la triennale mi sono appassionata all'analisi e l'interpretazione dei dati biologici con modelli statistici e metodi computazionali, inoltre ho conosciuto dei colleghi eccezionali. Insieme a cinque di loro, mi sono trasferita a Trento per studiare Quantitative and Computational Biology. A Trento ho avuto modo di estendere le mie conoscenze sia biologiche che computazionali, e anche di apprezzare le bellissime montagne circostanti. Per la mia tesi magistrale ho studiato le dinamiche evolutive dei melanomi metastatici, collaborando con un gruppo del Francis Crick Institute. Ho deciso poi di cambiare ambito di ricerca e iniziare il dottorato in metagenomica computazionale. Il mio progetto consiste nell'investigare le relazioni tra dieta, salute cardiometabolica e il microbioma intestinale umano. Quello che mi affascina maggiormente del microbioma umano è che costituisce un ecosistema all'interno del nostro corpo, che possiamo influenzare con stile di vita e dieta per promuovere la nostra salute.



# IEO MEMBERS - LET'S GET TO KNOW THEM BETTER.

## Deborah Mesa, Post-doc, Sigismund Group.



Sono nata a Gussago, un incantevole paese nel cuore delle colline franciacortine in provincia di Brescia. La mia passione per i viaggi—scoprire nuove realtà, esplorare orizzonti e documentare esperienze—mi ha sempre ispirato. Viaggiare mi ricorda quanto siamo parte di un sistema vasto e fortemente interconnesso. La scienza, per me, è un viaggio senza fine che esplora l'ignoto e affronta l'incertezza per abbracciare la complessità del mondo. Questa affinità mi ha avvicinata al mondo della ricerca scientifica, iniziata all'Università degli Studi di Milano e approfondita con il conseguimento di un dottorato di ricerca durante il quale mi sono focalizzata sulla caratterizzazione molecolare della via di segnalazione del Recettore del Fattore di Crescita Epidermico (EGFR) all'Istituto Europeo di Oncologia (IEO) di Milano sotto la supervisione

del Prof. Pier Paolo Di Fiore e della Prof.ssa Sara Sigismund. Il nostro focus è sull'endocitosi clatrina indipendente (EGFR-NCE)—un processo chiave per l'internalizzazione e degradazione dell'EGFR, fondamentale per modularne il segnale in risposta a elevate concentrazioni di ligando. L'integrazione di diverse vie endocitiche è cruciale per determinare il risultato finale della segnalazione, e quindi il comportamento cellulare, pertanto ora, come post-doc, mi dedico a esplorare i meccanismi molecolari di questa via per svelarne il ruolo nella fisiologia cellulare e nelle malattie, con un focus particolare sul cancro.

What's new in science?

# Interfering with epigenetic mechanisms: Results of a phase I clinical trial.

A multicenter phase I clinical trial shows the durable antitumor efficacy of an epigenetic drug –selectively inhibiting a protein involved in the epigenetic modification of histone proteins– administered alone or in combination with fulvestrant, in patients that still represent an unmet clinical need, namely patients with advanced/metastatic breast cancer in which the tumor progressed after prior treatment. These results encourage further preclinical and clinical studies aimed at exploring the world of epigenetic drugs in a clinical setting.

Epigenetics plays a key role in cell processes. The chemical modification of the DNA itself or DNA-associated proteins is the result of the dynamic balance between chemical group deposition and removal. The proteins responsible for such epigenetic modifications are thus crucially involved in cell physiology and pathology and have been shown to be often altered in cancer.

In particular, acetylation of histone proteins relies on the activity of histone acetyltransferase (HAT) and histone deacetylases (HDAC), which respectively add and remove acetyl groups from histone proteins. Inhibition of such enzymes' activity thus represents a growing research field, due to the potential that may have on the disease course interfering

with the related altered mechanisms.

HDAC inhibitors have been approved for the treatment of

patients with hematologic tumors and in vivo preclinical studies have shown the antitumor activity of HAT inhibitors –specifically, inhibitors of KAT proteins, which are a type of HATs– in solid tumors.

**Main finding.** In the context of a multicenter phase I clinical trial, researchers showed that the treatment of patients with an epigenetic drug –PF-07248144– selectively inhibiting KAT protein activity, alone or in combination with fulvestrant

(antiestrogen drug used for the treatment of postmenopausal women with recurrent ER+ breast cancer), resulted in a durable antitumor efficacy, and a manageable toxicity profile, in patients with solid tumors, especially in advanced/metastatic breast cancer patients in which the tumor progressed after previous treatments. This patient group still represents an unmet clinical need.

**Results.** Among the patients enrolled in the clinical trial, some were included in the “dose escalation phase”, to find the maximum dose of the epigenetic drug administered and well tolerated by the patients (by administering the epigenetic inhibitor only, at five different dosages), and the optimal (recommended) dose

to be further analyzed, alone or in combination with fulvestrant, in the ensuing phase. In the “dose expansion” phase, the recommended (optimal) dose identified (5mg once daily), is

further evaluated, both alone and in combination with fulvestrant.

**Safety.** Almost all patients administered the epigenetic drug alone and all patients that received the combination therapy showed some kind of adverse events. Some adverse events were strong. However, overall the toxicity profile was manageable.

**Efficacy.** In terms of clinical efficacy, the results were encouraging. The treatment showed to be

*“these results encourage further preclinical and clinical studies exploring the world of epigenetic drugs in a clinical setting”*

capable of potently inhibiting the target protein –KAT–, and had durable antitumor efficacy. When administered alone, the inhibitor resulted in a reduced tumor size in a high percentage of patients. Interestingly, the clinical effects of the drug (in terms of progression-free survival, overall response, clinical benefit) were remarkable especially in combination with fulvestrant, and in the treatment of ER+HER2– metastatic breast cancers heavily pretreated (with CDK/6 inhibitors or endocrine therapy), who represent a high unmet medical need.

Finally, the authors confirmed the efficacy of the drug in reducing histone acetylation levels through the inhibition of KAT protein activity (which adds acetyl groups), both when administered alone or in combination with fulvestrant, as well as the capability of liquid biopsy to detect, in a number of patients,

therapy-induced changes on mutation burden in circulating tumor DNA.

**Conclusions.** The encouraging results collected in the frame of this phase I trial indicate a significant and durable antitumor efficacy of an epigenetic drug selectively inhibiting the activity of proteins involved in histone acetylation, especially when administered in combination with fulvestrant, for the treatment of a subset of breast cancer patients that nowadays still represent an unmet clinical need, such as those with ER+HER2– breast cancer in advanced disease stages, previously heavily pretreated. Moreover, the overall manageable toxicity profile encourages the further testing of this combination treatment in later phase trials and supports further preclinical and clinical studies exploring the world of epigenetic drugs in a clinical setting.

---

**Reference.** Inhibition of lysine acetyltransferase KAT6 in ER+ HER2– metastatic breast cancer: a phase 1 trial. *Toru Mukohara, Yeon Hee Park, David Sommerhalder, Kan Yonemori, Erika Hamilton, Sung-Bae Kim, Jee Hyun Kim, Hiroji Iwata, Toshinari Yamashita, Rachel M. Layman, Monica Mita, Timothy Clay, Yee Soo Chae, Catherine Oakman, Fengting Yan, Gun Min Kim, Seock-Ah Im, Geoffrey J. Lindeman, Hope S. Rugo, Marlon Liyanage, Michelle Saul, Christophe Le Corre, Athanasia Skoura, Li Liu, Meng Li & Patricia M. LoRusso.* Nature Medicine 2024. doi: 10.1038/s41591-024-03060-0.



What's new from IEO Researchers?

## The cell's decoding system.

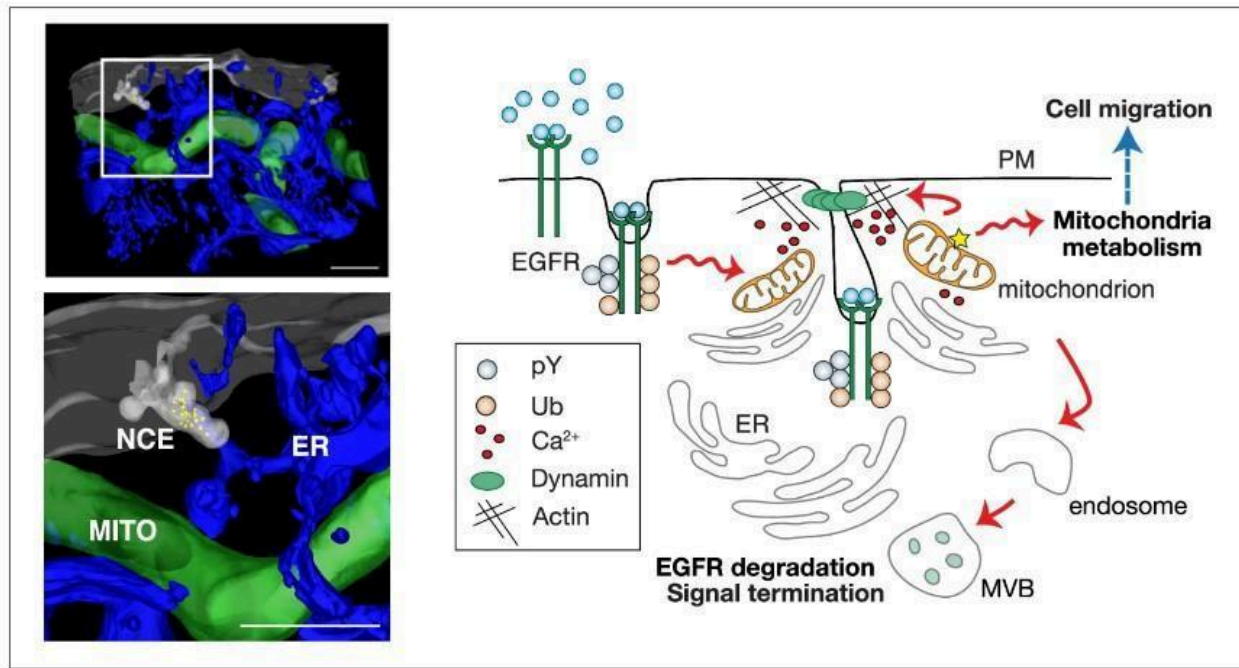


Figure adapted from Mesa et al., Nature communications 2024. \*

Cells interact and respond to external stimuli by exploiting a “language”, some kind of “molecular code” made of different molecules, at different concentrations, which bind different proteins (receptors), for different time durations, initiating different downstream cell processes. For instance, when EGF concentration is low, the binding to its receptor (EGFR) induces the cell signaling leading to cell proliferation, whereas when EGF concentration is higher, this signal is attenuated. Understanding the cell’s “molecular code” is key to be able to interfere with it when needed, such as in disease contexts, to restore the physiological conditions.

In a recent paper by Deborah Mesa et al., the authors, headed by Sara Sigismund and Pier Paolo Di Fiore –both PIs at the department of experimental oncology of IEO–, “cracked the code” used by cells to translate a specific signal initiated by a certain EGF concentration into a specific behavior, namely they described, with subcellular resolution, the mechanisms through which at high EGF concentration, cell migration is triggered. These mechanisms involve transient changes of calcium concentration at the level of specific structures inside the cell –some functional “platforms” – created through the direct interaction among cell membrane, endoplasmic reticulum and mitochondria. The transient increase in calcium concentration is sensed by mitochondria, which respond by increasing their activity; the downstream cascade of events ultimately results in the internalization of EGFR and cell migration. Indeed, the transient formation of this plasma membrane-endoplasmic reticulum-mitochondria platform inside the cell enables the transient, strong increase of calcium concentration in specific restricted areas, providing to the signal the required specificity.

Are these findings exploitable in a clinical setting? EGFR alterations (mutations or gene amplifications), leading to the aberrant (in some cases, ligand-independent) hyper-activation of the downstream cell processes, are known to contribute to tumorigenesis. Indeed, for instance, antibody-drug conjugates targeting EGFR have shown efficacy in different solid tumors. By unveiling the molecular mechanisms



*Sara Sigismund*

underlying the cascade of events associated with EGF stimulation in physiological conditions and the link with mitochondrial activity, the authors suggest a potential novel actionable target in EGFR-related tumors, through the combination with mitochondria-targeted therapies, which are increasingly developed for their therapeutic potential in several pathologies, including cancer.

### ----- TELL ME MORE! -----

Different EGF concentrations elicit different cell behaviors: At low EGF concentration, the binding to the EGFR induces a given signaling (through clathrin-mediated endocytosis, CME) that sustains proliferation (by recycling receptors back to the plasma membrane), while at high EGF concentration, it elicits a different signaling (through non-clathrin mediated endocytosis, NCE) which attenuates this signaling (by sending receptors to degradation).

In this paper, the authors showed that only high doses of EGF induce the transient direct interaction, at the plasma membrane, of the machinery responsible for EGFR internalization, the endoplasmic reticulum and the mitochondria. This interaction makes up a functional platform, involved in cells' response to EGF stimulation, ultimately modulating cell behavior.

They analyzed in detail the specific mechanisms correlated with the formation of this platform:

The stimulation with high EGF concentration induces transient calcium oscillations at the level of the plasma membrane, which depend on mitochondrial calcium buffering activity.

***“the transient formation of this plasma membrane-endoplasmic reticulum-mitochondria platform inside the cell enables the transient, strong increase of calcium concentration in specific restricted areas, providing to the signal the required specificity”***

Moreover, mitochondria sense such changes in calcium concentration and respond by increasing mitochondrial activity and ATP production specifically in restricted areas, in proximity of the cell membrane, in the space created by the platform formation. This local increase in ATP is needed to complete EGFR internalization via NCE

–but not CME–, by influencing actin cytoskeleton remodeling, leading to receptor degradation and ultimately attenuating proliferation signals.

The high EGF-induced cascade of events –involving the spatially restricted calcium oscillations, ATP production, actin remodeling– also results in increased cell migration, demonstrating a previously unknown regulation of EGF-dependent cell motility.

Finally, they showed that the mechanism is not specific to EGFR but it occurs also upon HGF stimulation of HGFR (MET) receptor, indicating that cells use the same “molecular code” to translate high concentrations of a given ligand into a specific related cell behavior.

---

#### Targeting mitochondrial activity for therapeutic scopes.

Mitochondria are considered potentially powerful targets in several pathologies, including cancer, neurodegenerative diseases and metabolic syndromes. Mitochondrial activity plays a key role in cell survival and proliferation, and thus represents a vulnerability of cancer cells. Metformin and IACS-010759 are two drugs inhibiting mitochondrial metabolism, with promising results, in *in vitro* and *in vivo* preclinical and clinical studies, in different tumor types. Metformin is commonly employed in a clinical setting for the treatment of diabetes, with few side effects and has been largely investigated in a preclinical, epidemiological and clinical setting for its antitumor potential. IACS-010759 showed remarkable antitumor activity in preclinical *in vitro* and *in vivo* studies. Both molecules act by inhibiting mitochondrial complex I. Despite the challenges arising from preclinical and clinical research, therapies aiming at interfering with mitochondrial metabolism to counter –or prevent– tumorigenesis hold in principle a great potential and the putative synergy with other treatments may lead to the definition of new and effective therapeutic approaches. Based on the results of this work, can we envisage an anti-cancer combination therapy interfering at the same time with the hyper-activated EGFR-related signaling and the altered mitochondrial activity?

---

**Reference.** A tripartite organelle platform links growth factor receptor signaling to mitochondrial metabolism. Mesa D, Barbieri E, Raimondi A, Freddi S, Miloro G, Jendrisek G, Caldieri G, Quarto M, Schiano Lomoriello I, Malabarba MG, Bresci A, Manetti F, Vernuccio F, Abdo H, Scita G, Lanzetti L, Polli D, Tacchetti C, Pinton P, Bonora M, Di Fiore PP, Sigismund S. Nat Commun. 2024 doi: 10.1038/s41467-024-49543-z.

\*Figure adapted from Mesa et al., an open access [article](#) under the [CC-BY](#) licence.

What's new from IEO Researchers?

# Blastocystis - a microorganism of the gut important for human health.

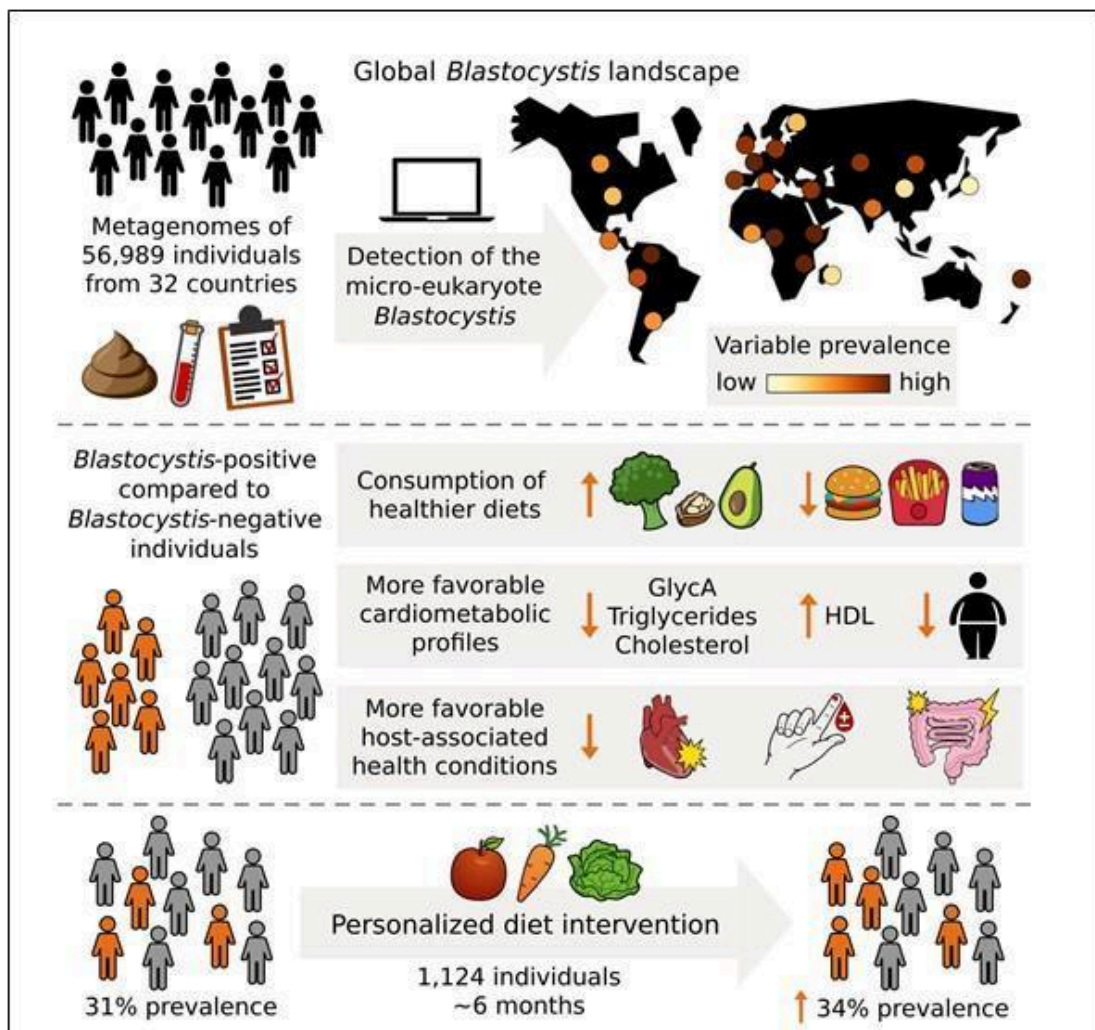


Figure from Piperni, Nguyen et al., Cell 2024. \*

The human gut microbiome is an ensemble of living microorganisms colonizing the human intestine. Bacteria inhabiting the gut have been largely explored and several studies have highlighted their role in host health and disease. For instance, in cancer, intestinal bacteria are crucially involved in response to immunotherapy, and previous studies suggest that, in neuroblastoma, they may be exploited to ameliorate tumor-associated symptoms. However, the gut microbiome also contains eukaryotic microorganisms, which have been so far largely understudied. Do they play a role in human health and pathology similar to what gut bacteria do?

In a recent study, coordinated by Nicola Segata -Group leader of the Department of Experimental Oncology of IEO and professor at the University of Trento- and Francesco Asnicar -of the University of Trento-, Elisa Piperni -PhD student in Segata's group- and colleagues showed that *Blastocystis*, a specific eukaryotic gut microorganism, is a marker of -and possibly an active player in- human health. Specifically, the authors

found that *Blastocystis* prevalence is related to the diet, is anticorrelated with body weight, increases after dietary intervention improving diet quality, and is positively correlated with cardiometabolic health, strongly suggesting a potentially active and beneficial role of *Blastocystis* in human health.

A healthy lifestyle, including a healthy dietary regimen, with high consumption of plant-based food and low consumption of processed food, is commonly advised to reduce the risk of chronic diseases, and the gut microbiota represents a link and underlying mechanistic reason for this recommendation. This study indicates a pivotal role of *Blastocystis* in this scenario, especially in the context of cardiometabolic health. Is it plausible to hypothesize a similar role of *Blastocystis* in cancer? “In this work -explains Elisa Piperni, first author of the paper- we show that *Blastocystis* is enriched in healthy individuals in several case-control studies, mostly focusing on diabetes, inflammatory bowel disease, and colorectal cancer, suggesting a favorable role of *Blastocystis* in human health which should be clarified with further experimental works. Moreover, *Blastocystis* presence in the gut is currently an exclusion criterion for potential donors of fecal microbiota transplantation (FMT) interventions. Our results highlight that novel studies are needed to evaluate the safety and efficacy of FMT also from *Blastocystis*-positive donors. Certainly, our work highlights the importance of exploring the non-bacterial component of the gut microbiota.”

----- **TELL ME MORE!** -----

By analyzing ~57k metagenomic samples with computational approaches, the authors investigated *Blastocystis* presence in the human microbiome. They showed that *Blastocystis* was

present only in the gut (and neither in the oral cavity nor on the skin) and its prevalence varied geographically (e.g. ~7% in North America vs ~22% in Europe), and with body weight (being less prevalent in overweight/obese individuals). In addition, *Blastocystis* was not present in newborns, indicating that it was not vertically transmitted from mother to infant. *Blastocystis* was also detected in ancient samples (for example in paleofeces that date back to 595 AD), indicating that its prevalence is not strictly linked to modern lifestyles. Moreover, *Blastocystis* colonization persisted over time; and analyses on twins showed it to be unrelated to the host genetics and rather linked to environmental factors. *Blastocystis* presence was also associated with the diet type (that is, omnivore, vegetarian, and vegan), showing to be more prevalent in vegetarians. Interestingly, even among individuals with comparable diet quality, *Blastocystis* presence was associated



Photos ©Lucio Tonina

Nicola Segata

with lower body mass index, suggesting a direct effect of *Blastocystis* on adiposity.

Deepening the analysis and focusing on the prevalence of each specific human subtype of *Blastocystis* in relation to geographic location and lifestyle (namely westernized vs. non-westernized lifestyle, which considers factors such as diet, calorie and fat intake, use of antibiotics or pharmaceuticals, etc.), the authors observed that prevalence of the different subtypes (STs) varied according to lifestyle: For instance, ST1 and ST2 were more prevalent in non-westernized populations, while ST4 was detected only in westernized populations, and was common in Europeans. Moreover, the *Blastocystis* subtypes profiled were poorly present in non-human hosts (and when it did happen, it was mostly primates held in captivity).

Markers of cardiometabolic health were associated with *Blastocystis* presence (but not specifically associated with the different *Blastocystis* subtypes). Notably, *Blastocystis* was *per se* a marker of cardiometabolic health, independently from the diet, suggesting that *Blastocystis* presence may have a beneficial effect on cardiometabolic health, in addition to diet. Overall, *Blastocystis* was more prevalent in healthy individuals compared to diseased subjects, suggesting that it may be a member of a healthier gut microbiome.

As *Blastocystis* inhabits the human gut together with bacteria, the authors evaluated the

interaction between *Blastocystis* and other microbiota members. The results showed that

*“this work highlights the importance of exploring the non-bacterial component of the gut microbiota”*

*Blastocystis*-positive individuals had higher alpha diversity (namely, number of species) and a specific bacterial composition, which could be exploited to predict *Blastocystis* presence. They also identified several bacterial species strongly correlated and anticorrelated with *Blastocystis* presence, suggesting a link between the bacterial fraction of the gut microbiome and *Blastocystis*.

Finally, in a 6-month personalized diet-intervention on more than one thousand individuals, the authors showed that *Blastocystis* prevalence and abundance increased after improving diet quality. In particular, *Blastocystis* was acquired in about twice the number individuals in which instead it was lost, and its relative abundance increased in individuals that were *Blastocystis*-positive both before and after the intervention, suggesting a positive impact of diet improvement on *Blastocystis* presence. An in-depth look at the dietary regimen revealed that *Blastocystis* increase was linked to higher fiber intake and decreases in body weight.

---

**Reference.** Intestinal *Blastocystis* is linked to healthier diets and more favorable cardiometabolic outcomes in 56,989 individuals from 32 countries. Piperni E, Nguyen LH, Manghi P, Kim H, Pasolli E, Andreu-Sánchez S, Arrè A, Bermingham KM, Blanco-Míguez A, Manara S, Valles-Colomer M, Bakker E, Busonero F, Davies R, Fiorillo E, Giordano F, Hadjigeorgiou G, Leeming ER, Lobina M, Masala M, Maschio A, McIver LJ, Pala M, Pitzalis M, Wolf J, Fu J, Zhernakova A, Cacciò SM, Cucca F, Berry SE, Ercolini D, Chan AT, Huttenhower C, Spector TD, Segata N, Asnicar F. Cell 2024. doi: 10.1016/j.cell.2024.06.018.

\*Figure from Piperni, Nguyen et al., an open access [article](#) under the [CC-BY NC ND](#) licence.

What's new from IEO Researchers?

# An oral microbiota bacterium is able to colonize the gut and induce tumorigenesis.

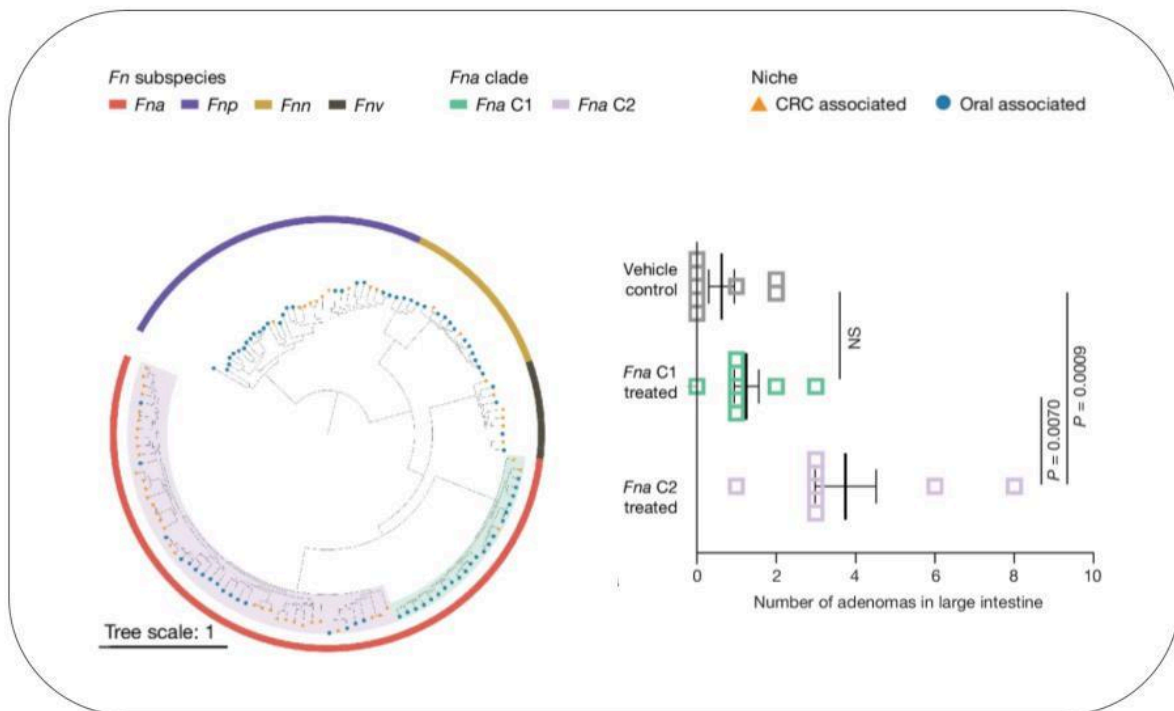


Figure from Zepeda-Rivera et al., Nature 2024. \*

*Fusobacterium nucleatum* (FN) is a bacterium commonly found in the oral cavity. However, recent studies have unveiled a role also in the lower gastrointestinal tract: FN has been found enriched in colorectal cancer (CRC) tissue as compared to healthy colon tissue, patients with high levels of FN have a worse prognosis, and microbiota-directed interventions targeting FN are capable of interfering with the disease course. However, FN species is highly heterogenous and different species may play different roles in the tumorigenic process.

In a paper by Martha Zepeda-Rivera et al., recently published in Nature, the authors, including Nicola Segata -Group Leader of the Department of Experimental Oncology of IEO and full professor at the University of Trento- show that some FN subspecies -specifically, a clade; namely bacterial “groups” with the same species of origin- are enriched in the tumor microenvironment of CRC and promote tumorigenesis. These bacteria are genetically different, and able to cope with harsh conditions such as those encountered in the stomach -characterized by a very acidic pH-, survive and thus migrate to the gut. Once colonized the gut, these bacteria modify the microenvironment of the colonized tissue, altering the metabolomic profile and promoting tumor formation.

This study provides a mechanistic explanation underlying the pathogenic role of some microbiota members and indicates that FN subspecies of this clade can be considered in a therapy perspective, as a drug target aimed at interfering with microbiota-related disease status.

---

----- **TELL ME MORE!** -----

The authors profiled and compared the genome of different FN strains isolated from CRC patient tissue and, as control, from oral samples of healthy donors: The CRC-associated FN strains had a smaller accessory genome (namely the non-core part of the genome, the part that is not conserved in all members of FN) as compared to the oral-associated strains. A number of genes were differentially enriched (that is, more/less present in the whole microbiome genome) in tumor-associated FN vs oral cavity FN, including -mostly- metabolism-related genes.

In-depth analyses revealed that FN species could be further subdivided into four FN subspecies, and one of them only (FNA) was associated with the tumor. Further high resolution analyses showed that the CRC-associated subspecies -FNA- was constituted by two different clades: Fna clade 1 (FnaC1) and Fna clade 2 (FnaC2). Both clades were present in the oral cavity, but only FnaC2 was associated with CRC.

Although FnaC1 and FnaC2 had a similar (in size) “core” genome, FnaC2 had a larger accessory genome, likely representing those factors providing to this clade the capability to colonize CRC. So, FnaC2 possessed features (in the accessory genome) allowing it to colonize, in addition to the oral cavity, the lower intestinal tract, while FnaC1 did not. Metabolism genes were particularly enriched in FnaC2 as compared to FnaC1. The two clades were also morphologically different.

Moreover, transcriptomic analyses of the bacteria exposed to intestinal metabolites revealed a number of genes differentially expressed in FnaC1 and FnaC2. The two clades showed a different capability to sense and cope with the lower, acidic pH -as compared to the oral cavity- of the stomach. The greater ability to survive and grow in the highly acidic environment of the stomach was mainly due to the presence, in FnaC2, of the

GDAR (glutamate-dependent acid resistance) pH-controlling system. This “newly evolved” pH system likely contributed to FnaC2 access, survival and colonization on the microenvironment of the gastrointestinal tract (they also found, in FnaC2, the upregulation of the same metabolism-related genes emerging from the genomic analysis, namely *eut* and *pdu* genes.)

In vivo, FnaC2 administration to the animals resulted in significantly higher numbers of tumor masses, especially when comparing FnaC2-administered vs vehicle-treated animals but also, though to a lesser extent, by comparing FnaC2-treated vs FnaC1-treated mice. Metabolomic analyses of these animals’ intestines revealed that, while the metabolomic profile of FnaC1-administered and vehicle-treated mice was similar, FnaC2-treated mice had a different metabolomic profile. Therefore, they demonstrated that the abundance of FnaC2 clade was able to alter the metabolic profile of the gut, ultimately fostering cancer onset.

Consistently, in human samples (human tissue and stool specimens), FnaC2 clade -but not FnaC1- was enriched in tumor tissue as compared to the adjacent normal tissue.

In conclusion, through high resolution analyses, the authors unveiled the existence of four FN subspecies, one of them comprising two different clades. One of these two clades specifically evolved to survive in the harsh microenvironmental conditions of the stomach -characterized by very acidic pH- and thus colonize the gut, alter the metabolic profile of the tissue towards tumor-promoting conditions that ultimately foster tumor growth. Finally, the authors identified the genetic determinants enabling adaptation, survival and colonization of this clade to the intestinal microenvironment.

---

**Reference.** A distinct *Fusobacterium nucleatum* clade dominates the colorectal cancer niche. Martha Zepeda-Rivera, Samuel S Minot, Heather Bouzek, Hanrui Wu, Aitor Blanco-Míguez, Paolo Manghi, Dakota S Jones, Kaitlyn D LaCourse, Ying Wu, Elsa F McMahon, Soon-Nang Park, Yun K Lim, Andrew G Kempchinsky, Amy D Willis, Sean L Cotton, Susan C Yost, Ewa Sicinska, Joong-Ki Kook, Floyd E Dewhirst, Nicola Segata, Susan Bullman, Christopher D Johnston. *Nature* 2024. doi: 10.1038/s41586-024-07182-w.

\*Figure from Zepeda-Rivera et al., an open access [article](#) under the [CC-BY](#) licence.



What's new from IEO Researchers?

# PETsign - exploiting the altered metabolism of cancer cells for patient prognosis.

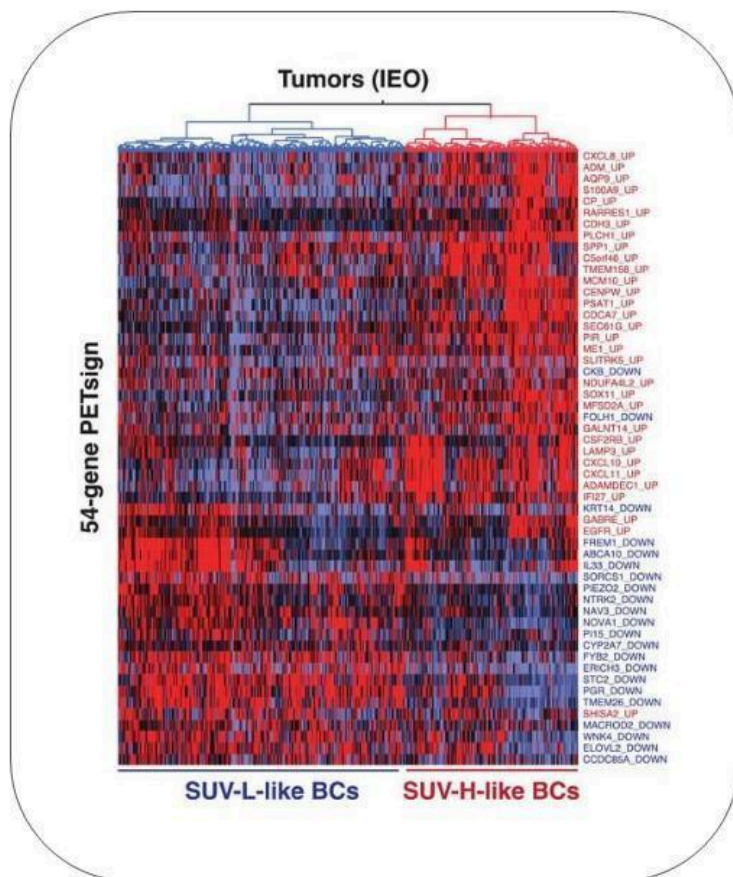


Figure from Confalonieri et al., *Advanced Science* 2024.\*

During tumor growth/progression, cancer cells change their metabolism. Such metabolism changes can be experimentally detected by a number of technical approaches, including FDG-PET. FDG is a (glucose-derived) molecule taken up by cancer cells. When cancer cells modify their metabolism, the amount of FDG taken up changes. PET imaging measures the amount of FDG taken up, which correlates with tumor aggressiveness: Higher metabolic rate means higher tumor aggressiveness. By measuring metabolism changes, FDG-PET is used for cancer diagnosis and disease monitoring. In a recent paper by Confalonieri et al., the authors, co-directed by Pier Paolo Di Fiore -Group Leader at the department of experimental oncology of IEO and professor of the University of Milan-, by exploiting metabolic features of breast cancer cells, developed a gene signature -PETsign-, namely a specific group of genes whose expression levels mirror the

metabolic state of cancer cells, as detected by employing FDG-PET. PETsign is able to identify more aggressive tumors and thus distinguish patients with good prognosis from those with bad prognosis, especially in the luminal subtype, which represents the most common breast cancer type.

The potential of PET signature in the clinical setting is three-fold: it represents a useful tool to support clinicians in the selection of the best treatment approach, firstly identifying those with the most aggressive tumors, who need stronger therapeutic approaches, avoiding at the same time a useless overtreatment -and related side effects- in patients who do not need it. Moreover, being based on metabolic features of cancer cells, PETsign enables to identify patients more likely to respond to a given metabolism-targeting therapy. Finally, this study shows the active role in tumorigenesis of two genes of the PETsign -EGFR e CXCL8- suggesting the therapeutic potential of a novel combination therapies simultaneously targeting EGFR -whose targeting in monotherapy has failed in the treatment of TNBC- and CXCL8.

---

**TELL ME MORE!**

---

On the basis of FDG-PET values, breast cancer patients could be divided in two groups: those with high FDG (FDG<sub>high</sub>) values and those with low FDG values (FDG<sub>low</sub>). Gene expression analysis of patient samples revealed a number of genes differentially expressed between the two groups. Among these, 54 were associated with bad patient prognosis and made up “PETsign”, namely a gene signature characterizing cancer cells with high FDG values.

The altered gene expression profile of cancer cells characterized by PETsign, associated with high FDG values and very aggressive behavior, was not acquired during cancer progression, but was already there in the early phases of tumorigenesis. Indeed, PETsign distinguished FDG<sub>high</sub> and FDG<sub>low</sub> patients already in localized tumor lesions (ductal carcinoma in situ, DCIS), namely the earliest breast cancer stage.

Although in-depth analyses revealed that only a minority of the genes of the PETsign were actually metabolism-related, while the majority of them were instead related to inflammation pathways, PETsign did reflect differences in cancer cell metabolism (specifically, FDG<sub>high</sub> cells appeared to rely more on aerobic glycolysis, while FDG<sub>low</sub> cells might depend more on fatty acid oxidation.)

Interestingly, not only did PETsign genes represent markers of more aggressive tumor cells with altered metabolism, but they also played an active role in tumorigenesis. Indeed, the stimulation of two genes of PETsigna (EGF and

*“PETsign is a gene signature, namely a specific group of genes whose expression levels mirror the metabolic state of cancer cells, as detected by employing FDG-PET. PETsign is able to identify more aggressive tumors and thus distinguish patients with good prognosis from those with bad prognosis”*

CXCL8) induced cancer cell metabolic changes.

So, high FDG values correlate with bad prognosis and PETsign is able to distinguish FDG<sub>low</sub> and FDG<sub>high</sub> patients, identifying those with bad prognosis. Furthermore, combining PETsign with StemPrintER -another gene signature developed by IEO researchers reflecting the number of cancer stem cells in the tumor mass and thus reflecting tumor aggressiveness- significantly increased the prognostic power, consistently with the notion that the two gene signatures capture different biological traits: metabolism and stemness.

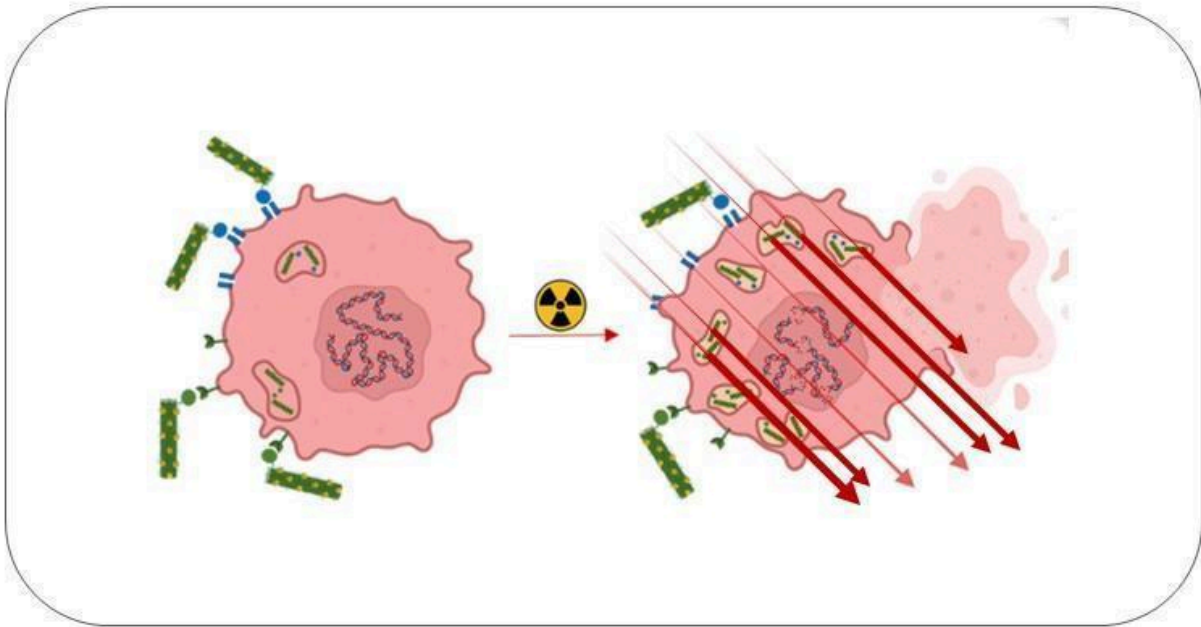
---

**Reference.** A PET-Surrogate Signature for the Interrogation of the Metabolic Status of Breast Cancers. Confalonieri S, Matoskova B, Pennisi R, Martino F, De Mario A, Miloro G, Montani F, Rotta L, Ferrari ME, Gilardi L, Ceci F, Grana CM, Rizzuto R, Mammucari C, Di Fiore PP, Lanzetti L. Adv Sci (Weinh) 2024. doi: 10.1002/advs.202308255.

\*Figure from Confalonieri et al., an open access [article](#) under the [CC-BY](#) licence.

*What's new from IEO Researchers?*

# A further step towards precision radiation oncology: Exploiting nano-molecular complexes to enhance radiotherapy efficacy.



*Figure adapted from Biagiotti et al., Nanoscale Horizons 2024.\**

Radiotherapy (RT) represents one of the main therapeutic options for the treatment of solid tumors and, over the past decades, has undergone remarkable technological advances which, by fine tuning the dose delivered and enhancing the precise targeting of the tumor, has significantly improved patients' clinical outcome.

RT exploits high energy sources to hit and kill tumor cells, or slow down their proliferation, ideally sparing -or at least strongly limiting the dose delivered to- surrounding healthy tissues. To this end, molecules called "radiosensitizers" can be employed. Radiosensitizers are specifically targeted to cancer cells, where they accumulate and make cells more sensitive to radiation. This way, while delivering the same dose of radiation, cancer cells that have accumulated the radiosensitizers are more sensitive and thus more likely to die because of radiotherapy as compared to the healthy cells. In this scenario, precisely delivering the radiosensitizers to cancer cells is of pivotal importance.

In a recent paper by Biagiotti et al., researchers coordinated by Saverio Minucci -Group leader at the department of experimental oncology of IEO and professor of the university of Milan- and Barbara Richichi -at the university of Florence- have developed a molecular complex capable of specifically targeting, being

efficiently internalized, and accumulate inside cancer cells, acting as radiosensitizer and thus making cancer cells more sensitive to radiation therapy.

The typical treatment of triple-negative breast cancer

patients is surgery followed by radiotherapy. However, the remaining tumors surviving the first round of radiotherapy frequently develop radioresistance and, therefore, patients experience relapse. By exploiting in vitro culture of triple-negative breast cancer, this work shows that this technology allows for the precise targeting of cancer cells and the efficient delivery of radiosensitizers which, by enhancing cancer cell radiosensitivity, result in greater efficacy of radiation therapy. Although further in vivo preclinical and clinical validation are warranted, the results of this work propose a novel useful tool to further improve radiotherapy efficacy while reducing side effects related to the undesired delivery of radiation to the surrounding healthy tissues.

*“although further in vivo preclinical and clinical validation are warranted, the results of this work propose a novel useful tool to further improve radiotherapy efficacy while reducing side effects related to the undesired delivery of radiation to the surrounding healthy tissues”*

---

### TELL ME MORE!

---

The authors improved previously published molecular complexes containing “sugar heads” fused to gold nanoparticles: The sugar heads mediate the interaction with the GLUT receptor, highly expressed in triple-negative breast cancer cells, and enable to specifically target cancer cells, while the gold nanoparticle serves as radiosensitizer. These complexes were delivered to in vitro cultures of triple-negative breast cancer -which are usually resistant to radiotherapy- and their normal counterpart. Despite being efficiently internalized in cancer cells -and poorly internalized in normal cells- molecular complexes were not toxic *per se*. However, pre-treatment of cancer cells with such molecular complexes carrying the radiosensitizers significantly enhanced the cytotoxic effect of radiotherapy: The effect of radiation dose inside

cancer cells was higher in pretreated cells as compared to non-pretreated cells. Moreover, radiotherapy strongly impaired pretreated cancer cell viability in the short term and impaired cell proliferation in the long term (14 days after irradiation). In other words, radiosensitizer/molecular complex-treated cancer cells showed higher cell death rate after irradiation as compared to non-pretreated cells and the radiation dose needed to kill cancer cells was roughly halved. Irradiation causes cell death by damaging DNA and other critical cell structures. Cells with damaged DNA can either repair the DNA or die. The authors showed that cancer cells pre-treated with the molecular complex-delivered radiosensitizer displayed more damaged DNA after irradiation than non-pretreated cells.

---

**Reference.** Biocompatible cellulose nanocrystal-based Trojan horse enables targeted delivery of nano-Au radiosensitizers to triple negative breast cancer cells. *Giacomo Biagiotti, Riccardo Cazzoli, Patrizia Andreozzi, Giusi Aresta, Mattii Francesco, Chiara Mangini, Paolo di Gianvincenzo, Chiara Tobia, Sandro Recchia, Laura Polito, Mirko Severi, Orazio Vittorio, Stefano Cicchi, Sergio E Moya, Roberto Ronca, Adriana Albini, Debora Berti, Roberto Orecchia, Cristina Garibaldi, Saverio Minucci, Barbara Richichi.* Nanoscale Horizons 2024. doi: 10.1039/d4nh00042k.

\*Figure adapted from Biagiotti et al., an open access [article](#) under the [CC-BY 3.0](#) licence.

*What's new from IEO Researchers?*

## The set-up of a patient-derived in vitro tumor model enables the identification of potential novel therapeutic targets in ovarian cancer.



*Ugo Cavallaro*

In the frame of a recently concluded OCRA-funded project, in collaboration with the University of Chicago, the Queen Mary University of London and the IEO Gynecology Program led by Nicoletta Colombo, Ugo Cavallaro –PI at the Department of Experimental Oncology of IEO– and his team exploited a state-of-the-art ovarian cancer model to investigate the role of the tumor microenvironment –through its activity on the cancer stem cells (CSC)– in ovarian cancer progression.

CSCs are the cell subpopulation within the tumor mass sustaining tumor growth and metastatic dissemination; they are also capable of resisting chemotherapy and fueling tumor recurrence. Therefore, identifying the molecular mechanisms responsible for CSC survival and identity, to specifically interfere with these mechanisms, represents an ideal approach to eradicate the disease, thus reducing the risk of recurrence. The tumor microenvironment has been shown to play a key role in the identity of CSCs. The cancer model set up by the Cavallaro's group, and in particular by Chiara Battistini and co-workers, in which, differently from the classical models, both tumor cells and the microenvironmental component are patient-derived, enables to faithfully replicate in vitro the main characteristics of the disease. By employing

these 3D organotypic cultures, the researchers showed that FOXM1 protein (a transcription factor) gets specifically activated in ovarian CSCs following the interaction with the tumor microenvironment, through the activation of the FAK/YAP pathway. When activated, FOXM1 sustains stemness, thus indirectly influencing tumor progression and relapse. Conversely, FOXM1 pharmacological inhibition decreases survival of CSCs, highlighting a critical role of this protein in cancer progression. Being crucial to maintain

CSC stemness, FOXM1 represents a vulnerability of CSC and thus a potential therapeutic target to reduce tumor relapse: By blocking the activity of a protein that is required for the survival of the cells fueling tumor progression, tumor growth is impaired.

*“the cancer model set up by the Cavallaro’s group, and in particular by Chiara Battistini and co-workers, in which both tumor cells and the microenvironmental component are patient-derived, enables to faithfully replicate in vitro the main characteristics of the disease”*



*Chiara Battistini*

The collaboration of Ugo Cavallaro and his team with Nicoletta Colombo and her co-workers at the IEO Gynecology Program enabled to establish a workflow that allowed for the systematic access to surgical samples and thus the set-up of an optimized co-culture 3D model which was the prerequisite for the successive work revealing the key role of FOXM1 protein in the interaction between cancer cells and the microenvironment in tumor progression. During surgery, which represents the standard first-line treatment of ovarian cancer patients, healthy omental tissue is isolated along with the tumor mass. The omentum is an apron-like tissue that covers most visceral organs and serves as a primary site of dissemination for metastatic ovarian cancer. Mesothelial cells and fibroblasts derived from the healthy omental tissue are thus co-cultured together with cancer cells, recreating an in vivo-like condition enabling to investigate ovarian cancer progression and identify clinically meaningful novel therapeutic targets.

Notably, the identification of FOXM1 as a pivotal player in the stemness features of

ovarian CSCs, downstream of FAK/YAP signaling, is clinically relevant as FAK inhibitors are currently in clinical trial for different tumor types, including ovarian cancer. These inhibitors may thus be exploited, in combination with chemotherapy, for the complete eradication of the disease, switching off the stemness-associated molecular programs of CSCs, thus sensitizing cells to chemotherapy.

The results of this study have been recently published in *Cell Death and Disease*.

---

**Reference.** Tumor microenvironment-induced FOXM1 regulates ovarian cancer stemness. *Chiara Battistini, Hilary A. Kenny, Melissa Zambuto, Valentina Nieddu, Valentina Melocchi, Alessandra Decio, Pietro Lo Riso, Carlo Emanuele Villa, Alessia Gatto, Mariacristina Ghioni, Francesca M. Porta, Giuseppe Testa, Raffaella Giavazzi, Nicoletta Colombo, Fabrizio Bianchi, Ernst Lengyel & Ugo Cavallaro.* *Cell Death & Disease* 2024. doi: 10.1038/s41419-024-06767-7.

What's new from IEO Researchers?

# Exploiting the epigenome to predict specificity of kinase inhibitors.

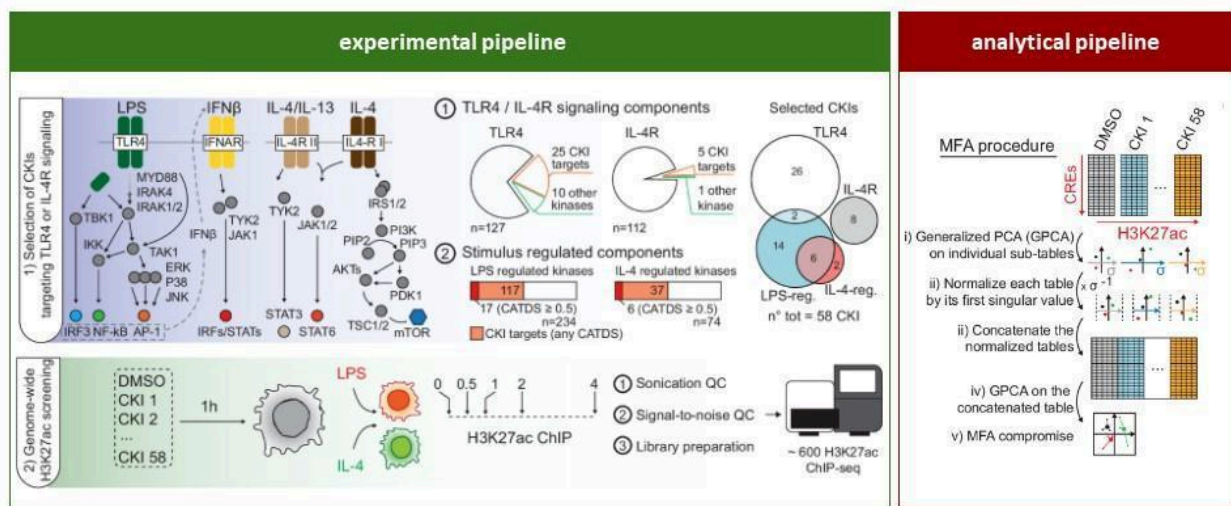


Figure adapted from Gualdrini et al., *Molecular Systems Biology* 2024. \*

Kinases are proteins playing a key role in a number of different cell processes, in physiological and pathological conditions, and therefore represent an interesting pharmacological target. Indeed, many kinase inhibitors are in development in different disease contexts, including cancer, and many others have been clinically approved, such as trametinib (a MEK1/2 inhibitor), employed for the treatment of some advanced stage tumors.

Although the effects on cells of many small molecules employed in a clinical setting are commonly the result of a combination of specific and non-specific effects, which have an impact on efficacy and toxicity, the approval of novel kinase inhibitors requires detailed analyses of their biological effect and specificity. Indeed, although poorly specific inhibitors can be approved to be used in a clinical setting, the lack of in-depth knowledge regarding their biological effects may lead to undesired side effects in patients.

In a recent paper by Gualdrini et al., the authors, supervised by Gioacchino Natoli, Group Leader of the Department of Experimental Oncology of IEO, set up an experimental pipeline and analytical tools to investigate selectivity and overall biological effect of clinical kinase inhibitors, by using epigenomics as a readout. Specifically, under the assumption that the great majority of biological processes associated with kinase inhibitor treatment are somehow linked to changes in transcription factor activity and ultimately gene expression, the authors analyzed “intermediate” events such as DNA-associated histone protein modification (acetylation) and transcription factor binding to evaluate kinase inhibitors-induced gene expression changes.

This work provides a tool for the accurate, high resolution analysis of the specificity of kinase inhibitors for their targets, allowing for both the selection of the most promising compounds to be advanced towards further clinical development and the repurposing of already approved clinical kinase inhibitors.

## TELL ME MORE!

Inhibitors having the same target kinase can have largely different biological effects according to the specific context, namely interacting proteins

and different stimuli, pointing to the need for other tools to predict such effects, such as, indeed, the epigenomic changes.

Firstly, the authors demonstrated that histone acetylation analysis was an adequate readout to evaluate in an unbiased manner the effects of kinase inhibitors. By exploiting a previously developed score (measuring the binding affinity of an inhibitor for protein kinases in cell lysates), they rationally selected a number of kinase inhibitors to be included in their analyses. They compared changes in acetylation levels in LPS-treated or IL4-treated cells in the presence or absence of the different inhibitors. Changes in acetylation levels were observed in hundreds or thousands of genomic regions, at the different timepoints analyzed, under the different stimuli, with the different inhibitors. To analyze such a high amount of complex data, they developed novel analytical tools. Overall, most inhibitors mainly reduced acetylation levels, while some increased acetylation levels. Notably, few inhibitors completely reversed the stimulus-induced changes (that is, LPS and IL4). The researchers thus set up a system to *predict* the actual specificity of the inhibitor for a given kinase (which means to infer the cell signaling events inhibited by the treatment. As epigenomic alterations mirror the wide range of transcriptional changes induced by the inhibitors, they added information regarding the specific transcription factors affected by the different inhibitors. Results of the integration, through machine learning approaches, of acetylation data

and information regarding the regions bound by the set of transcription factors considered, under kinase inhibition, indicate that transcription factor binding profiles can predict the epigenomic effects (alterations of acetylation) of individual

*“this work provides a tool for the accurate, high resolution analysis of the specificity of kinase inhibitors for their targets, allowing for both the selection of the most promising compounds to be advanced towards further clinical development and the repurposing of already approved clinical kinase inhibitors”*

inhibitors (although the specific kinases inhibited cannot be directly linked to a given transcription factor).

By applying this tool to their dataset, they observed, for instance, that some inhibitors approved as targeting JAK kinases possessed instead a completely different specificity, more strongly inhibiting different kinases (even though anyway they did inhibit JAK and affected the expected downstream signaling, albeit weakly), suggesting that nonspecific effects played a major role in shaping the observed changes.

In conclusion, this study exploited epigenomic data to provide high resolution information on the specificity of clinically approved or under development kinase inhibitors, with unexpected results, and provides a tool to predict the specific target of new inhibitors, in order to select those to be further advanced towards clinical testing.

---

**Reference.** An integrative epigenome-based strategy for unbiased functional profiling of clinical kinase inhibitors. Gualdrini F, Rizzieri S, Polletti S, Pileri F, Zhan Y, Cuomo A, Natoli G. Mol Syst Biol 2024. doi: 10.1038/s44320-024-00040-x.

\*Figure adapted from Gualdrini et al., an open access [article](#) under the [CC-BY](#) licence.



What's new from IEO Researchers?

# An optimized protocol to characterize a largely unexplored epigenetic modification exploitable as a tumor marker.

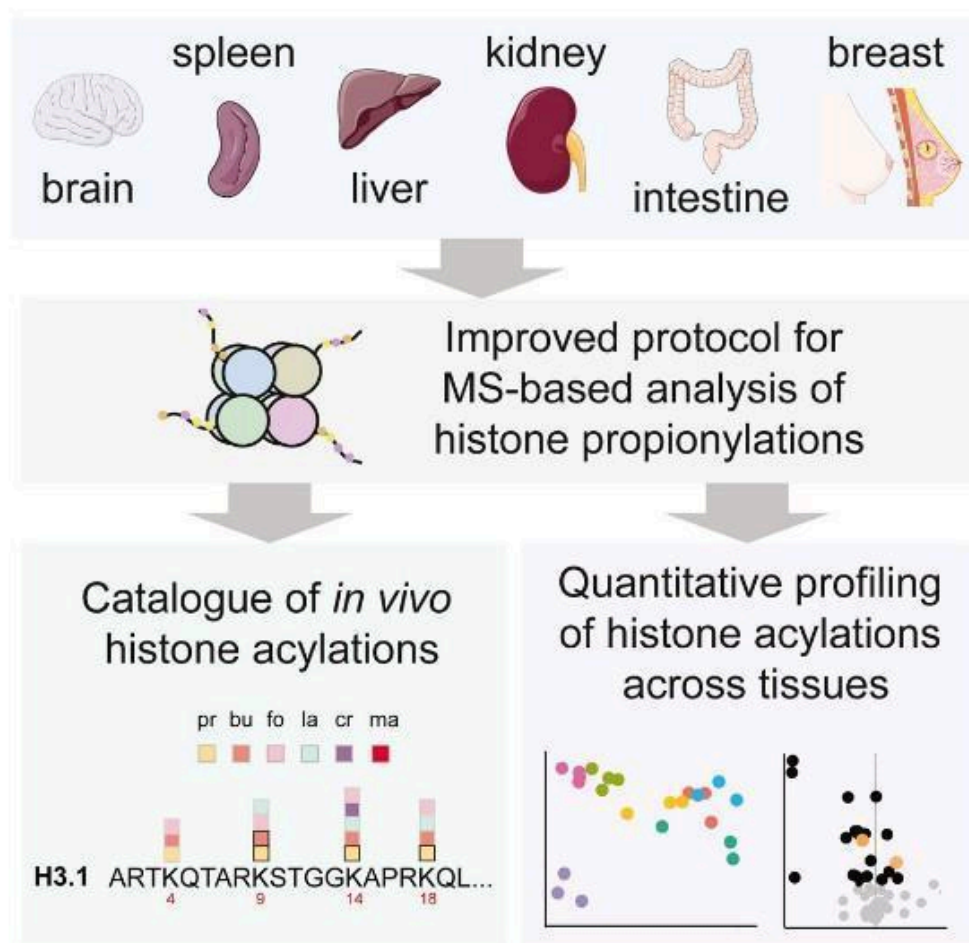


Figure from Vai, Noberini, Ghirardi et al., *Molecular and Cellular Proteomics* 2024. \*

Histone post-translational modifications (hPTMs) are chemical modifications of histone proteins playing a key functional role in several biological processes. There are several types of hPTMs; methylation and acetylation (on lysine residues) are the best characterized. Non acetyl-acylations are largely less characterized hPTMs, mostly due to the poor efficiency of the currently available mass spectrometry-based analytical methods. However, previous studies have linked them with the cell metabolism, gene expression, and several biological and pathological processes, including cancer.

*“the set-up of this methodology enabled them to profile a number of tissues, and showed that these epigenetic modifications can be used as biomarkers, enabling to distinguish breast cancer tissue from non-malignant mammary tissue, once again demonstrating the power of mass spectrometry when applied to clinical samples”*

In a recent paper by Vai, Noberini, Ghirardi et al., the authors headed by Tiziana Bonaldi -Group leader of the Department of Experimental Oncology of IEO- developed an optimized protocol for the mass spectrometry-based analysis of histone acylations; specifically, propionylation and butyrylation. By exploiting this

protocol, they profiled histone propionylation and butyrylation in a number of different mouse- and patient-derived tissue samples, revealing that, despite being poorly analyzed, propionylation is fairly abundant, at levels comparable to the other well-studied methylations and acetylations, and thus likely to be involved in important biological processes so far overlooked, highlighting the need for adequate tools to properly analyze them.

The set-up of this methodology enabled them to profile a number of tissues, and showed that these epigenetic modifications can be used as biomarkers, enabling to distinguish breast cancer tissue from non-malignant mammary tissue, once again demonstrating the power of mass spectrometry when applied to clinical samples.

#### ----- TELL ME MORE! -----

The authors tested a number of protocols and developed an optimized one that, by chemically modifying lysine residues, allows for the ensuing identification of the acylated peptides by mass spectrometry-based analysis. Overall, the compounds employed for the chemical modification of the acylated lysines distinguish the different protocols tested and the specific acylations identified: The D3Ac-PIC protocol proved to be efficient in detecting propionylations and butyrylations, whereas the PRO-PIC protocol effectively found all the other acylations along with methylation and acetylation. Combining the two methods allowed for a comprehensive profiling of methylation, acetylation, and acylation.

By employing the D3Ac-PIC, they focused on the analysis of propionylations and butyrylations, which have been so far poorly explored. The set-up of this methodology, exploiting non-expensive reagents, can be employed for large scale screenings, and enabled them to profile a number of different murine tissues (brain, cecum, colon, heart, kidney, liver, spleen)

as well as human breast cancer and normal mammary tissue. The quantification of the differential amount of propionylations and butyrylations in the different tissues analyzed revealed, first, that propionylations were highly abundant, suggesting a main role for these chemical modifications in biological processes. Second, the analysis highlighted that different tissues display different acylation levels. Third, they found that some propionylated peptides distinguished the different tissue types, meaning that such propionylated peptides define tissue identity.

Finally, the authors found that propionylation can be exploited to distinguish neoplastic from non-tumoral breast tissue as well as to distinguish different breast cancer subtypes: The analysis of propionylated peptides, indeed, efficiently distinguished triple-negative from Luminal-A breast cancer (while the Luminal-A subtype was quite close to normal tissue, in agreement with previous studies showing that its gene expression resembles that of normal mammary tissue).

---

**Reference.** Improved Mass Spectrometry-Based Methods Reveal Abundant Propionylation and Tissue-Specific Histone Propionylation Profiles. Vai A, Noberini R, Ghirardi C, Rodrigues de Paula D, Carminati M, Pallavi R, Araújo N, Varga-Weisz P, Bonaldi T. Mol Cell Proteomics 2024. doi: 10.1016/j.mcpro.2024.100799.

\*Figure from Vai, Noberini, Ghirardi et al., an open access [article](#) under the [CC-BY](#) licence.

*What's new from IEO Researchers?*

## A multi-omic approach to profile the “tumor ecosystem”.



*Martin Schaefer*

In colorectal cancer, tumors differently located along the colon display different molecular and clinical features. For instance, distal tumors (namely, those located in the left side of the colon) are different from proximal tumors (located in the right side of the colon) and, although the mechanisms involved are largely unknown, differences in patient prognosis have been observed, suggesting that a more precise description of tumors localized in different sites along the colon is likely to better inform on the most appropriate therapeutic approach.

In a recent paper by Dallavilla et al., the authors headed by Martin Schaefer, Group leader at the department of experimental oncology of IEO, exploit a multi-omic approach to describe how intrinsic features of colorectal cancer and microenvironmental features vary along the colon, revealing correlations that could be exploited with prognostic and diagnostic scopes. In other words, if a tumor in the distal colon is more strictly linked to relapse as compared to a tumor in the proximal colon and is parallel with a specific metabolomic or microbiome profile, is it possible to exploit microbiome or metabolome analyses to select the most appropriate therapy?

In particular, the authors exploited their recently developed computational tool capable of extracting microbiome data from patients' tumor sequencing data (which, being obtained through the sequencing of the whole cancer tissue samples, contain both cancer cells' data as well as tumor-associated microbiome data), enabling to obtain spatially-resolved information about the gut microbiome. By applying this tool to

both publicly available and IEO-collected datasets and considering other omics data, they analyzed how cancer-intrinsic features -such as gene expression, gene mutation, methylation levels- and tumor microenvironmental features -such as metabolic and microbiome factors- change along the colon, showing that some of these traits change gradually along the colon, whereas some others show a sudden right-left side of the colon change; moreover, the variation of some of these intrinsic and microenvironmental factors are correlated, suggesting a potential co-evolution, in which these factors affect each other as part of a same ecosystem: The tumor ecosystem.

### ----- TELL ME MORE! -----

Firstly, the authors analyzed how the different tumor-intrinsic factors varied along the colon. **Expression** levels of some genes, such as those involved in cell cycle, DNA replication and chromatin maintenance, changed suddenly from the right to the left side of the colon whereas some others, such as genes involved in metabolism and adaptation to the microenvironment, changed gradually. Analysis of **methylation levels** revealed that the majority of the methylated promoters followed a gradual change, while a minority showed a clear right-left change. Overall, methylation resulted to be higher in the right/proximal tract of the colon. By analyzing the **mutations**, they observed that the frequency of mutated driver genes varies significantly according to the specific location along the colon: Driver genes were overall more frequently mutated in the right/proximal colon. The percentage of genes whose frequency of mutations showed a sudden right-left change was about the same as that of genes whose mutation frequency gradually changed along the colon. Notably, the different **subtypes** in which colorectal cancer is usually subdivided -namely CIMP, CIN, MSI- were differently frequent in the different colon sections: The CIN type was more frequent in the distal colon, and the frequency changed drastically from right to left; MSI frequency also changed suddenly from right to left, but following an opposite trend than CIN, meaning higher frequency in the proximal colon; CIMP frequency changed gradually along the colon.

Next, they assessed potential effects of the tumor microenvironment on cancer, evaluating microenvironmental factors such as metabolome, microbiome, and immune system. By profiling the **metabolome** of 27 IEO colorectal cancer patients, they observed that none of the metabolites showed a sudden change but some, including fatty acids, which have been shown to play a key

role in tumorigenesis, displayed a gradual change along the colon. As the **microbiome** has been shown to be crucially involved in cancer and the authors previously demonstrated that it can be inferred from CRC transcriptomic data (through their recently developed computational tool), they spatially profiled the microbiome along the colon. Their analysis revealed that no microbiota species changed suddenly, in terms of abundance, but some changed gradually along the colon, suggesting that the microbiome (and likely the diet) may affect the tumor in a gradually changing manner along the colon; in addition, some microbiota species correlated with gradual changes of some of the metabolites. Furthermore, analyses of the **immune** component showed some gradual variations along the colon: some cell types were more present in the proximal (such as CD8, CD4,

*“by applying a multi-omic approach, the results of this study indicate that cancer-intrinsic and environmental factors are linked, through the microbiome and the metabolome, pointing to a mutual influence of the different factors, which affect each other evolving as a whole tumor ecosystem, which, as such, should be studied to be fully understood”*

helper), some others in the distal colon (macrophages).

Their results suggest that specific features of the microenvironment may directly affect the tumor, “imposing” some characteristics. Typically, the microenvironment changes gradually along the colon. The tumor may be influenced, showing gradual changes in expression levels, methylation, frequency of mutations in genes related to the tumor microenvironment. To further explore this aspect, they evaluated whether the whole tumor ecosystem, exemplified and simplified here by gene expression (representing a cancer-intrinsic feature) and metabolite levels (representing a microenvironmental factor), evolved as a whole,

by verifying the putative existence of any correlation between gradually changing gene expression profiles and gradually changing metabolite levels. Their results revealed that some cell pathways included both some of the genes and some of the metabolites whose levels changed gradually, suggesting the potential co-evolution of the tumor and the microenvironment.

By applying a multi-omic approach, the results of this study indicate that cancer-intrinsic and

environmental factors are linked, through the microbiome and the metabolome, pointing to a mutual influence of the different factors, which affect each other evolving as a whole tumor ecosystem, which, as such, should be studied to be fully understood. Further experimental validation may contribute to add to this multi-interaction a causal component.

---

**Reference.** Differences in the molecular organisation of tumours along the colon are linked to interactions within the tumour ecosystem. *Tiziano Dallavilla, Serena Galiè, Gaia Sambruni, Simona Borin, Nicola Fazio, Uberto Fumagalli-Romario, Teresa Manzo, Luigi Nezi, Martin H Schaefer.* *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2024. doi: 10.1016/j.bbadis.2024.167311.

What's new from IEO Researchers?

# Researchers unveil the molecular mechanisms induced by trametinib treatment in pancreatic cancer. Are they targetable for therapeutic purposes?

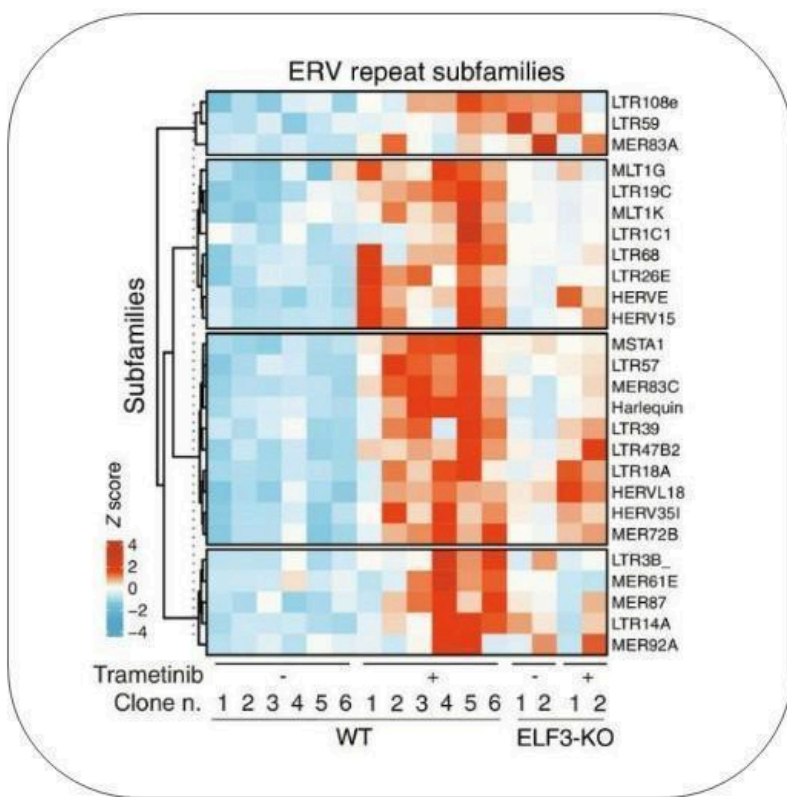


Figure from Cortesi, Gandolfi et al., Science Advances 2024. \*

The great majority of pancreatic cancers are caused by mutations in the KRAS gene (in particular, the G12D mutation). These mutations, which can precede by decades the development of a clinically relevant tumor, result in the hyperactivation of the downstream (KRAS modulated) cell processes, which confer to the cells a greater ability to survive and proliferate, thus promoting tumor growth. However, despite being a fundamental driving event of pancreatic tumorigenesis, the pharmacological inhibition of the constitutively active cell processes downstream of KRAS by trametinib -a drug approved for the treatment of some advanced stage tumors- does not result in therapeutic efficacy in patients and has only marginal effects in vitro.

Is it possible that inhibitors of KRAS-related cell processes, while not inducing significant effects *per se*, may predispose cells to other

treatments which, synergizing with trametinib, may thus result to be effective?

In a recent paper by Cortesi, Gandolfi et al., the authors, supervised by Gioacchino Natoli -Group Leader at the Department of Experimental Oncology of IEO- analyzed the molecular changes of KRAS-mutated cells undergoing trametinib treatment, revealing a gene expression reprogramming leading to the activation of specific regions of the genome -the retrotransposons- and the ensuing production of viral-like RNA molecules triggering the cell's immune mechanisms (namely the cell's main antiviral system, the alpha/beta interferon). That, in turn, fosters the antitumor immune response. This way, trametinib makes pancreatic cancer cells more sensitive to immunotherapy. Indeed, pre-treatment of in vivo preclinical models of pancreatic cancer with trametinib followed by anti-PD1 antibody-based immunotherapy significantly increases mice survival; conversely, no noticeable effect is observed with single agent treatment.

Importantly, retrotransposon activation has been previously linked to the production of neoantigens (namely aberrant molecules derived from DNA alterations of cancer cells, which stimulate the immune system),

suggesting that this mechanism could be therapeutically exploited: Targeting retrotransposon activation to point to the immune system the presence of cancer cells and promote their elimination.

In conclusion, this work deconvolves the molecular mechanism induced by the treatment of pancreatic cancer cells with trametinib, which sensitizes tumor cells to anti-PD1 immunotherapy, providing the rationale for future preclinical/translational, and then clinical, studies aiming at exploiting this synergy in a therapeutic setting.

*“this work deconvolves the molecular mechanism induced by the treatment of pancreatic cancer cells with trametinib, which sensitizes tumor cells to anti-PD1 immunotherapy, providing the rationale for future preclinical/translational, and then clinical, studies aiming at exploiting this synergy in a therapeutic setting”*

----- **TELL ME MORE!** -----

The authors defined the molecular mechanisms initiated by trametinib-mediated MEK1/2 inhibition which, while not reducing cell viability, triggers a rapid gene expression reprogramming: trametinib-mediated inhibition of MEK1/2 removes ELF3 repression which thus results to be upregulated. On one side, activated ELF3 binds and leads to the activation of some genomic sequences, the endogenous retroviruses –ERVs-; on the other side, it induces another transcription factor -IRF1- which in turn contributes to increase ERV expression. Retrotransposons are a subtype of ERVs and are repetitive elements in the genome mainly acting as regulators of gene expression and playing a key role in immune response and tumorigenesis. Due to their key role in the regulation of gene expression, these genomic regions are usually repressed. When

they escape repression, for instance upon trametinib treatment, retrotransposon activation can lead to the increase of double stranded RNA (dsRNA), which is sensed by the cell as a viral infection, leading to the activation of interferon response pathways and the stimulation of the immune system. The authors unveiled the epigenetic mechanisms controlling retrotransposon activation upon trametinib treatment, which involve the modification (increased acetylation) of histone proteins. Notably, trametinib-induced interferon response is not pancreatic cancer-specific. Indeed, trametinib-mediated inhibition of MEK1/2 leads to the activation of the ELF3/IRF1/ERV pathway also in colorectal cancer, suggesting the potential rational use of trametinib therapy and immune checkpoint inhibitors also in this tumor type.

---

**Reference.** Activation of endogenous retroviruses and induction of viral mimicry by MEK1/2 inhibition in pancreatic cancer. Alice Cortesi#, Francesco Gandolfi#, Fabiana Arco, Pierluigi Di Chiaro, Emanuele Valli, Sara Polletti, Roberta Noberini, Francesco Gualdrini, Sergio Attanasio, Francesca Citron, I-Lin Ho, Rutvi Shah, Er-Yen Yen, Mara Cetty Spinella, Simona Ronzoni, Simona Rodighiero, Nico Mitro, Tiziana Bonaldi, Serena Ghisletti, Silvia Monticelli, Andrea Viale, Giuseppe Riccardo Diaferia, Giocchino Natoli. *Sci Adv* 2024. doi: 10.1126/sciadv.adk5386.

\*Figure from Cortesi, Gandolfi et al., an open access [article](#) under the [CC-BY-NC](#) licence.

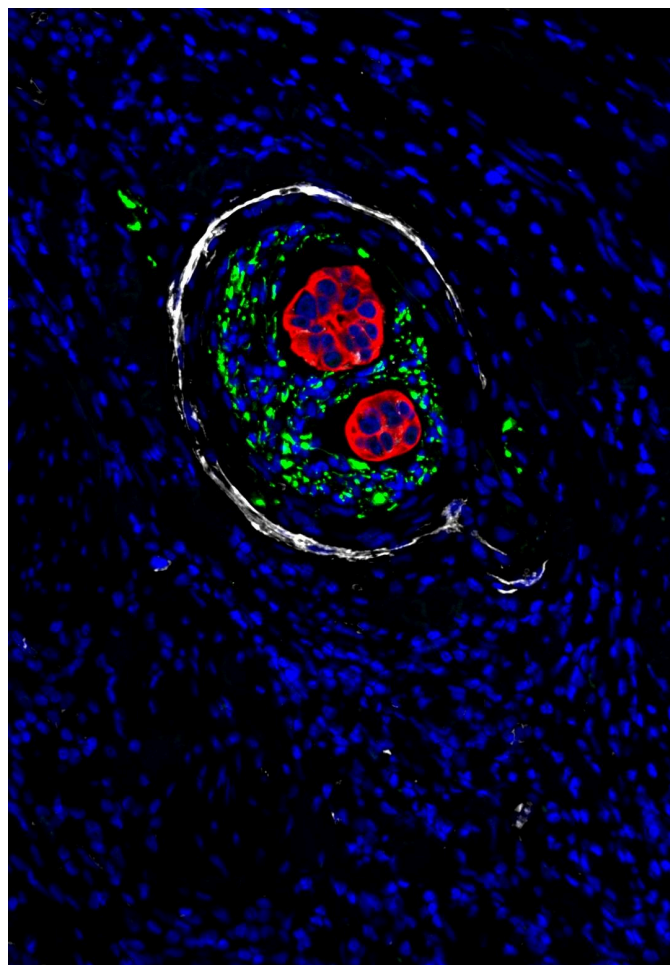
*What's new from IEO Researchers?*

## Dissecting pancreatic cancer morphological and gene expression-related heterogeneity to accurately predict patient prognosis.

Pancreatic cancer (PC) is characterized by high intratumor heterogeneity, both in terms of cell morphology and gene expression, which has an impact on patient prognosis. However, how distinct cell morphologies in PC are informative of different gene expression programs and functional properties of cancer cells is largely unknown. In a recent paper by Di Chiaro, Nacci et al., the authors, headed by Gioacchino Natoli -Group Leader of the department of experimental oncology of IEO- and Giuseppe Diaferia -IEO researcher-, provide a high resolution description of the molecular (transcriptional/functional) heterogeneity of PC in relation to the heterogeneity in PC cell morphology, identifying three main classes of PC cells spatially organized in groups -or "clusters", defined by a given morphology and a given molecular profile, therefore named "morphobiotypes"- coexisting in different proportions within the tumor mass. Their study indicates that the spatial organization of functionally different PC cells (the morphobiotypes) with a distinct differentiation grade, may have an effect on tumor progression/aggressiveness, and thus on patient prognosis. Furthermore, they identified a protein

-sFRP2- as one of the key regulators of such morphobiotypes: By modifying the organization of the tumor microenvironment (in particular the architecture of the extracellular matrix), this protein modulates cancer cell ability to invade surrounding tissue and disseminate, in turn influencing patient prognosis.

Their results contribute to provide a rationale classification of PC heterogeneity, by linking cancer cell different morphology to their gene expression profile, tumor microenvironment properties and patient prognosis, suggesting that artificial intelligence tools leveraging morphological features of PC cells to infer



*Figure by Giuseppe Diaferia*



molecular profiles could be exploited in the future in a clinical context, to better inform on patient prognosis, and guide clinicians in the choice of the best treatment approach.

### ----- TELL ME MORE! -----

Molecular analyses of morphologically heterogeneous laser-microdissected tumor areas allowed to group cancer cells into “classes” according to their gene expression profile. Notably, the classes identified on the basis of the cell gene expression profile corresponded to the morphologically different PC cell types typically associated with patient prognosis. The authors defined these classes “morphobiotypes”, highlighting that they were described both on the basis of their morphology and their gene expression, and hence functional properties. The different morphobiotypes were defined “glandular” (corresponding to the “classical”, “well-differentiated” type), “transitional” (corresponding to cancer cells undergoing epithelial-to-mesenchymal transition),

learning-based model. This model enabled to infer, in bulk tumor gene expression data, the fraction of the different morphobiotypes. Their analysis revealed that one morphobiotype was usually dominant within the tumor mass, while the others were present in different proportions. On the basis of the dominant morphobiotype, the patient could be assigned to a different “risk class”, which correlated with the patient's prognosis: Tumors dominated by the “transitional” morphotype had a significantly worse prognosis than those dominated by a “glandular” morphotype.

In order to achieve a better prognostic value of the model, they considered all the genes defining the different morphobiotypes (that is, they pooled the genes making up the gene signatures

of all the different morphobiotypes). Among these, 23 genes accurately separated high- and low- risk patients with very different survival expectancy.

Notably, the morphobiotypes, identifiable on the basis of their gene signature, differentially expressed protein targets of currently approved drugs.

The different morphobiotypes were also characterized by a different differentiation potential, and thus tumor

aggressiveness (specifically, the glandular morphotype was characterized by the highest differentiation level, while the undifferentiated morphotype was the one with the lowest

#### Why is defining morphological and molecular tumor heterogeneity in a clinical/diagnostic setting so important?

Although the underlying mechanisms are not completely understood, the existence of morphological as well as the associated molecular intratumor heterogeneity -resulting from a combination of cell-intrinsic and external, microenvironment-induced signals- in pancreatic cancer is largely known. A large body of scientific evidence indicates that tumor heterogeneity is a main reason for treatment failure and the poor prognosis of pancreatic cancer patients. Indeed, within the tumor mass, different cancer cells are likely to respond differently to a given treatment, due to their different genomic, epigenomic, proteomic, metabolomic or gene expression-related features: Some cancer cells may be sensitive while others may be resistant to a given treatment or acquire resistance through adaptive mechanisms, hence leading to an incomplete response and limited therapeutic efficacy. Yet, the evaluation of tumor heterogeneity is not systematically included in the common diagnostic path. However, having an accurate picture of tumor heterogeneity is crucial to select the best combinatorial therapeutic approach and maximize the chances of patient response to treatment, understand treatment resistance, improve the current therapeutic approaches and limit disease relapse. On one hand, a number of studies have been investigating -and integrating- the omics traits of cancer cells conferring treatment resistance/sensitivity to specific therapies, or responsible for tumor aggressiveness. On the other hand, while histological/pathological assessment of tumor lesions has been shown to be informative of patient prognosis, histological analyses, in the diagnostic setting, do not typically delve into the tumor heterogeneity but are, in some cases, exploited only to confirm the diagnosis and not to guide the clinical approach, which actually varies according to the disease stage (roughly: Localized/resectable, locally advanced/unresectable, metastatic/unresectable). Integrating histological and molecular analysis of tumor lesions will enable a more accurate disease evaluation and patient stratification, thus allowing for a more effective cancer treatment.

“undifferentiated” (devoid of any evident sign of endodermal differentiation). By exploiting the differentially expressed genes in the different morphobiotypes, they developed a machine

differentiation state. The transitional morphotype showed intermediate properties).

While genetic profiles of different morphobiotypes were largely similar, differences among them appeared to be linked with distinct microenvironments. Proteins of the extracellular

*“how distinct cell morphologies in pancreatic cancer are informative of different gene expression programs and functional properties of cancer cells is largely unknown”*

matrix were indeed differentially secreted by the different morphobiotypes, and thus differentially abundant in the extracellular milieu of the different morphobiotypes, in turn influencing tumor cell behavior: By modifying the spatial organization of the extracellular microenvironment and cancer cell ability to invade the surrounding tissue and migrate -through the induced changes in cancer cell gene expression profile-, the bidirectional interaction between extracellular matrix and morphobiotypes affected tumor invasiveness. For

---

instance, perineural invasion is a main feature of PC cells and represents a main route of cancer cell dissemination. The authors showed that PC cells invading the nerves were characterized by a different gene expression profile as compared to cells outside the nerves; the extracellular microenvironment showed parallel changes, suggesting that a specific morphobiotype is elicited by the contact of PC cells with a specific tumor microenvironment, inducing a particular morphobiotype which triggers cancer cells to secrete the extracellular matrix components that shape the microenvironment. Then, once inside the nerves, highly plastic cancer cells change their gene expression profile again, to be able to adapt to the new microenvironment.

Finally, they found that the sFRP2 gene (coding for a protein that acts as an antagonist of Wnt signaling) acts as a regulator of the PC cell behavior described, as high sFRP2 expression levels increased migratory and invasive capabilities of PC cells, likely also by influencing and modifying extracellular matrix architecture, and correlated with poor patient prognosis.

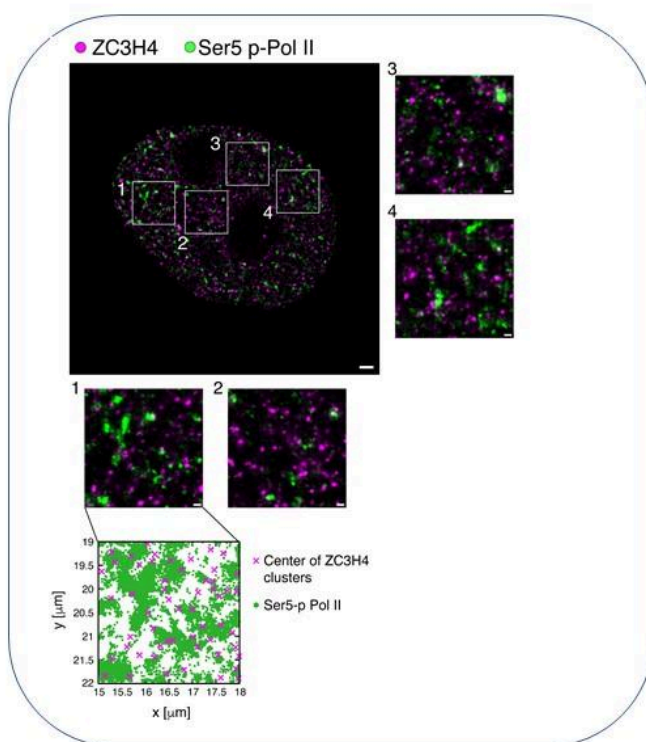
---

**Reference.** Mapping functional to morphological variation reveals the basis of regional extracellular matrix subversion and nerve invasion in pancreatic cancer. *Pierluigi Di Chiaro#, Lucia Nacci#, Fabiana Arco, Stefania Brandini, Sara Polletti, Andrea Palamidessi, Benedetta Donati, Chiara Soriani, Francesco Gualdrini, Gianmaria Frigè, Luca Mazzarella, Alessia Ciarrocchi, Alessandro Zerbi, Paola Spaggiari, Giorgio Scita, Simona Rodighiero, Iros Barozzi, Giuseppe R Diaferia, Giocchino Natoli.* Cancer Cell 2024. doi:10.1016/j.ccell.2024.02.017.

What's new from IEO Researchers?

# Protein cooperation that terminates transcription.

The precise regulation of RNA transcription is key for the correct cell functioning, as alterations may lead to pathological states. Low levels of RNA are transcribed not only from DNA regions coding for genes, but also from extragenic regions involved in the regulation of gene expression, namely, transcription units originating at enhancers and gene promoters. Although the biological role of most of these transcripts, if any, is currently unknown, some studies suggest that the altered RNA transcription from extragenic regions may impact genomic stability and be involved in tumorigenesis.



For this reason, mechanisms controlling transcription -or termination of transcription- at these regions play a crucial role in the proper cell functioning and possibly in tumorigenesis. IEO researchers previously showed that ZC3H4 protein interacts with the WDR82 protein in the “Restrictor” complex, a protein complex regulating -specifically, arresting- transcription of RNAs synthesized from extragenic regulatory regions (enhancers and promoters). However, how exactly WDR82-ZC3H4, the two core components of the Restrictor complex, work in arresting transcription is not known.

In a recent paper by Marta Russo, Viviana Piccolo, Danilo Polizzese et al., the authors, supervised by Gioacchino Natoli -Group Leader at the dept of experimental oncology of IEO-, showed that, at extragenic regions, the Restrictor complex recruits Symplekin (a scaffold protein associated with termination complexes), and PNUTS (an adapter protein,

delivering Protein phosphatase 1 to the nucleus and previously involved in transcription termination). Notably, Symplekin and PNUTS, while not interacting with each other in mammalian cells, are included in the same termination complexes in yeast. Symplekin and PNUTS interaction with Restrictor allows to efficiently arrest transcription of unnecessary nascent RNA from extragenic regions. This work thus adds a further piece towards the comprehensive understanding of the molecular mechanisms regulating cell physiology and disease.

Adapted from Russo, Piccolo, Polizzese et al., *Genes dev* 2023. \*

## TELL ME MORE!

First, the authors observed that the ZC3H4 subunit of the Restrictor complex was in close proximity to Pol II complexes engaged in the initiation and early elongation of RNA molecules,

indicating a main role of Restrictor at this stage. Moreover, a number of proteins interacted with ZC3H4, such as Symplekin and PNUTS, but also proteins of the PFS complex (polyadenylation

specificity factor, responsible for binding nascent RNAs at the poly A site, PAS), the PAF complex (polymerase-associated factor, a general transcription elongation factor), and several splicing regulators. However, they found no interaction of the Restrictor complex with proteins endowed with RNA cleavage activity, such as the core cleavage complex of CPSF (Cleavage and Polyadenylation Specificity Complex).

To investigate the functional consequences of Symplekin interaction with the Restrictor complex, they alternatively silenced Symplekin or ZC3H4, or overexpressed ZC3H4, and assessed the effects on RNA transcription. Overall, ZC3H4 silencing resulted in increased transcription at extragenic regions. Furthermore, in agreement with the lack of interaction of the CPSF complex with ZC3H4, extragenic transcription was affected by ZC3H4 depletion but not affected by CSPF3 depletion. Although Symplekin is able to interact both with ZC3H4 and CSPF3, their data showed that Symplekin worked in collaboration with the Restrictor complex (namely, with ZC3H4) in the arrest of extragenic transcription. Therefore, being bound to Restrictor, Symplekin was not available to interact with the CPSF complex, and Symplekin-Restrictor-mediated arrest of transcription did not involve CPSF-mediated cleavage. This was even more evident in case of ZC3H4 overexpression, when the highly abundant ZC3H4 sequestered Symplekin, in turn preventing

the activity of other termination mechanisms requiring Symplekin, such as those mediated by

*“at extragenic regions, the Restrictor complex recruits Symplekin and PNUTS proteins. Symplekin and PNUTS interaction with Restrictor allows to efficiently arrest transcription of unnecessary nascent RNA from extragenic regions”*

CPSF.

Interestingly, they also found a role of Symplekin in the regulation of the expression of endogenous retroviral elements, though considerably less remarkable as compared to the effects observed following altered ZC3H4 expression.

Finally, while not absolutely needed for Restrictor complex activity, at some regions PNUTS protein worked in collaboration with Symplekin and the Restrictor complex, enforcing transcription arrest. In conclusion, the authors demonstrated that Symplekin and PNUTS proteins interact with ZC3H4 -a core component of the Restrictor complex, responsible for the termination of transcription at extragenic regions-, enforcing Restrictor activity. Although Symplekin also interacts with the CPSF complex, Symplekin involvement in transcription arrest at extragenic regions is independent from CPSF activity.

---

**Reference.** Restrictor synergizes with Symplekin and PNUTS to terminate extragenic transcription. *Marta Russo#, Viviana Piccolo#, Danilo Polizzese#, Elena Prosperini, Carolina Borriero, Sara Polletti, Fabio Bedin, Mattia Marena, Davide Michieletto, Gaurav Madappa Mandana, Simona Rodighiero, Alessandro Cuomo, Gioacchino Natoli.* Genes Dev 2023. doi: 10.1101/gad.351057.123.

\*Figure from Russo, Piccolo, Polizzese et al., an open access [article](#) under the [CC-BY-NC](#) licence.

*What's new from IEO Researchers?*

## DNA methylation as a potential head and neck cancer biomarker with Susanna Chiocca and Mohssen Ansarin – work in progress.



*Susanna Chiocca*

In collaboration with Elisabetta Fratta, researcher at the Aviano Research Center (*Centro di Riferimento Oncologico di Aviano*), Susanna Chiocca –PI at the Department of Experimental Oncology of IEO– and Mohssen Ansarin –Director of the IEO Head and Neck clinical program– aim to assess the prognostic value of methylation levels of highly repetitive DNA regions –LINE1– in Head and Neck Cancer (HNC) (specifically, Oropharyngeal cancer).

LINE1 regions are commonly highly methylated. Previous studies showed that altered methylation levels –specifically, hypomethylation– correlate with tumorigenesis in different cancer types. In oral cancers, LINE1 hypomethylation correlates with shorter time to relapse, suggesting a potential role of LINE1 methylation in the risk of tumor recurrence. In oropharyngeal cancer, LINE1 hypomethylation is a negative prognostic factor. In particular, patients with oropharyngeal cancers positive for human papilloma virus (HPV) infection

with hypomethylated LINE1 regions showed 5-time higher risk of relapse as compared to tumors with hypermethylated LINE1 regions; the risk of recurrence was comparable to that of HPV-negative HNC.

On these premises, the goal of this project is to evaluate whether LINE1 methylation level can be exploited as a marker to identify HPV-positive HNC patients with poor prognosis, and to test whether tp53 mutational status may influence LINE1 methylation status, independently from HPV infection. To this end, patients enrolled in nine cancer centers in northern Italy will be molecularly analyzed to define the methylation status of LINE1 regions, the presence/absence of HPV infection, expression and mutational status of p53. The analyses are ongoing.

In the frame of personalized medicine approaches, identifying biomarkers of disease is of paramount importance. In this regard, epigenetics has been proved to play a key role. This project is likely to provide the rationale for using epigenetic/methylation alterations of LINE1 regions as a tool for patient stratification and selection of the best treatment approach.



*Mohssen Ansarin*

What's new from IEO Researchers?

# When it's tough, take a nap – Under therapeutic pressure, cancer cells adapt and enter dormancy to survive and then fuel tumor recurrence.

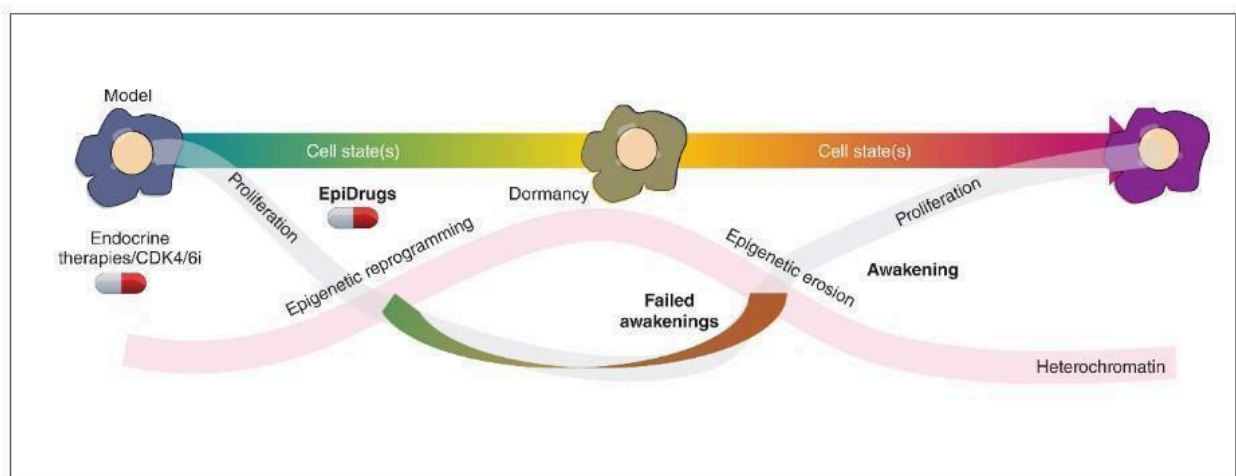


Figure from Rosano, Sofyali, Dhiman et al., Cancer Discovery 2024. \*

In a recent paper, researchers, including Tiziana Bonaldi, Roberta Noberini and Chiara Ghirardi of the Department of Experimental Oncology of IEO, in collaboration with Luca Magnani –Group Leader of the Breast Epigenetic Plasticity and Evolution group (Imperial College London, The Breast Cancer Now Toby Robins Research Center, The Institute of Cancer Research, UK) – showed that, in ER+ breast cancer, therapy induces adaptation of cancer cells, which enter a so-called “dormant state”, during which they arrest proliferation. Researchers show that dormancy is an adaptive, reversible event, random and unpredictable, associated with changes in cancer cell gene expression profile, modulated by epigenetic processes. During treatment-induced dormancy, a single clone undergoes further adaptation to exit dormancy, “wake up” and resume proliferation, thus fueling tumor relapse. In other words, when therapy induces unsustainable stress conditions, some cancer cells find the way to deal with the new, harsh conditions and survive, they basically “switch off”, by entering

***“dormancy is an adaptive, reversible event, random and unpredictable, associated with changes in cancer cell gene expression profile, modulated by epigenetic processes”***

***“dormancy-inducing adaptation, and the epigenetic processes that, through gene expression, modulate it, represent a crucial event in tumor progression, responsible for resistance and recurrence”***

a kind of “hibernation” –dormancy–, a phenotype that is untenable in the long run and eventually results in a waking up event which, importantly, was unpredictable even in *in vitro* systems. This study reveals that dormancy-inducing adaptation, and

### How could these findings be clinically exploited?

These results can be useful in a clinical context in multiple ways. First, epigenetic gene signatures can be used to stratify patients; meaning that patients with low expression of the enzymes responsible for the epigenetic modifications that make dormancy-related gene expression changes stable are likely to benefit from combination therapies with standard treatments and epigenetic therapies targeting these mechanisms of dormancy/adaptation. Moreover, by finely tuning such epigenetic mechanisms, one can envisage, on one side, to favor exit from dormancy to make cancer cells sensitive to standard treatment and enhance therapy efficacy; on the other side, to increase entry –or prolong duration– of dormancy, thus preventing that cells exiting dormancy would proliferate and fuel tumor recurrence, ultimately maintaining the disease in a “chronic” state to be kept under active surveillance.

the epigenetic processes that, through gene expression, modulate it, represent a crucial event in tumor progression, responsible for resistance and recurrence, which nowadays constitute two of the main challenges in cancer research. Therefore, being needed for tumor cell survival and tumor recurrence, the ability of cancer cells to adapt and enter dormancy represents their vulnerability. Furthermore, this study shows the feasibility of therapeutically targeting

this vulnerability: Indeed, being a key mechanism in adaptation/dormancy, epigenetic reprogramming represents a potential drug target in the frame of combination therapies, as interfering with these processes would damage cancer cell ability to survive therapy and fuel recurrence.

### ----- TELL ME MORE! -----

Molecular analyses revealed that neither dormancy nor awakening was related to pre-existing or *de novo* genetic traits in therapy-surviving cancer cells. Conversely, they found that the dormant period represents the stage with lowest transcriptional and epigenetic heterogeneity in this long term process.

Dormancy entry was an acquired trait, conferring to cancer cells “an additional skill”, which corresponded to the acquisition of a specific gene expression profile, characterized by the downregulation of cell cycle and metabolic pathways. The gene expression profile associated with therapy-elicited dormancy entry was different from the exit-from-dormancy gene expression profile as well as from that of cells before treatment (and before dormancy): It represented a unique, non-genetic state (trait), induced by therapy.

Similar to dormancy entry, exit from dormancy, which occurred under continuous therapeutic pressure, was unpredictable. Intriguingly, “awake” clones co-existed in the same cell culture with dormant clones, suggesting that awakening is a rare process which occurs in a very limited set of clones over time. Importantly, given sufficient

time, additional clones can wake up and in each instance the end phenotype is associated with collateral resistance to further therapy, suggesting that eradicating awakened clones might be extremely difficult considering the plasticity and heterogeneity associated with this state.

Dormancy –a prolonged G1 state of the cell cycle– was not easy to revert: Not all cells that tried to exit dormancy succeeded; some partially resumed proliferation, did some cycling, but then failed to complete dormancy exit (a process labeled as “failed awakening”), indicating that other mechanisms, in addition to cell cycle-related gene control, were involved and needed. Indeed, the authors showed that epigenetic reprogramming was needed to make the exit-from-dormancy-related gene expression changes stable; in particular, the histone post-translational modifications. Mass spectrometry-based analysis of histone modifications during cell adaptation/dormancy unveiled the induced epigenetic changes which were reversed upon exit from dormancy (such as the accumulation of heterochromatin marks H3K9me2, H3K27me3, H4K20me3, and reduction

in H3K4me3 and H3K9/14ac during dormancy entry). Pharmacological inhibition of the enzymes responsible for these dormancy-related epigenetic marks, by limiting cancer cell adaptation potential, deeply impaired dormancy entry. The authors believe that targeting adaptation to endocrine therapy, potentially occurring in microdisseminated cells at the earliest exposure of endocrine therapy, might

---

represent an interesting new therapeutic strategy. Interestingly, human tumors characterized by low expression of these enzymes (responsible for these epigenetic modifications) were more sensitive to therapy and less prone to relapse (while untreated human tumors were not, highlighting that this trait correlated with treatment).

---

**Reference.** Long-term Multimodal Recording Reveals Epigenetic Adaptation Routes in Dormant Breast Cancer Cells. *Dalia Rosano#, Emre Sofyali#, Heena Dhiman#, Chiara Ghirardi, Diana Ivanoiu, Timon Heide, Andrea Vingiani, Alessia Bertolotti, Giancarlo Pruneri, Eleonora Canale, Hannah F Dewhurst, Debjani Saha, Neil Slaven, Iros Barozzi, Tong Li, Grigory Zemlyanskiy, Henry Phillips, Chela James, Balázs Györfy, Claire Lynn, George D Cresswell, Farah Rehman, Roberta Noberini, Tiziana Bonaldi, Andrea Sottoriva, Luca Magnani.* *Cancer Discov* 2024. doi: 10.1158/2159-8290.CD-23-1161.

\*Figure from Rosano, Sofyali et al., an open access [article](#) under the [CC-BY](#) licence.



*News, initiatives and events from the IEO world!*

## Congratulations to the eight new IEO PhDs!



On April 11th it was held at the campus the graduation day for this year's PhDs in System medicine. The PhD program is managed by the [SEMM](#) (European School of Molecular Medicine), founded in 2001 with the aim of promoting higher education and research within the emerging sectors in the biomedicine field. PhD students' research and training activities are carried on at eight institutions in Italy (Istituto Europeo di Oncologia (IEO) in Milan; Istituto Fondazione di Oncologia Molecolare (IFOM) in Milan; Center for Genomic Science of the Istituto Italiano di Tecnologia (IIT) in Milan; Human Technopole (HT) in Milan; National Institute of Molecular Genetics (INGM) in Milan; Italian Institute for Genomic Medicine (IIGM) in Turin; TIGEM and CEINGE in Naples). On April 11th, eight IEO young researchers presented their work before a university committee, obtaining their PhD in System Medicine.

We wish all the best for a bright future to the new PhDs!

**Fabiana Arco** (Natoli lab). Thesis title "Integrated molecular investigations of MYRF and SFRP2: unveiling regulatory mechanisms of ER stress and ECM re-modelling in pancreatic cancer".

**Micol Baronio** (Cavallaro lab). Thesis title "Crosstalk between tumour vasculature and ovarian cancer stem cells: the role of L1CAM".

**Richard Heery** (Schaefer lab). Thesis title "Redefining Promoter DNA Methylation Change in Cancer".

Marica R. Ippolito (Santaguida lab). Thesis title "Deciphering and exploiting aneuploidy in cancer".

**Valentino Martis** (Santaguida lab). Thesis title "A molecular understanding of aneuploid cell clearance".

**Danilo Polizzese** (Natoli lab). Thesis title "Termination of extragenic transcription by the Restrictor complex: dissecting RNA binding specificity".

**Eleonora Ponzo** (Pasini lab). Thesis title “Defining the role of the PCGF3-containing Polycomb Repressive Complex 1 in Synovial Sarcoma”.

**Gokce Senger** (Schaefer lab). Thesis title “Causes of Aneuploidy in Tumors and the Consequences on Gene Expression and Protein Complex Stoichiometry”.

*News, initiatives and events from the IEO world!*

## Once again, IEO has been accredited by the Joint Commission International.



We are proud to communicate that IEO is the first hospital in Italy accredited, for the eighth consecutive time, by the Joint Commission International (JCI), the largest and world renowned accrediting body in healthcare, which identifies, measures and shares best practices in quality and patient safety.

This year JCI focused on the evaluation of prevention path and infection control, drug management, diagnostic-therapeutic and welfare paths, management of human resources, safety of treatments and creation of a safe environment for patients, visitors and professionals. The JCI visit confirmed that safety and excellence of the processes in our hospital are in line with the required international standards. This achievement underlines the continuous attention of IEO on patient centrality, one of IEO founding principles. Click [here](#) to know more (italian only)

*News, initiatives and events from the IEO world!*

## Giuseppe Curigliano, new ESMO President for 2027-2028.

We are proud to announce that Prof Giuseppe Curigliano, director of the IEO Division of New Drugs Development for Innovative Therapies and co-director of the IEO New Drugs Program, as well as Professor of Medical Oncology of the Department of Oncology and Hemato-Oncology of the University of Milan, will be the new ESMO (European Society of Medical Oncology) president for 2027-2028.



*Giuseppe Curigliano, ESMO President 2027-2028.*

With over 35.000 members, ESMO is the most important medical oncology society in the world and Curigliano is its fourth president in its almost 50 years.

“ESMO should have a leading role in decoding cancer complexity, to prevent and treat this disease through science and training, translating the results to patients and survivors beyond geographical borders. As ESMO president, my mission will be to overcome the current challenges towards the integration of the different oncological disciplines, thanks to a plan focused on education and inclusivity, with the final aim of advancing cancer treatment”, declared prof Curigliano.

Congratulations!

# IEO MEMBERS - LET'S GET TO KNOW THEM BETTER.

## Chiara Battistini, Post-doc, Cavallaro Group.



My name is Chiara Battistini, I was born and raised in Pistoia and my passions are travel, books and art (even if only as an observer). I studied Biology in Florence, then moved to Turin where I obtained my PhD in Molecular Medicine at the Candiolo Institute. I have always worked in the field of molecular oncology, although during my PhD I followed more basic research projects, and I think this allowed me to delve a lot into the fundamental molecular mechanisms that regulate the behavior of cancer cells, a

knowledge that has been very useful to me at later points in my career. I stayed in Candiolo for an initial post-doc and then moved to Milan in January 2020, starting my work in IEO in Dr. Ugo Cavallaro's group. Here my research has undergone a turn in a translational sense: in my group, in fact, we work in close contact with clinicians at the Ovarian Cancer Center, led by Prof. Nicoletta Colombo, trying to put the most urgent clinical questions at the center of our projects. In addition, this collaboration allows us to have access to fresh tissue samples collected at surgery, which I routinely use in my work to set up innovative, entirely patient-derived organotypic models in which tumor cells are cultured together with their microenvironment. These models are the basis of the project I am now working on, a European Community-funded project in which our group is coordinating an international consortium. In this study we aim to define the mechanisms of response and resistance to PARP inhibitors, with the ultimate goal of personalizing the treatment of patients and improving the response to this class of drugs.

# IEO MEMBERS - LET'S GET TO KNOW THEM BETTER.

**Francesco Gualdrini, Post-doc, Natoli Group.**



I am a Computational Biologist with expertise in both computational and experimental biology. While I am dedicated to understanding complex biological systems, mountaineering and climbing is my passion and daily training, where mental focus and physical endurance complement my commitment to research.

My academic journey began with a Master's in Molecular Biotechnology from the University of Bologna. I then pursued a Ph.D. in Genomics and Bioinformatics at the London Research Institute (CRUK) in the lab of Dr. Richard Treisman, where I developed a strong interest in combining experimental and computational approaches to tackle complex biological problems.

After completing my Ph.D., I was awarded a Marie Curie Individual Fellowship, which brought me to Milan to join Dr. Gioacchino Natoli's lab at IEO. There, I delved into macrophage biology, focusing

on chromatin dynamics, transcription, and the role of the repetitive genome while developing novel computational tools and methodologies to characterize clinical compounds.

I am committed to open-source science, big-data integration, and applying machine learning for life sciences. My future research will focus on developing new methods to characterize clinical compounds through epigenetic changes and understanding the evolutionary significance of genomic repeats.

# IEO MEMBERS - LET'S GET TO KNOW THEM BETTER.

## Elisa Piperni, PhD Student, Segata Group.

I am Elisa Piperni, a SEMM PhD student in the laboratory of Nicola Segata. I was born and raised in Rome, where I studied Bioinformatics at the University "La Sapienza". During my Bachelor's degree I got interested in the analysis and interpretation of biological data using statistical models and computational methods. Moreover, I met amazing colleagues. Along with five of them, I moved to Trento to study Quantitative and Computational Biology. In Trento I got the chance to widen both my biological and computational knowledge, and also to appreciate the wonderful surrounding mountains. For my Master's thesis I worked with a research group of the Francis Crick Institute to study the evolution dynamics of metastatic melanomas. Then, I decided to change my area of research and start a PhD in computational metagenomics. For my PhD project, I'm investigating the relationships between diet, cardiometabolic health, and the human gut microbiome. What fascinates me the most about the human microbiome is that it constitutes a living ecosystem inside us, that we can influence with our diet and lifestyle to promote our health.



# IEO MEMBERS - LET'S GET TO KNOW THEM BETTER.

## Deborah Mesa, Post-doc, Sigismund Group.



I was born in Gussago, a charming village in the heart of the Franciacorta hills in the province of Brescia. My passion for travel—discovering new realities, exploring horizons, and documenting experiences—has always inspired me. Traveling reminds me of how we are part of a vast and deeply interconnected system. For me, science is an endless journey that explores the unknown and confronts uncertainty to embrace the complexity of the world. This affinity led me to the field of scientific research, which began at the University of Milan and was further developed through a PhD focused on the molecular characterization of the Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) signaling pathway at the European Institute of Oncology (IEO) in Milan, under the supervision of Prof. Pier Paolo Di Fiore and Prof. Sara Sigismund. Our focus is on clathrin-independent endocytosis (EGFR-NCE)—a key process for the

internalization and degradation of EGFR, crucial for modulating its signal in response to high ligand concentrations. The integration of different endocytic pathways is essential for determining the final outcome of signaling and, consequently, cellular behavior. Therefore, as a post-doc, I am dedicated to exploring the molecular mechanisms of this pathway to uncover its role in cellular physiology and diseases, with a particular focus on cancer.



## THE BRIEFING

*A glance through recent papers from IEO researchers, and from the whole scientific community.*

**Trastuzumab deruxtecan vs trastuzumab emtansine – a 41-month (median) followup analysis.** In the frame of the DESTINY-Breast-03 clinical trial, whose results at 28-month median follow-up showed greater efficacy of Trastuzumab deruxtecan over trastuzumab emtansine in the treatment of advanced HER2-positive metastatic breast cancer previously treated with taxane and trastuzumab, were confirmed at a longer follow-up, considering progression-free survival, overall survival, objective response, duration of response, and with no new adverse events observed.

*Javier Cortés, Sara A Hurvitz, Seock-Ah Im, Hiroji Iwata, Giuseppe Curigliano, Sung-Bae Kim, Joanne W Y Chiu, Jose L Pedrini, Wei Li, Kan Yonemori, Giampaolo Bianchini, Sherene Loi, Giuliano S Borges, Xian Wang, Thomas Bachelot, Shunsuke Nakatani, Shahid Ashfaq, Zhengkang Liang, Anton Egorov, Erika Hamilton.*

*Nature medicine 2024. [PMID: 38825627](#).*

**Efficacy of novel anticancer treatments in early stage elderly patients.** In the frame of a retrospective study, the authors compared clinical efficacy and toxicity of different immunotherapy-based or targeted therapy-based treatment approaches, in younger (<65yo) and elderly (>65yo) breast, lung and melanoma patient groups. By considering data of 64 phase I/II clinical trials, they highlighted that elderly patients show comparable efficacy and safety to younger patients when treatments are administered in the early disease phase.

*Eleonora Nicolò, Sara Gandini, Federica Giugliano, Jacopo Uliano, Oriana D'Ecclesiis, Stefania Morganti, Emanuela Ferraro, Dario Trapani, Paolo Tarantino, Paola Zagami, Laura Boldrini, Irene Caramella, Ambra Carnevale Schianca, Massimo Cristofanilli, Marzia Adelia Locatelli, Angela Esposito, Carmen Belli, Ida Minchella, Carmen Criscitiello, Antonio Marra, Giuseppe Curigliano.*

*Eur J Cancer 2024. [PMID: 38909537](#).*

**Antibody-drug conjugates – current research priorities.** Despite being increasingly employed in the clinical setting, the administration of antibody-drug conjugates (ADCs, constituted by a specific antibody targeting a cancer antigen on the tumor cell surface, fused to a cytotoxic molecule) is frequently not biomarker-driven. Yet, defining biomarkers to predict response to ADC-based therapy would greatly enhance the therapeutic benefits, enabling to select patients more likely to respond to treatment. In this article, the authors discuss the state of the art of ADC usage in a clinical setting, emphasizing issues related to the urgent need of identifying markers predicting response and toxicity associated with ADC-related treatment.

*Liliana Ascione, Lorenzo Guidi, Ajay Prakash, Dario Trapani, Patricia LoRusso, Emil Lou, Giuseppe Curigliano.*

*Am Soc Clin Oncol Educ Book 2024. [PMID: 38828973](#).*

**Antibody-drug conjugates in the treatment of breast cancer.** Antibody-drug conjugates (ADC) are being increasingly employed in the clinical setting. For breast cancer patients, several ADCs are approved for the



treatment of the metastatic disease; only one is currently approved in early stage disease, but ongoing trials are evaluating other ADCs in this setting. In this review, the authors discuss the latest progress.

*Chrysanthi Koukoutzeli, Dario Trapani, Liliana Ascione, Elias Kotteas, Antonio Marra, Carmen Criscitiello, Giuseppe Curigliano.*

*Clin Med Insights Oncol* 2024. [PMID: 38894701](#).

**HER2-directed antibody-drug conjugate in non-lung solid tumors.** In the frame of a phase 2 basket clinical trial (in which patients are treated with the same therapeutic regardless of their specific tumor type), the authors showed efficacy and safety (specifically, no new safety concerns were reported) of trastuzumab -an approved antibody against HER2, typically used for the treatment of lung cancer- in patients with unresectable or metastatic solid tumors carrying activating HER2 mutations.

*Bob T Li, Funda Meric-Bernstam, Aditya Bardia, Yoichi Naito, Salvatore Siena, Philippe Aftimos, Ian Anderson, Giuseppe Curigliano, Maria de Miguel, Maitri Kalra, Do-Youn Oh, Joon Oh Park, Sophie Postel-Vinay, Sun Young Rha, Taroh Satoh, Iben Spanggaard, Flavia Michelini, Ann Smith, Karime Kalil Machado, Cristina Saura; DESTINY-PanTumor01 study group.*

*Lancet Oncol* 2024. [PMID: 38710187](#).

**Circulating tumor DNA in advanced rectal cancer patients.** In the context of a monocentric, prospective clinical trial, researchers evaluated the informative potential of ctDNA for disease monitoring in rectal cancer patients undergoing chemo-radiotherapy, with the ultimate goal of providing useful information for the adaptation of the treatment approach. Though confirming prospective studies are warranted, the results show that patients with negative ctDNA have lower probability of disease progression.

*Lorenzo Gervaso, Davide Ciardiello, Giuliana Gregato, Lorenzo Guidi, Carmine Valenza, Liliana Ascione, Laura Boldrini, Samuele Frassoni, Chiara Alessandra Cella, Francesca Spada, Luigi Funicelli, Giuseppe De Roberto, Wanda Petz, Simona Borin, Marianna Alessandra Gerardi, Luca Bottiglieri, Darina Tamayo, Emilio Bertani, Uberto Fumagalli Romario, Vincenzo Bagnardi, Giuseppe Curigliano, Francesco Bertolini, Nicola Fazio, Maria Giulia Zampino.*

*Ther Adv Med Oncol* 2024. [PMID: 38882445](#).

**Synergistic rather than competitive - a comprehensive analysis of different circulating biomarkers for tumor diagnosis/prognosis/monitoring.** The authors discuss the potential of a liquid biopsy approach simultaneously considering the different informative circulating components in patients' blood (such as circulating tumor cells (CTCs), cell-free circulating DNA, extracellular vesicles, non-canonical CTCs, cell-free RNAs, and non-malignant cells) for a more accurate cancer diagnosis, prognosis and disease monitoring, calling for studies aimed at addressing current issues related to the integration of such a diverse set of information.

*Eleonora Nicolò, Caterina Gianni, Letizia Pontolillo, Mara Serena Serafini, Laura Sofia Munoz-Arcos, Eleni Andreopoulou, Giuseppe Curigliano, Carolina Reduzzi, Massimo Cristofanilli.*

*Transl Breast Cancer Res* 2024. [PMID: 38751670](#).

**In a review, an overview on neoadjuvant immunotherapy for the treatment of gastrointestinal tumors.**

In a subset of gastrointestinal (GI) cancer patients, namely those characterized by mismatch repair-deficiency/microsatellite instability (dMMR/MSI), immune checkpoint inhibitor (ICI)-based immunotherapy has shown benefits in the neoadjuvant setting, allowing to avoid chemo- or radiotherapy or in some cases even surgery. This review discusses ongoing clinical studies aimed at investigating the potential of ICI-based neoadjuvant therapy also in MSI and mismatch repair-proficient/microsatellite stable GI cancers, evaluating the potential of this approach for the treatment of locally advanced GI tumors.

*Lorenzo Gervaso, Davide Ciardiello, Rivadavio Antunes Oliveira, Michele Borghesani, Lorenzo Guidi, Lavinia Benini, Laura Algeri, Francesca Spada, Maria Giulia Zampino, Chiara Alessandra Cella, Nicola Fazio.*

*J Immunother Cancer* 2024. [PMID: 38782539](#).

**A specific single nucleotide variant is associated with higher risk of metastatic melanoma.** In the frame of a study involving metastatic melanoma patients treated with anti-PD1 therapy, the authors found that a specific SNV (the PD1.5 T allele) is associated with a lower risk of metastases, whereas another variant (the PD1.7 C allele) is associated with higher risk of metastases, suggesting a role of the PD1.5 T variant in promoting antitumor immunity.

*Andrea Boutros#, Roberta Carosio#, Dalila Campanella, Barbara Banelli, Anna Morabito, Maria Pia Pistillo, Elena Croce, Paola Queirolo, Enrica Teresa Tanda, Edoardo Raposio, Vincenzo Fontana, Francesco Spagnolo.*

*Arch Dermatol Res* 2024. [PMID: 38880834](#).

**BRAF and MEK inhibitors in BRAF mutant metastatic melanoma: A 7-year follow-up.** The 7-year follow-up of the COLUMBUS phase III clinical trial, comparing progression-free survival and overall survival in patients treated with encorafenib + binimetinib vs vemurafenib only and encorafenib only, supports long term efficacy and safety of the combined treatment in BRAF V600E/K-mutant metastatic melanoma patients.

*Dirk Schadendorf, Reinhard Dummer, Keith T Flaherty, Caroline Robert, Ana Arance, Jan Willem B de Groot, Claus Garbe, Helen J Gogas, Ralf Gutzmer, Ivana Krajsová, Gabriella Liskay, Carmen Loquai, Mario Mandalà, Naoya Yamazaki, Paola Queirolo, Carolin Guenzel, Anna Polli, Mahgull Thakur, Alessandra di Pietro, Paolo A Ascierto.*

*Eur J Cancer* 2024. [PMID: 38723373](#).

**Breast cancer treatment approach - a review.** The authors discuss the clinico-pathological features, genomic profile, epidemiological data, current and future treatment approaches of the invasive lobular breast cancer subtype.

*Giovanni Corso, Nicola Fusco, Elena Guerini-Rocco, Maria Cristina Leonardi, Carmen Criscitiello, Paola Zagami, Eleonora Nicolò, Giovanni Mazzarol, Carlo La Vecchia, Filippo Pesapane, Cristina Zanzottera, Paolo Tarantino, Salvatore Petitto, Beatrice Bianchi, Giulia Massari, Anthony Boato, Andrea Sibilio, Andrea Polizzi, Giuseppe Curigliano, Alessandra Margherita De Scalzi, Federica Lauria, Bernardo Bonanni, Monica Marabelli, Anna Rotili, Luca Nicosia, Adriana Albini, Mariarosaria Calvello, Rita A Mukhtar, Mark E Robson, Virgilio Sacchini, Gad Rennert, Viviana Galimberti, Paolo Veronesi, Francesca Magnoni.*

*Semin Oncol* 2024. [PMID: 38897820](#).

**Artificial Intelligence in breast cancer risk assessment.** In a recent review, the authors discuss the most recent approaches for patient risk stratification, integrating artificial intelligence tools to flank the current histopathology-, immunohistochemistry-, biomarker- based approaches, to enhance diagnostic accuracy and hence revolutionize treatment decision-making.

*Mariia Ivanova, Carlo Pescia, Dario Trapani, Konstantinos Venetis, Chiara Frascarelli, Eltjona Mane, Giulia Cursano, Elham Sajjadi, Cristian Scatena, Bruna Cerbelli, Giulia d'Amati, Francesca Maria Porta, Elena Guerini-Rocco, Carmen Criscitiello, Giuseppe Curigliano, Nicola Fusco.*

*Cancers (Basel)* 2024. [PMID: 38893102](#).

**Gene testing in the management of breast cancer.** ASCO guidelines encourage the integration of genomic testing in clinical practice. The authors delve into the currently available technical approaches to exploit this knowledge with the ultimate goal of improving patients' diagnosis and treatment.

*Konstantinos Venetis, Carlo Pescia, Giulia Cursano, Chiara Frascarelli, Eltjona Mane, Elisa De Camilli, Elisabetta Munzone, Silvia Dellapasqua, Carmen Criscitiello, Giuseppe Curigliano, Elena Guerini Rocco, Nicola Fusco.*

*Int J Mol Sci* 2024. [PMID: 38891906](#).

**Fenretinide treatment in young women at high risk of breast cancer.** In the context of a clinical trial, by measuring blood concentration of circulating biomarkers in women with BRCA1/2 mutation (healthy or that previously underwent breast cancer surgery), researchers observed positive effects of fenretinide

treatment on patient metabolism, supporting its role in breast cancer prevention for high risk premenopausal women.

*Valentina Aristarco#, Davide Serrano#, Patrick Maisonneuve, Aliana Guerrieri-Gonzaga, Matteo Lazzeroni, Irene Feroce, Debora Macis, Elena Cavadini, Elena Albertazzi, Costantino Jemos, Emanuela Omodeo Salè, Laura Cortesi, Samuele Massarut, Marcella Gulisano, Maria Grazia Daidone, Harriet Johansson#, Bernardo Bonanni#.*

*Cancer Prev Res (Phila) 2024. [PMID: 38530139](#).*

**A review to guide clinicians in the use of immune checkpoint inhibitors for breast cancer treatment.**

Immune checkpoint inhibitors (ICI)-based immunotherapy has led to encouraging results in the treatment of both early and advanced triple-negative breast cancer. However, a number of open questions still remain and are discussed in this review, with the final aim, on one side, of optimizing ICI employment and, on the other side, identifying the areas of future research efforts.

*Luca Licata, Maria Vittoria Dieci, Carmine De Angelis, Caterina Marchiò, Federica Miglietta, Laura Cortesi, Alessandra Fabi, Peter Schmid, Javier Cortes, Lajos Pusztai, Giampaolo Bianchini, Giuseppe Curigliano.*

*Cancer Treat Rev 2024. [PMID: 38776613](#).*

**A review to aid clinicians in the management of male breast cancer.** Male breast cancer is a rare disease for which a better understanding is needed in order to design effective diagnostic and therapeutic paths. In the frame of a multicenter, retrospective, observational study, involving 403 male patients with breast cancer, the authors collected data aimed at providing the scientific/medical community with a retrospective on the management of male breast cancer.

*Germana Lissidini, Luca Nicosia, Manuela Sargenti, Maria Cristina Cucchi, Alessandra Fabi, Giuseppe Falco, Marco Gardani, Greta Grilz, Ilaria Maugeri, Roberto Murgo, Alessandro Neri, Francesca Pellini, Cristiana Sensi, Serena Scomersi, Mario Taffurelli, Vincenzo Bagnardi, Chiara Oriecuia, Eleonora Pagan, Claudia Sangalli, Massimo Dessena, Paolo Veronesi, Viviana Galimberti.*

*Breast Cancer Res Treat 2024. [PMID: 38896332](#).*

**SP2G - a novel platform for in vitro analysis of the heterogeneous glioblastoma cell behavior.** To analyze the behavior -in terms of cell motility, molecular features, response to therapy- of different glioblastoma cells, the authors developed a platform for the rapid quantitative analysis of the diverse cell behaviors which can manifest in different patients, by combining a grid system, tumor spheres, and an analytical pipeline measuring, in time lapse, changing tumor sphere areas (namely, measuring the overall sphere spreading instead of tracking the single cells within the tumor sphere). The platform represents a useful tool for the study of cancer cell migratory behavior and tumor dissemination.

*Michele Crestani, Nikolaos Kakogiannos, Simone Iori, Fabio Iannelli, Tania Dini, Claudio Maderna, Monica Giannotta, Giuliana Pelicci, Paolo Maiuri, Pascale Monzo, Nils C Gauthier.*

*Small Methods 2024. [PMID: 38747088](#).*

**Mechanisms of neuroendocrine prostate cancer progression.** By employing in vitro co-cultures of mouse and human cells, the authors found that, after the interaction with tumor cells, the intracellular isoform of the osteopontin protein promotes TNF $\alpha$  production in mast cells, in turn limiting tumor cell growth. The findings were validated by in silico analyses of publicly available datasets of murine and human transcriptome and by immunofluorescence of human tumor samples.

*Roberta Sulsenti, Giuseppina Beatrice Scialpi, Barbara Frossi, Laura Botti, Renata Ferri, Irene Tripodi, Annamaria Piva, Sabina Sangaletti, Davide Pernici, Valeria Cancila, Francesco Romeo, Claudia Chiodoni, Daniele Lecis, Francesca Bianchi, Irene Fischetti, Claudia Enriquez, Filippo Crivelli, Marco Bregni, Giuseppe Renne, Salvatore Pece, Claudio Tripodo, Carlo E Pucillo, Mario P Colombo, Elena Jachetti.*

*Cancer Immunol Res 2024. [PMID: 38869181](#).*

**In a review, the recent progress in small cell lung cancer therapy approaches.** The authors summarize and discuss in this review the current standard treatment approach of small cell lung cancer patients and the novel –and most promising– therapies currently under development.

*Pamela Trillo Aliaga, Ester Del Signore, Valeria Fuorivia, Gianluca Spitaleri, Riccardo Asnaghi, Ilaria Attili, Carla Corvaja, Ambra Carnevale Schianca, Antonio Passaro, Filippo de Marinis*  
*Genes (Basel) 2024. PMID: [38927637](#).*

**Patient holograms in lung cancer surgery.** Preoperative planning before lung cancer resection is crucial to safely perform the surgical procedure. To this end, surgeons usually employ CT images to have an accurate picture of the critical structures around the tumor mass, such as vessels. The authors have compared the classical techniques with computer-generated augmented-reality imaging approaches, through the use of “holograms” (basically, patient-specific three-dimensional reconstructions), in guiding surgeons. Their results showed that holograms were more efficient than CT images in regions characterized by higher vascular variability.

*Francesco Petrella, Stefania Maria Rita Rizzo, Cristiano Rampinelli, Monica Casiraghi, Vincenzo Bagnardi, Samuele Frassoni, Silvia Pozzi, Omar Pappalardo, Gabriella Pravettoni, Lorenzo Spaggiari.*  
*Eur Radiol Exp 2024. PMID: [38724831](#).*

**Tyrosine kinase inhibitors for the treatment of ALK-positive lung cancer: 5-year followup of the phase III CROWN study.** Results of the CROWN clinical trial (whose 3-year followup positive data have been previously published), at 5-year followup, showed greater benefit of lorlatinib (a third generation tyrosine kinase inhibitor) as compared to crizotinib treatment in previously untreated, advanced, ALK-positive non-small cell lung cancer patients, and the longest progression-free survival ever observed in targeted treatment, in monotherapy, not only in advanced non-small cell lung cancer, but in all metastatic solid tumors. No new safety concerns were reported.

*Benjamin J Solomon, Geoffrey Liu, Enriqueta Felip, Tony S K Mok, Ross A Soo, Julien Mazieres, Alice T Shaw, Filippo de Marinis, Yasushi Goto, Yi-Long Wu, Dong-Wan Kim, Jean-François Martini, Rossella Messina, Jolanda Paolini, Anna Polli, Despina Thomaidou, Francesca Toffalorio, Todd M Bauer.*  
*J Clin Oncol 2024. PMID: [38819031](#).*

**Is there a way to predict clinical outcome after thermal ablation?** Although among all parameters tested none of them successfully predicted the effective outcome of thermal ablation, parameters such as skin to tumor distance (STTD) and perirenal fat thickness (PFT) correlated with incomplete tumor ablation and complications in patients with kidney tumors undergoing thermal ablation.

*Gennaro Musi, Chiara Vaccaro, Stefano Luzzago, Giovanni Mauri, Mattia Luca Piccinelli, Daniele Maiettini, Marco Tozzi, Gianluca Varano, Ettore Di Trapani, Paolo Della Vigna, Giovanni Cordima, Matteo Ferro, Guido Bonomo, Ottavio de Cobelli, Francesco A Mistretta, Franco Orsi.*  
*Clin Genitourin Cancer 2024. PMID: [38820997](#).*

**How to treat renal cell metastases with stereotactic ablative radiotherapy (SABR)?** In Lancet Oncology the European Association of Urology recommendations. The European Association of Urology has developed consensus recommendations for the SABR-based treatment of renal cancer patients with extracranial metastases, covering aspects such as patient selection, treatment doses, and concurrent systemic therapy, thus providing useful guidelines for clinicians and at the same time highlighting currently debated aspects to be addressed in the frame of future research efforts.

*Giulia Marvaso, Barbara Alicja Jereczek-Fossa, Mattia Zaffaroni, Maria Giulia Vincini, Giulia Corrao, Nicolaus Andratschke, Ehsan H Balagamwala, Jens Bedke, Oliver Blanck, Umberto Capitanio, Rohann J M Correa, Gert De Meerleer, Ciro Franzese, Aurora Gaeta, Sara Gandini, Cristina Garibaldi, Peter C Gerszten, Silke Gillissen, William R Grubb, Matthias Guckenberger, Raquibul Hannan, Pavan M Jhaveri, Mirjana Josipovic, Linda G W Kerkmeijer, Eric J Lehrer, Magnus Lindskog, Alexander V Louie, Quynh-Nhu Nguyen, Piet Ost, David A Palma, Giuseppe Procopio, Maddalena Rossi, Michael Staehler, Alison C Tree, Yat Man Tsang, Nicholas Van As, Nicholas G Zaorsky, Thomas Zilli, David Pasquier, Shankar Siva.*

*Lancet Oncology* 2024. [PMID: 38697165](#).

**Intensity-modulated radiotherapy vs 3D conformal radiotherapy.** In the past decades, several different radiotherapy approaches have been developed, all aiming to precisely target the tumoral lesion while completely or mostly sparing surrounding healthy tissues. In a recent paper, researchers compared intensity modulated radiotherapy (IMRT) and 3D conformal radiotherapy for the post-surgery treatment of patients with supraglottic tumors. In both approaches, the radiation is specifically adapted to the cancer lesion to be targeted -whose shape is obtained by exploiting imaging approaches-, but IMRT allows for a more precise control of the dose delivered. They found that IMRT more efficiently reduced the dose delivered to surrounding healthy tissues. Correlations with clinical outcomes are needed.

*Daniela Alterio, Simona Marani, Sabrina Vigorito, Valeria Zurlo, Stefano Filippo Zorzi, Annamaria Ferrari, Stefania Volpe, Francesco Bandi, Maria Giulia Vincini, Sara Gandini, Aurora Gaeta, Cristiana Iuliana Fodor, Alessia Casbarra, Mattia Zaffaroni, Anna Starzynska, Liliana Belgioia, Mohssen Ansarin, Cynthia Aristei, Barbara Alicja Jereczek-Fossa.*

*Acta Otorhinolaryngol Ital* 2024. [PMID: 38712518](#).

**PARP inhibitors and radiotherapy: Results of a clinical trial.** Researchers report the results of a retrospective clinical trial, indicating safety and efficacy of the treatment approach combining stereotactic radiotherapy (namely, precisely delivered to the tumor lesion on the basis of imaging-acquired coordinates) followed by PARP inhibitors as maintenance therapy to control oligoprogression in ovarian cancer patients.

*Stefano Durante, Francesco Cuccia, Michele Rigo, Giovanni Caminiti, Federico Mastroleo, Roberta Lazzari, Giulia Corrao, Giuseppe Caruso, Sabrina Vigorito, Federica Cattani, Giuseppe Ferrera, Vito Chiantera, Filippo Alongi, Nicoletta Colombo, Barbara Alicja Jereczek-Fossa.*

*Int J Gynecol Cancer* 2024. [PMID: 38821546](#).

**An immune gene-related signature to stratify DCIS (Ductal carcinoma in situ) patients according to their risk of recurrence.** In the context of an exploratory study, by performing next-generation sequencing-based gene expression analysis of patient samples, the authors found significant differences in the expression levels of immune-related genes in breast cancer patients who later relapsed with invasive disease as compared to those who did not, suggesting that these genes could be used for patient stratification and management.

*Elena Guerini-Rocco, Federica Bellerba, Alberto Concardi, Sergio Vincenzo Taormina, Giulio Cammarata, Caterina Fumagalli, Aliana Guerrieri-Gonzaga, Debora Macis, Eliza Del Fiol Manna, Emanuela Balladore, Maria Cannone, Paolo Veronesi, Nicola Fusco, Bernardo Bonanni, Giuseppe Viale, Massimo Barberis, Sara Gandini, Matteo Lazzeroni.*

*Eur J Cancer* 2024. [PMID: 38615592](#).

**Sentinel lymph node biopsy in endometrial cancer.** In the frame of a retrospective study carried out in two care centers (IEO and Mayo Clinic), the authors showed that sentinel lymph node (SLN) biopsy and ultrastaging (namely, the serial sectioning and immunohistochemical analysis of SLN), which are commonly employed to detect micrometastases in apparent early stage endometrial cancer, can be avoided in specific patients subgroups (specifically, in low-grade endometrioid endometrial cancer without myometrial invasion, lymph node biopsy and ultra staging can be avoided).

*Luigi Antonio De Vitis, Diletta Fumagalli, Gabriella Schivardi, Ilaria Capasso, Leah Grcevich, Francesco Multinu, Giuseppe Cucinella, Tommaso Occhiali, Ilaria Betella, Benedetto E Guillot, Giulia Pappalètera, Maryam Shahi, Angela J Fought, Michaela McGree, Evelyn Reynolds, Nicoletta Colombo, Vanna Zanagnolo, Giovanni Aletti, Carrie Langstraat, Andrea Mariani, Gretchen Glaser.*

*Int J Gynecol Cancer* 2024. [PMID: 38514100](#).

**Trabectedin does not improve clinical outcome as compared to the current standard approaches in recurrent ovarian cancer patients.** In the frame of a prospective, randomized, phase III clinical trial

involving 21 different care centers and enrolling over 200 ovarian cancer patients carrying BRCA mutations, the authors showed that trabectedin administration did not result in improved patient survival as compared to chemotherapy, while it worsened side effects.

*Domenica Lorusso, Francesco Raspagliesi, Dominique Ronzulli, Giorgio Valabrega, Nicoletta Colombo, Carmela Pisano, Chiara Cassani, Germana Tognon, Stefano Tamperi, Giorgia Mangili, Serafina Mammoliti, Ugo De Giorgi, Filippo Greco, Anna Maria Mosconi, Enrico Breda, Grazia Artioli, Claudia Andretta, Claudia Casanova, Rita Ceccherini, Antonio Frassoldati, Vanda Salutari, Serena Giolitto, Giovanni Scambia.*  
*J Clin Oncol* 2024. [PMID: 38315944](#).

**From image acquisition to data analysis: A novel pipeline to study single molecules' localization and interaction.** By expanding their previously developed pipeline, the researchers developed a new pipeline allowing for single-molecule localization microscopy (SMLM) analysis of fluorescently-tagged single molecules and their interactions in biological samples.

*Simone Pelicci, Laura furia, Pier Giuseppe Pelicci, Mario Faretta.*  
*Int J Mol Sci* 2024. [PMID: 38731890](#).

**Autoimmune gastritis and cancer risk: results of the ARIOSO study.** In the frame of a multicenter retrospective clinical study, the authors observed that autoimmune gastritis (AIG) appears unrelated to H pylori infection and, although AIG patients with B12 deficiency should be kept under surveillance for potential gastric neuroendocrine neoplasms, overall the risk of developing overt gastric adenocarcinoma is low.

*Marco Vincenzo Lenti, Emanuela Miceli, Edith Lahner, Gabriele Natalello, Sara Massironi, Annalisa Schiapatti, Fabiana Zingone, Valentina Sciola, Roberta Elisa Rossi, Renato Cannizzaro, Elena Maria De Giorgi, Virginia Gregorio, Erica Fazzino, Antonella Gentile, Clarissa Petrucci, Emanuele Dilaghi, Giulia Pivetta, Alessandro Vanoli, Ombretta Luinetti, Marco Paulli, Andrea Anderloni, Maurizio Vecchi, Federico Biagi, Alessandro Repici, Edoardo Vincenzo Savarino, Shamim Joudaki, Mariangela Delliponti, Alessandra Pasini, Federica Facciotti, Fabio Farinati, Mario Milco D'Elisos, Chiara Della Bella, Bruno Annibale, Catherine Klersy, Gino Roberto Corazza, Antonio Di Sabatino.*  
*Am J Gastroenterol* 2024. [PMID: 38976374](#).

**Digging into the functional consequences of altered G-protein-coupled receptor (GPCR) signaling networks in cancer.** By exploiting a network of GPCR, interacting ligands and downstream pathways, the authors identified a number of novel targetable cancer-associated mechanisms and showed how, in cancer transcriptomic data, the altered regulation of such interactions can be used for patient stratification and personalized medicine approaches.

*Chakit Arora, Marin Matic, Luisa Bisceglia, Pierluigi Di Chiaro, Natalia De Oliveira Rosa, Francesco Carli, Lauren Clubb, Lorenzo Amir Nemati Fard, Giorgos Kargas, Giuseppe R Diaferia, Ranka Vukotic, Luana Licata, Guanming Wu, Gioacchino Natoli, J Silvio Gutkind, Francesco Raimondi.*  
*Cell Genom* 2024. [PMID: 38723607](#).

**From the analysis of the human microbiome, a novel Cas9-based tool for genome editing.** Through the analysis of metagenomic data of the human microbiome, researchers unveiled CoCas9, a nuclease that can be used, through AAV-based delivery, for in vivo editing of clinically relevant models such as the mouse retina, enriching the toolbox for genome editing.

*Eleonora Pedrazzoli#, Michele Demozzi#, Elisabetta Visentin#, Matteo Ciciani, Ilaria Bonuzzi, Laura Pezzè, Lorenzo Lucchetta, Giulia Maule, Simone Amistadi, Federica Esposito, Mariangela Lupo, Annarita Miccio, Alberto Auricchio, Antonio Casini, Nicola Segata, Anna Cereseto.*  
*Nat Commun* 2024. [PMID: 38658578](#).

**Shaping the newborn gut microbiota: Delivery mode, place of birth, maternal and paternal seeding.** By analyzing mother-to-infant transmission, researchers showed that the delivery mode influences gut microbiota composition of the newborn, while the place of delivery (home/hospital) affects the timing of

emergence of transmitted microbiota. Other factors, such as breastfeeding duration and lifestyles, play a role as well. Moreover, the father represents a stable source of gut microbiota diversity in newborn seeding, independently from the delivery mode, complementing maternal transmission (the latter one being highest in cesarean-born infants).

*Léonard Dubois, Mireia Valles-Colomer, Alise Ponsero, Otto Helve, Sture Andersson, Kaija-Leena Kolho, Francesco Asnicar, Katri Korpela, Anne Salonen, Nicola Segata, Willem M de Vos.*

*Cell Host Microbe* 2024. [PMID: 38870892](#).

*Marta Selma-Royo, Léonard Dubois, Serena Manara, Federica Armanini, Raúl Cabrera-Rubio, Mireia Valles-Colomer, Sonia González, Anna Parra-Llorca, Ramon Escuriet, Lars Bode, Cecilia Martínez-Costa, Nicola Segata, Maria Carmen Collado.*

*Cell Host Microbe* 2024. [PMID: 38870906](#).

**In vitro reconstruction of a minimal human gut microbiota for mechanistic studies.** To better understand how the human gut microbiota works and affects human health, on the basis of previous studies describing gut microbiota composition, the authors recreated in vitro a “core” gut microbiota constituted by *Pseudomonadota*, *Bacteroidota*, and *Bacillota* phyla (specifically, *E. coli*, *B. cellulosilyticus*, *F. plautii*, and *C. symbiosum* strains), using Maitake (a mushroom) extract as a prebiotic. The effects of the prebiotic/probiotic (namely, the bacterial strains) interplay, in terms of microbial growth, metabolites produced and influence on human immune and epithelial cells, indicate that the administration of both prebiotics (eg the mushroom extract) and probiotics (such as the microbial strains of the “core” gut microbiota) could be employed to modulate the human gut health.

*Alessandra De Giani, Federica Perillo, Alberto Baeri, Margherita Finazzi, Federica Facciotti, Patrizia Di Gennaro.*

*PLOS one* 2024. [PMID: 38603764](#).

**A personalized diet vs non-personalized dietary recommendations and cardiometabolic health.** In the frame of a randomized clinical trial, researchers compared the effects on people cardiometabolic health of personalized dietary recommendations to standard nutritional advice as control. The analysis highlighted significant differences in triglyceride concentration and microbiome (namely greater increase in beta-diversity and greater enrichment in favorable cardiometabolic health-related microbial species), as well as improvements in body weight, waist circumference, average blood sugar level, diet quality. No differences in terms of blood pressure, insulin, glucose, C-peptide, apolipoprotein A1 and B, and postprandial triglycerides were observed.

*Kate M Bermingham#, Inbar Linenberg#, Lorenzo Polidori, Francesco Asnicar, Alberto Arrè, Jonathan Wolf, Fatema Badri, Hannah Bernard, Joan Capdevila, William J Bulsiewicz, Christopher D Gardner, Jose M Ordovas, Richard Davies, George Hadjigeorgiou, Wendy L Hall, Linda M Delahanty, Ana M Valdes, Nicola Segata, Tim D Spector, Sarah E Berry.*

*Nature medicine* 2024. [PMID: 38714898](#).

**Revealing mechanisms of social behavior.** Researchers discovered that miR-379-410 microRNA is linked to sociability in mice, as its ablation in excitatory neurons leads to larger dendritic spines, increased excitatory synaptic transmission, and upregulation of an actomyosin gene network, ultimately leading to hypersociability. Pharmacological inhibition of the affected pathways is sufficient to restore normal sociability, unveiling a critical process regulating social behavior.

*Ramanathan Narayanan, Brunno Rocha Levone, Jochen Winterer, Prakruti Nanda, Alexander Müller, Thomas Lobriglio, Roberto Fiore, Pierre-Luc Germain, Marija Mihailovich, Giuseppe Testa, Gerhard Schratt.*

*Cell Rep* 2024. [PMID: 38968074](#).

**Preclinical models for the study of brain development and disease.** In a review, the authors provide an overview and discuss pros and cons of the human and human-in-mouse, cellular and in vivo models currently available to explore the physiological and pathological mechanisms of the human brain.

*Marlene F Pereira, Reinald Shyti, Giuseppe Testa.*

*Stem Cell Reports* 2024. [PMID: 38865969](#).

**Inflammatory bowel disease (IBD) treatment and covid-19 infection - no correlation between the two.**

In the context of a prospective, multicenter study, the authors showed that IBD treatments -targeting the immune system- are not associated with a higher risk of covid-19 infection. However, their results suggest that additional vaccination shots should be encouraged in IBD patients who do not obtain seroconversion after a full covid-19 vaccination cycle.

*Fabio Salvatore Macaluso, Mariabeatrice Principi, Federica Facciotti, Antonella Contaldo, Alessia Todeschini, Simone Saibeni, Cristina Bezzio, Fabiana Castiglione, Olga Maria Nardone, Rocco Spagnuolo, Massimo Claudio Fantini, Gaia Riguccio, Simone Conforti, Flavio Caprioli, Chiara Viganò, Carla Felice, Gionata Fiorino, Carmen Correale, Giorgia Bodini, Monica Milla, Giulia Scardino, Marta Venero, Federico Desideri, Fabrizio Bossa, Maria Guerra, Marco Ventimiglia, Angelo Casà, Giuseppe Rizzo, Ambrogio Orlando; Italian Group for the Study of Inflammatory Bowel Disease (IG-IBD).*

*Inflamm Bowel Dis* 2024. [PMID: 37390400](#).

**Immunometabolism in Friedreich's ataxia's neurodegeneration.** Friedreich's ataxia is a neurodegenerative disease characterized by the loss of coordination and muscle control due to frataxin (FXN) depletion. Researchers unveiled a previously unknown effect of the lack of FXN, such as the stronger response of cerebellar microglia cells lacking FXN to inflammatory signals and metabolism changes (such as a shift towards glycolysis and itaconate production). Notably, mouse models treated with butyrate (a molecule with known anti-inflammatory properties endogenously produced in the human gut through microbial fermentation of dietary fibers) showed improvement of neuromotor efficiency, resulting from the countering of FXN loss-associated effects, highlighting the neuroprotective potential of butyrate supplementation.

*Francesca Sciarretta, Fabio Zaccaria, Andrea Ninni, Veronica Ceci, Riccardo Turchi, Savina Apolloni, Martina Milani, Ilaria Della Valle, Marta Tiberi, Valerio Chiurchiù, Nadia D'Ambrosi, Silvia Pedretti, Nico Mitro, Cinzia Volontè, Susanna Amadio, Katia Aquilano, Daniele Lettieri-Barbato.*

*Life Sci Alliance* 2024. [PMID: 38631900](#).

**Artificial intelligence in prostate cancer detection.** *Lancet oncology* reports the results of a study testing the performance of an AI tool in detecting prostate cancer as compared to radiologists employing MRI data. On one side, the AI system was developed within a consortium, trained and validated on 9207 cases, from 11 centers, and tested on 1000 cases; on the other side, 62 expert radiologists were involved. Through the testing of specificity and sensitivity, the authors showed the greater performance of AI, proposing this system as a useful supportive tool in patient diagnosis.

*Lancet oncology* 2024. [PMID: 38876123](#).

**Computational pathology: A model to analyze the whole pathology slide for cancer diagnosis and prognosis.** The authors report the development of prov-GigaPath, a novel model for the analysis of whole pathology slides that overcomes issues associated with the standard analytical approaches, which consider only a small portion of the tissue slide for the analysis. Prov-GigaPath is pre-trained on a large real world digital pathology dataset (ProvPath: 1.3 billion pathology image tiles from 171,189 whole H&E and immunohistochemistry slides of over 30,000 patients, covering 31 major tissue types). Being pre-trained on such a high number of data, Prov-GigaPath achieves high performance levels, outperforming other methods in gene mutation prediction in independent patient cohorts as well as in cancer subtyping, thus providing a useful tool for cancer diagnosis and prognosis.

*Nature*, 2024. [PMID: 38778098](#).

**Tripath: A machine learning tool to predict patient outcome on the basis of 3D morphological features of patients.** The authors developed a deep-learning platform for the analysis of 3D images, collected by exploiting light-sheet microscopy or CT, of patient-derived tissues. Tripath enables a better assessment of tumor tissue features as compared to the common 2D histology tissue slices, useful for predicting the risk



of recurrence in prostate cancer patients, thus providing a tool to support clinicians' decision making process.

*Cell* 2024. [PMID: 38729110](#).

**scFoundation for single cell gene expression data analysis.** The authors developed a foundation model for the analysis of single cell RNAseq data, with 100 million parameters, pre-trained on over 50 million single-cell data, enabling tasks such as cell clustering, drug response prediction, single cell level perturbation prediction, cell type annotation, gene module inference, with high level performance and no need for further fine-tuning, representing a useful tool in cell biology studies.

*Nature methods*, 2024. [PMID: 38844628](#).

**Obesity and cancer - the role of tumor-associated macrophages.** Obesity is known to promote a chronic inflammatory state. Researchers show that obesity induces the expression of PD1 by tumor-associated macrophages, resulting in reduced macrophage-mediated phagocytosis and limited ability to stimulate T cells, ultimately impairing tumor surveillance. Consistently, PD1 inhibition restores macrophage activity. Therefore, the authors demonstrate an active role of obesity in cancer which, by acting on macrophages (namely, inducing PD1 expression), reduces antitumor immune-surveillance. However, while increasing cancer risk, this mechanism results in the improved response to anti-PD1 immunotherapy in obese patients. Hence, by targeting this mechanism, anti-PD1 immunotherapy results in stronger antitumor immune response in obese patients.

*Nature* 2024. [PMID: 38867043](#).

**3D chromatin organization and aging.** Old bone marrow progenitor cells display a different 3D chromatin organization as compared to young cells. This in turn affects the activation of Ebf1, a key regulator of B cell development. Reducing Ebf1 is sufficient to recapitulate some of the traits of old B cell progenitors. The authors thus demonstrate that 3D chromatin organization –and reorganization during aging– is crucially involved in B cell development.

*Nat Cell Biol* 2024. [PMID: 38866970](#).

**Ageing and cancer - how are they linked?** In a recent review, the authors discuss the relationship between ageing and cancer, suggesting the hypothesis that they may not be causally linked, but they may rather be both induced by common upstream mechanisms. Yet, their interplay should not be overlooked as, by influencing one another, this crosstalk is likely to interfere with treatment outcome.

*Molecular cancer* 2024. [PMID: 38760832](#).

**Stomach microbiota and gastric cancer - a review.** In this review, the authors discuss the potential involvement of gastric microbiota in tumor onset and progression, including aspects such as exploiting the gastric microbiota for diagnostic, prognostic or therapeutic purposes.

*Gut* 2024. [PMID: 38886045](#).

**Through the analysis of the gut microbiota, the microbial metabolic pathways important in breast cancer development.** Under the hypothesis that gut microbiota species enriched in three different cancer types (breast cancer -BC-, colorectal cancer -CRC-, gastric cancer -GC) may be involved in tumorigenesis, by exploiting a machine learning-based tool, the authors integrated gut microbiota metabolic pathways information of BC, CRC and GC patients with their gene expression data and prognosis to develop a method to identify a BC subtype with worse prognosis, characterized by higher numbers of genetic mutations and a complex immune microenvironment, which also correlated with response to neoadjuvant therapy. The model was validated in patient-derived xenografts.

*Mol cancer* 2024. [PMID: 38730464](#).

**Supplementation of live bacteria in renal cancer patients under treatment.** In the frame of a phase 1 clinical trial, metastatic renal cancer patients treated with nivolumab (antiPD1 immunotherapy) and

cabozantinib (VEGFR inhibitor) have been administered a live microorganism of the microbiota (namely, a probiotic; specifically, a strain of *Clostridium butyricum*): CBM588. Through metagenomic analyses of stool samples, they showed that while CBM588 administration did not alter the gut microbiota, positive effects were observed in terms of patients' response to treatment, with progression-free survival being higher (84%) in CBM588-supplemented patients as compared to the control (60%), non-supplemented patients, with no additional toxicity observed.

*Nature medicine* 2024. [PMID: 38942995](#).

**Liquid biopsy for colorectal cancer patient stratification.** By analyzing serum of 189 metastatic colorectal cancer patients before and after chemotherapy, the authors found a set of miRNAs associated with patient survival, both in a discovery and in a validation cohort of chemotherapy-treated patients. Among these, miR-320 family represented the strongest independent prognostic marker, highly present in patients with poor prognosis. Moreover, the analysis revealed significant differences in terms of miRNA levels before and after chemotherapy in responders and non-responders, which can be exploited to stratify patients and design personalized treatment approaches.

*Mol cancer* 2024. [PMID: 38937787](#).

**Circulating extracellular vesicles as tumor mirrors.** Through the genomic and transcriptomic profiling of circulating extracellular vesicles-DNA and RNA (through a novel approach, RExCuE) isolated from in vitro and in vivo metastatic prostate cancer models, researchers showed that vesicles-contained DNA and (to some extent) RNA recapitulates tumor features and reflects therapy-induced tumor changes, highlighting its potential for the genomic and transcriptomic profiling of prostate cancer patients.

*Cancer cell* 2024. [PMID: 38981440](#).

**A novel mediator of pancreatic cancer metastases.** Through a shRNA-based screen, the authors identified, in pancreatic cancer, a gene –Gsst1, a member of the glutathione S-transferase superfamily– as being crucially involved in metastatic dissemination but not needed in cancer growth. Gsst1 is highly expressed in cell subpopulations of pancreatic tumors endowed with high metastatic potential, and EMT features. Gsst1 inhibition leads to regression of metastases, highlighting its crucial role in pancreatic tumor development.

*Nat Cell Biol* 2024. [PMID: 38862786](#).

**The key role of STAT5 in pancreatic cancer onset.** The authors showed that the transcription factor STAT5 is critically involved in the induction of acinar-to-ductal metaplasia and pancreatic cancer development, being a crucial downstream effector of KRAS signaling, thus representing an interesting cancer vulnerability and a putative novel drug target.

*Gut* 2024. [PMID: 38955401](#).

**An axon guidance molecule in pancreatic cancer progression.** The authors show that Sema3a, a known key molecular player in neuron development, promotes pancreatic cancer progression both through cell-intrinsic and cell-extrinsic mechanisms, sustaining migration, conferring metastatic potential and favoring intratumor infiltration of macrophages.

*Gut* 2024. [PMID: 38670629](#).

**To evade the immune system, tumor cells 'act like the brain'.** Through multi-omic analyses, the authors showed that resistant breast cancers overexpress NAT8L protein, typically expressed in the central nervous system (CNS). NAT8L metabolite –NAA, commonly used by the CNS to fight inflammation– is exploited by tumors to impair antitumor immunity by inhibiting NK and T cells. The authors describe in detail the underlying mechanism and propose NAT8L as a potential target to increase efficacy of anti-cancer therapies.

*Cancer cell* 2024. [PMID: 38821061](#).

**Risk of cardiovascular events in childhood cancer survivors.** In the frame of an ongoing clinical study, by analyzing a patient cohort of survivors of childhood cancers, the authors found that the accumulation of non-major and subclinical cardiovascular events in these patients over their lifetime results in an increased risk of major cardiovascular events and should thus be monitored.

*Lancet Oncology*, 2024. [PMID: 38821086](#).

**Precision medicine in childhood cancer patients.** In the frame of the ZERO Childhood Cancer Precision Medicine Program PReCIStion Medicine for Children with Cancer (PRISM) trial, researchers exploited genomic, transcriptomic and DNA methylation data to comprehensively characterize the extent of response, in terms of overall survival, to precision medicine approaches in high risk childhood cancer patients, with extended follow up. Their results showed that precision medicine approaches led to better response than non-precision medicine-guided therapy, and accurately defined the clinical benefits in specific patient subgroups.

*Nature medicine*, 2024. [PMID: 38844796](#).

**Genetic and non genetic, cell-intrinsic and microenvironmental determinants of metastatic dissemination.** Two reviews offer an overview of all the available scientific evidence regarding the concerted genetic and non-genetic mechanisms contributing to metastasization, as well as the cell-intrinsic and microenvironmental interactions that foster cancer cell dissemination, with main emphasis on the colonization phase of target organs, whose study is fundamental to identify novel and successful therapies for patients already showing metastases at diagnosis.

*Nature and Nature Cell Biology* 2024. [PMID: 38750233](#) and [38714854](#).

**How does the immune system of metastatic niches change during tumor colonization?** Through single cell gene expression profiling of murine breast cancer models, immune niche characterization of primary tumor, pre-metastatic niche in the lung and full metastatic outgrowth, the authors unveiled immune microenvironment differences associated with metastatic progression and key processes to be potentially exploited as part of an anti-metastases immunotherapy approach.

*Cancer cell* 2024. [PMID: 38821060](#).

**Macrophages, inflammation and cancer - a review.** Inflammation is known to be a crucial event contributing to tumor initiation and progression. In this picture, macrophages play a key role. In a recent review, the authors discuss macrophage involvement during the “evolution” from the healthy tissue, through the neoplastic transformation, to tumorigenesis-associated inflammation, highlighting potential ways to specifically interfere with such disease-promoting processes.

*Cancer cell* 2024. [PMID: 38670090](#).

**The metastatic niche as a source of prognostically relevant information.** The combined metabolomic, tissue and single-cell transcriptomics, and multiplex imaging analysis of liver biopsies isolated during surgical resection of pancreatic primary tumor revealed different features in livers of pancreatic cancer patients who later developed hepatic metastases, from those who manifested extra-hepatic metastases, and those who did not show any sign of disease at (median) 3-year follow up. By considering all these tissue biopsy features, a machine learning model predicted, at the time of surgery, with 78% accuracy, the manifestation of metastases, proposing a novel tool for patient stratification.

*Nature medicine* 2024. [PMID: 38942992](#).

**The role of bacteria in cancer progression.** The authors discuss the involvement of bacteria in tumor progression and therapy response, through their impact on the tumor microenvironment and on the immune system.

*Cancer cell* 2024. [PMID: 38876104](#).

**Spatial transcriptomics in cancer research - a review.** The authors discuss the state of the art of spatial transcriptomics technology and application in cancer research, highlighting current limitations and future perspectives.

*Mol cancer* 2024. [PMID: 38902727](#).

**Findings of the Long-read RNA-Seq Genome Annotation Assessment Project Consortium.** Through the formation of this consortium, the authors used different protocols and sequencing platforms to generate over 427 million long-read sequences in three different species, revealing the importance of sequence length for accuracy as well as read depth for quantification accuracy, and increased number of replicas to detect rare and novel transcripts.

*Nature methods*, 2024. [PMID: 38849569](#).

**Over-activating oncogenes as cancer therapy?** In a recent review, the authors discuss a potential novel anticancer strategy relying on the over-activation –rather than inhibition– of oncogene activity in order to overload the cell stress machinery, to ultimately induce cancer cell death.

*Cancer cell* 2024. [PMID: 38788721](#).

**Towards precision oncology: identification novel gene targets.** Through the analysis of whole genome sequencing data of over 10.000 cancer patients, across 11 different tumor types, researchers identified 74 new putative driver genes, offering potentially novel actionable drug targets.

*Nature genetics* 2024. [PMID: 38890488](#).

**RNA-based anticancer vaccines - a review.** The authors discuss the state of the art of RNA-based cancer vaccines, including challenges associated with the discovery of new antigens and routes of vaccine delivery.

*Cancer cell*, 2024. [PMID: 38848720](#).

**Monoclonal antibodies to prevent acute graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.** In the frame of a phase 3 clinical trial, the authors showed greater efficacy, as compared to placebo (in terms of survival in absence of acute GVHD), of the treatment with vedolizumab -a gut-selective anti- $\alpha 4\beta 7$  integrin monoclonal antibody reducing gut inflammation- in combination with standard calcineurin inhibitor administration.

*Nature medicine*, 2024. [PMID: 38844797](#).

**Ductal carcinoma in situ – avoiding both over- and under- treatment.** In a recent review in *Lancet*, the authors discuss the best approaches to ductal carcinoma in situ treatment. A more comprehensive understanding of its biology is needed in order to implement the right tools to distinguish aggressive from non-invasive cases, to design the most adequate, personalized treatment approaches, and avoid under- and over- treatment.

*Lancet* 2024. [PMID: 38735296](#).

**Timing matters.** In a recent review, the authors discuss the greater efficacy of immune checkpoint inhibitor-based therapy administered by taking into account time-dependent events associated with immune system activity, including changes occurring both inside the tumor mass and systemically during immunotherapy itself as well as during other therapeutic approaches such as surgery, radiotherapy or chemotherapy. Considering these aspects may result in an optimized therapy outcome.

*Nat rev cancer* 2024. [PMID: 38886574](#).

**The circadian clock of the immune system.** Through single cell RNA seq analysis, the authors analyzed, in a preclinical in vivo model of colorectal cancer, the circadian variations of the immune system, which control the abundance of immunosuppressive cells, the activity of cytotoxic cells, the release of cytokines,

and, overall, inflammation, highlighting the higher efficacy of anti-PD1 immunotherapy administered following immune circadian changes.

*Nat Immunol* 2024. [PMID: 38806707](#).

**Combined metronomic chemotherapy and immunotherapy: Results of a phase 2 clinical trial.** In the frame of a phase 2 clinical trial, researchers compared efficacy of metronomic chemotherapy combined with immunotherapy vs conventional chemotherapy combined with immunotherapy. The results indicate that metronomic chemotherapy combined with anti-PD1 immunotherapy reprograms the immune system, shows the highest disease control and is well-tolerated, representing a valid treatment option for breast cancer patients.

*Nat med* 2024. [PMID: 38969879](#).

**Combining JAK inhibition and anti-PD1 immunotherapy: clinical trial results.** Persistent inflammatory stimuli can ultimately reduce immune system activity. In the context of a phase 2 clinical trial in metastatic lung cancer patients, the authors show that administering JAK inhibitors contributes to modulate the immune system response (namely, modulating inflammatory response even in the presence of prolonged inflammatory signals), ultimately enhancing the response to anti-PD1 immunotherapy, thus proposing a novel, feasible and effective clinical approach worthy of further investigation.

Similarly, in the frame of a phase 1 clinical trial in Hodgkin lymphoma patients, JAK inhibition along with anti-PD1 immunotherapy results in good overall response (53% of the patients): JAK inhibitor rescues exhausted T cells and enhances immunotherapy efficacy.

*Science* 2024, [PMID: 38900877](#) and *Science* 2024, [PMID: 38900864](#).

**Sex and gender in research and clinical practice - a comment in Nature highlights its importance.** An increasing number of studies have highlighted the influence of sex and gender on research and clinical results. Yet, sex and gender are not always adequately considered in the experimental design. A comment recently published in Nature discusses how fundamental it is to consider the sex and gender dimension for robust, reproducible, reliable results.

*Nature* 2024. [PMID: 38750229](#).



## DIAMO IL BENVENUTO A WE WELCOME

**Ahangari Ladan**, Undergraduate Student, TT Office; **Ates Idil**, Undergraduate Student, Cavallaro Group; **Badkas Apurva**, Post doc, Schaefer Group; **Bonometti Beatrice**, Visiting Scientist, Mazzarella Group; **Bosso Chiara**, Technician, Bioinformatics Unit; **Cusa Anna**, Fellow, Pasini Group; **Dinatolo Maria Elena**, Undergraduate Student, Mitro group; **Fazaeli Farnaz**, Technician, Segata Group; **Fulco Maria Carmela**, Undergraduate Student, Smartfood; **Haghparsat Amin**, PhD Student, Segata Group; **Lupi Mariadomenica**, PhD student, Di Fiore Group; **Martello Verdiana**, Post-doc, BioComputational Unit; **Meanti Lisa**, Fellow, Pelicci G Group; **Poletti Alessandro**, Technician, BioComputational Unit; **Rastro Daniele**, Undergraduate Student, Mitro Group; **Rizzo Alice**, Undergraduate Student, Di Fiore Group; **Romelli Marco**, Bioinformatic Fellow, Gandini Group; **Scagliusi Carolina**, PhD student, Chiocca group; **Siteni Silvia**, Post doc, Bonaldi group.

**Cover image (by Luca Mazzarella and Eleonora Messuti):**

Reconstruction of microtubule plus-end tip trajectories after monitoring by live cell imaging of microtubule elongation in cells expressing EB3-GFP reporter.

**Luca Mazzarella and Eleonora Messuti:**

**Luca Mazzarella** is a clinician scientist with a medical degree from the Catholic University in Rome and a PhD in Clinical Sciences-Epigenetics from the Imperial College London. He works both as a physician at the Division of Gastrointestinal Medical Oncology and Neuroendocrine Tumors of the European Institute of Oncology (IEO) and as Group Leader at the Department of Experimental Oncology of IEO. At IEO, his research focuses on different aspects of cancer biology, including metabolism and cancer, chromatin modifiers as therapeutic targets, cancer genomics, with a multidisciplinary approach encompassing high-throughput sequencing, clinical trials, social sciences, and computational analyses.

**Eleonora Messuti** is a PhD student in Mazzarella's Group and she is working on a project aimed at characterizing a previously underexplored function of the well-known tumor suppressor NF1 on microtubular dynamics.

**Curated by:**

Stefania Averaimo (Department of Experimental Oncology of the European Institute of Oncology, IEO).

**Graphic by:**

Greta Mostarda (IEO communication office).

**Content writing and revision:**

Stefania Averaimo, Chiara Battistini, Tiziana Bonaldi, Ugo Cavallaro, Susanna Chiocca, Stefano Confalonieri, Mariagrazia Malabarba, Saverio Minucci, Gioacchino Natoli, Roberta Noberini, Elisa Piperni, Martin Schaefer, Nicola Segata, Sara Sigismund, Sabrina Tamburini, Alessandro Vai (Department of Experimental Oncology of the European Institute of Oncology, IEO), Mohssen Ansarin (European Institute of Oncology), Emanuela Ottolina (IEO communication office), Francesca Fiore (SEMM), Francesco Asnicar (University of Trento), Luca Magnani (Imperial College London, The Breast Cancer Now Toby Robins Research Center, The Institute of Cancer Research).

**Consulting Board:**

Bruno Amati, Tiziana Bonaldi, Pier Paolo Di Fiore, Gioacchino Natoli, Rosella Visintin (Department of Experimental Oncology of the European Institute of Oncology, IEO).