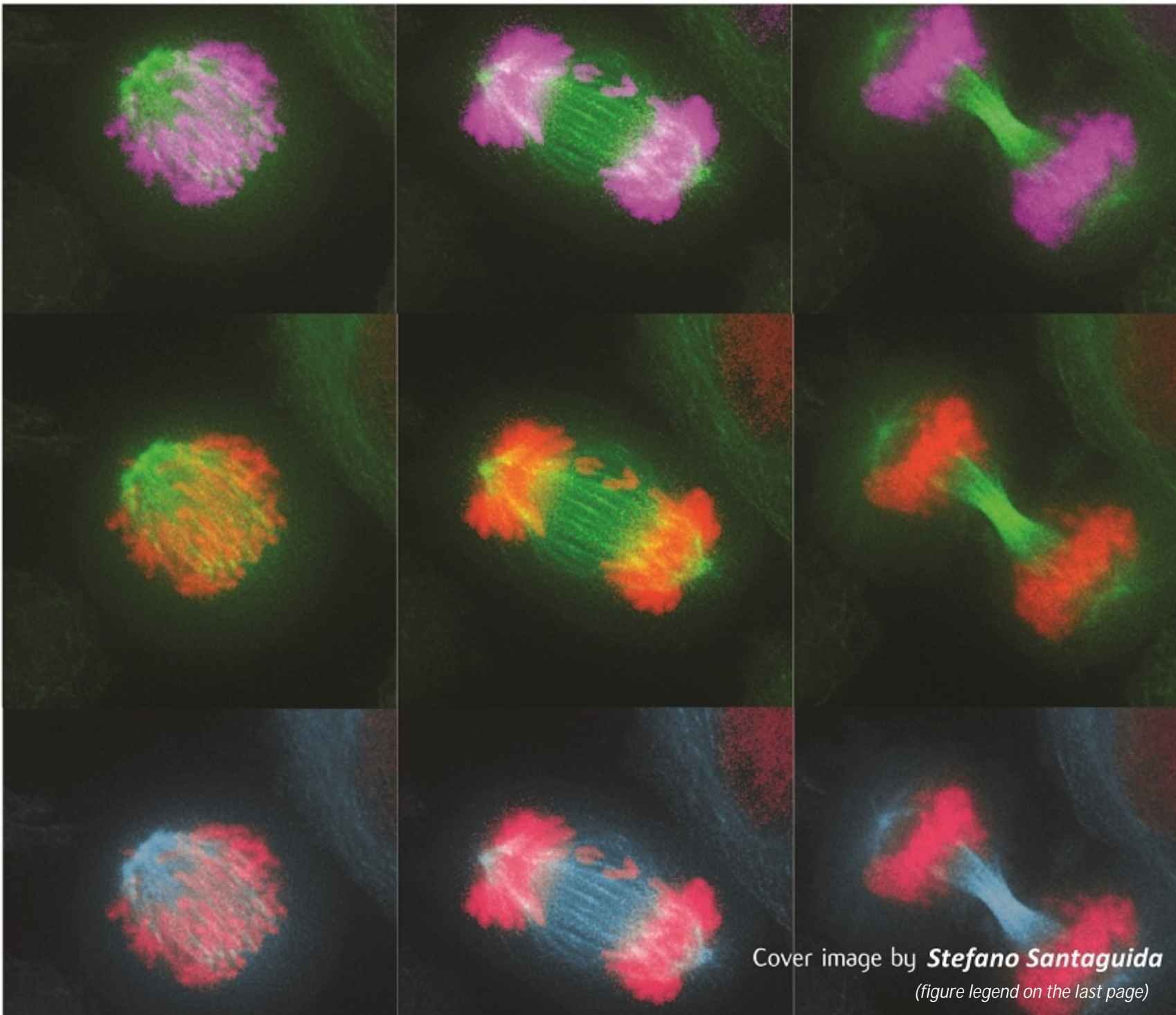


# IEO RESEARCH NEWSLETTER


*n. 3 - May 2024*




# IEO RESEARCH NEWSLETTER

*n.3 - May 2024*


## WHAT'S NEW IN SCIENCE?

 La genomica dei tumori in un contesto clinico.


*pag 6*

 Cancer genomics in a clinical context.

*page 60*


 Dall'analisi proteomica, uno strumento prognostico nel tumore pancreatico.

*pag 9*


 From a proteomic analysis, a prognostic marker in pancreatic tumor.

*page 63*

## WHAT'S NEW FROM IEO RESEARCHERS?

 Studi preclinici mostrano che la restrizione calorica e gli inibitori di LSD1 uccidono le cellule leucemiche.


*pag 11*

 Preclinical studies show that caloric restriction and LSD1 inhibitors eradicate leukemia.


*page 65*

 L'immunoterapia anti-PD1 nel trattamento del tumore metastatico della cervice.


*pag 15*

 Anti-PD1 immunotherapy for the treatment of metastatic cancer of the cervix.


*page 68*

 **Analisi proteomiche identificano nuovi biomarcatori epigenetici del melanoma uveale.**

*pag 17*

 **Proteomic analyses identify potential novel epigenetic biomarkers of uveal melanoma.**


*page 70*

 **Meccanismi molecolari che regolano l'omeostasi intestinale.**


*pag 20*

 **Molecular mechanisms regulating intestinal homeostasis.**


*page 73*

 **Collaborare perché tutto funzioni: un complesso proteico permette l'interazione tra il metabolismo cellulare e la regolazione dell'espressione genica.**


*pag 22*

 **A collaboration to work efficiently: A protein complex enables the interplay between cell metabolism and regulation of gene expression.**


*page 75*

 ***Faecalibacterium prausnitzii* - un batterio dell'intestino influenza l'insorgenza della recidiva nei pazienti con melanoma avanzato.**


*pag 25*

 ***Faecalibacterium prausnitzii* - a gut bacterium influencing tumor recurrence in advanced melanoma patients.**


*page 78*

 **Il microbiota intestinale - marcatore e target per potenziare gli effetti dell'immunoterapia nei pazienti con melanoma in stadio avanzato.**


*pag 28*

 **The gut microbiota - marker and target to enhance immunotherapy efficacy in advanced melanoma patients.**


*page 80*

 **Microstyle: uno studio clinico IEO-DEO per valutare se cambiamenti dello stile di vita influenzano la composizione del microbioma intestinale, l'efficacia e la tossicità della radioterapia.**


*pag 31*

 **Microstyle: A IEO-DEO clinical study to explore whether lifestyle changes affect gut microbiome composition, radiotherapy toxicity and efficacy.**


*page 83*

 La stretta interazione tra ricerca fondamentale e clinica per la caratterizzazione dei tumori testa-collo.


*pag 33*

 A tight interaction between fundamental and clinical research for the characterization of head and neck cancer.


*page 85*

 Identificare nuovi biomarcatori per un trattamento personalizzato del tumore ovarico: il progetto OVA-PDM.


*pag 35*

 Finding novel biomarkers for a personalized treatment of ovarian cancer: the OVA-PDM project.


*page 87*

 "Avatar" di pazienti per predire la risposta alla terapia – lo studio clinico/traslazionale IOLANTHE.


*pag 37*

 "Patient avatars" to predict response to treatment - the clinical/translational IOLANTHE study.


*page 89*

 Le cellule immunitarie intratumorali come biomarcatori prognostici: un passo avanti verso l'immuno-oncologia di precisione.


*pag 39*

 Intratumoral immune cells as prognostic biomarkers: A further step towards precision immune-oncology.


*page 91*

 Dallo studio dei meccanismi molecolari, un potenziale marcatore precoce e target terapeutico nel tumore del fegato: ARID1.


*pag 42*

 By investigating the molecular mechanisms, a potential early marker and therapeutic target in liver cancer: ARID1.

*page 93*

 **GASOLINE: un nuovo strumento computazionale per l'identificazione di varianti strutturali da dati di sequenziamento del genoma.**


*pag 45*

 **GASOLINE: A novel computational tool for the identification of structural variants in genome sequencing data.**

*page 96*

 **L'intelligenza artificiale per predire l'aggressività della malattia nei pazienti con tumore della prostata.**

*pag 47*

 **Artificial intelligence to predict disease aggressiveness in prostate cancer patients.**

*page 98*

 **Vaccini e nuove terapie contro il melanoma.**

*pag 49*

 **Vaccines and new therapies against melanoma.**


*page 100*

 **STUDIO ACCLAIM, IEO primo centro arruolatore in Italia.**

*pag 50*

 **ACCLAIM study, IEO is the first enrolling center in Italy.**


*page 101*

 **Riposizionare un farmaco antitumorale contro la covid-19.**


*pag 51*

 **Repurposing anti-cancer LSD1 inhibitors against covid-19.**

*page 102*

 **Tumori del retto: evitare la chirurgia è possibile.**

*pag 54*

 **Colorectal cancer: Avoiding surgery is possible.**

*page 105*



**Tumore mammario: l'approccio "risk adapted" può migliorare le cure mediche.**

*pag 56*



**Breast cancer: The risk adapted approach can improve patient treatment.**

*page 106*

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

In this volume Marica Ippolito (Post doc, Santaguida Group), Alessandra Rossi (Post doc, Derenzini Group), Francesco Tucci (PhD student, Pece Group), Francesco Pileri (PhD student, Natoli Group), Simone Tamburri (Researcher, Pasini Group).

*pag 57 - page 107*

## **THE BRIEFING**

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

*page 110*

## **WE WELCOME**

*page 119*

What's new in science?

# La genomica dei tumori in un contesto clinico.

Negli ultimi decenni la genomica ha subito una vera e propria rivoluzione in termini tecnologici. Le tecnologie che fino a pochi anni fa erano impiegate solo a scopi di ricerca si stanno diffondendo anche in ambito clinico, inserendosi nel percorso diagnostico, per essere sfruttate per la gestione dei pazienti e la selezione degli approcci di trattamento più adeguati.

La caratterizzazione genomica del tumore permette l'identificazione delle alterazioni molecolari che inducono il cancro, consentendo così di interferire farmacologicamente, e in maniera precisa, con il processo alterato. Questo approccio "molecolare" al trattamento dei pazienti oncologici è chiamato medicina di precisione, sta rivoluzionando la cura del cancro e i risultati ottenuti finora indicano che giocherà un ruolo sempre maggiore nella medicina del futuro.

In una review pubblicata recentemente sulla rivista *CA: A cancer journal for clinicians*, gli autori, tra cui Luca Mazzarella -Group Leader al dipartimento di oncologia sperimentale di IEO-, offrono una panoramica completa sui progressi nell'ambito della caratterizzazione molecolare del tumore, enfatizzando il ruolo chiave del *next generation sequencing* (NGS), e forniscono delle linee guida per aiutare i clinici nell'implementazione di queste tecnologie in ambito diagnostico,

affrontando concetti come "come integrare l'informazione genomica nella routine clinica?" "Quando raccomandare l'uso di NGS nella caratterizzazione molecolare del tumore a scopo terapeutico?" "Qual è la tecnologia più adatta, tra le numerose disponibili ad oggi, da utilizzare?" "Come interpretare i risultati?" "Quali sono i biomarcatori genomici più rilevanti dal punto di vista clinico?".

Discutendo in dettaglio tutti questi aspetti, questa review si pone l'obiettivo di supportare i clinici nell'affrontare il campo in continua evoluzione del trattamento dei tumori guidato dalla genomica, dipingendo allo stesso tempo un quadro esaustivo del contesto medico-scientifico in cui si inseriscono.

**I successi della terapia molecolare.** La storia della terapia molecolare inizia negli anni settanta del

## Principi fondamentali della genomica del cancro.

Gli autori offrono una panoramica completa delle alterazioni genetiche (a livello del singolo gene) e genomiche (che riguardano cioè l'intero genoma) associate alla trasformazione maligna (**mutazioni somatiche**) o che aumentano il rischio di cancro (**mutazioni germinali**); approfondiscono le differenze tra **mutazioni driver** (che inducono il cancro) e **passenger** (non sufficienti di per sé ad indurre la trasformazione maligna); **oncogeni** (che, quando mutati, acquisiscono la capacità di sostenere la proliferazione cellulare incontrollata, determinando di conseguenza la proliferazione delle cellule tumorali) e **oncosoppressori** (che, quando mutati, perdono la loro azione antitumorale, determinando di conseguenza la proliferazione delle cellule tumorali); **alterazioni piccole** (a livello dei singoli nucleotidi, o inserzioni o delezioni di pochi nucleotidi) rispetto a **varianti strutturali** (ampi riarrangiamenti cromosomici, come ampie inserzioni e delezioni, traslocazioni, alterazioni del numero di copie). Spiegano inoltre concetti come la **clonalità** delle mutazioni (distinguendo tra mutazione clonale -generalmente driver- rispetto a mutazione subclonale -generalmente associata alla resistenza) e l'**eterogeneità genetica**, ovvero la coesistenza, all'interno della massa tumorale, di diversi subcloni cellulari caratterizzati da un diverso set di mutazioni.

secolo scorso, con l'approvazione del **tamoxifen** per il trattamento del tumore al seno positivo per il recettore degli estrogeni; il Tamoxifen si lega a questo recettore, impedendo così il legame degli estrogeni ed arrestando di conseguenza la proliferazione delle cellule tumorali. Nel 1998, il **trastuzumab** viene approvato per il trattamento del tumore al seno caratterizzato dalla sovraespressione del recettore HER2 (human epidermal growth factor receptor 2). Trastuzumab è un anticorpo monoclonale specifico per il recettore HER2 e, bloccando la signalling a valle, arresta la proliferazione delle cellule tumorali. Grazie a questo trattamento oggi un'elevata percentuale di pazienti guarisce. Successivamente, **Imatinib** viene approvato per il trattamento della leucemia mieloide cronica caratterizzata dalla presenza di una proteina di fusione anomala BCR-ABL1.

Bloccando l'attività di questa proteina, imatinib inibisce la proliferazione delle cellule leucemiche. Nel corso degli anni sono stati approvati altri trattamenti personalizzati che, da soli o in combinazione con altri farmaci, hanno consentito di curare molti pazienti, dimostrando l'enorme potenziale di questo approccio terapeutico.

### **La tecnologia NGS nella**

**caratterizzazione molecolare del tumori.** L'NGS permette la caratterizzazione del tumore attraverso l'identificazione simultanea di diverse alterazioni molecolari associate al cancro. Da un lato, ciò consente di identificare i pazienti da sottoporre a specifici trattamenti; dall'altro, consente l'identificazione di alterazioni molecolari non note e potenzialmente clinicamente rilevanti, associate al tumore. Gli autori discutono il modo in cui i progressi tecnologici e lo sviluppo di saggi basati su NGS abbiano consentito di passare dall'analisi di un singolo gene ad una caratterizzazione genomica,

in maniera efficiente in termini di tempi e di costi. In questo contesto, i pannelli genici stanno rapidamente guadagnando un posto di rilievo nell'implementazione nella routine clinica di approcci basati su NGS: includendo un determinato set di geni da analizzare, i pannelli genici permettono l'analisi rapida dei campioni clinici. L'NGS ha quindi tutti i numeri per sostituire, in un futuro prossimo, le attuali tecnologie standard (come FISH, PCR, IHC) nell'identificazione delle alterazioni tumorali. A questo scopo, però, è necessaria una validazione rigorosa e la standardizzazione delle procedure e del workflow. Altrettanto importante è la riduzione dei costi associati con la tecnologia NGS che, sebbene siano diminuiti notevolmente negli ultimi anni, restano ancora elevati, precludendo così la sua ampia diffusione. La possibilità di usare

### **Il sequenziamento genomico e l'analisi dei dati.**

La caratterizzazione molecolare del tumore è costituita da diverse fasi successive, per la preparazione del campione e per l'analisi dei dati: i. l'estrazione del DNA dal campione tissutale del paziente; ii. la preparazione della libreria; iii. la generazione di dati di sequenziamento grezzi; iv. il processamento dei dati grezzi (iv.a. filtraggio dei dati di scarsa qualità; iv.b. allineamento ad un genoma di riferimento; iv.c. determinazione dell'alterazione genomica -e.g. varianti piccole o strutturali, etc- tramite l'impiego di algoritmi; iv.d. determinazione dell'impatto sulla sintesi delle proteine; iv.e. filtraggio delle varianti germinali); v. la distinzione di mutazioni driver o passenger (attraverso l'uso di database, predizioni in silico, revisione della letteratura); vi. l'identificazione di mutazioni clinicamente rilevanti, in termini diagnostici, prognostici o terapeutici, attraverso knowledge bases e revisione della letteratura; vii. l'interpretazione dei dati.

la tecnologia NGS anche nel contesto della biopsia liquida sta contribuendo a sostenerne la diffusione; infatti, sebbene la biopsia liquida in ambito clinico sia ancora utilizzata prevalentemente in contesti sperimentali o per affiancare le procedure diagnostiche standard, il suo enorme potenziale come strumento non invasivo nell'ambito di programmi di screening e per il monitoraggio della malattia può influire in maniera significativa sull'approccio diagnostico.

**Linee guida per i clinici.** Gli autori forniscono delle linee guida per i clinici per scegliere tra NGS



e gli approcci standard per la caratterizzazione molecolare del tumore, evidenziando come, a fronte di un livello di sensibilità e specificità paragonabile, ciò dipenda ampiamente dal tipo di tumore e come nel complesso l'NGS rappresenti l'opzione migliore per analizzare più geni simultaneamente e per analisi esplorative.

Forniscono inoltre delle raccomandazioni per la selezione dei pazienti da sottoporre alla caratterizzazione molecolare del tumore, sottolineandone l'importanza nel caso in cui sia disponibile una terapia molecolare e, per l'analisi germinale, in base alla storia familiare, per iniziare individui a rischio a specifici programmi di sorveglianza.

Al fine di offrire un aiuto ulteriore per l'implementazione delle analisi genomiche nella pratica clinica, la review riporta dei concetti di base sulle procedure di sequenziamento e la successiva analisi dei dati, così come suggerimenti per l'interpretazione dei dati (come ad esempio l'importanza di considerare la cellularità del campione, dettagli sul metodo NGS usato, o la *variant allele frequency* (VAF). La VAF, una caratteristica delle mutazioni somatiche, rappresenta il numero di molecole di DNA nel campione con una data mutazione in rapporto a tutte le molecole di DNA).

Per affiancare i clinici ed offrire un supporto concreto per affrontare un campo in rapida evoluzione come quello dell'utilizzo dell'NGS nella routine clinica e per l'interpretazione dei risultati delle analisi molecolari, secondo linee guida in continuo aggiornamento, entità come i *Molecular Tumor Board* interdisciplinari di esperti offrono un supporto fondamentale.

#### **Quali sono le implicazioni per i pazienti?**

Integrare l'informazione genomica del tumore nella routine clinica ha delle implicazioni importanti per i pazienti; permette infatti di sottoporre i pazienti a terapia molecolare, tumore-specifica o agnostica al tumore (ovvero, il trattamento dei pazienti con una specifica terapia molecolare, indipendentemente dal tipo di tumore in cui la mutazione è identificata). Questo

è ciò che accade ad oggi ad esempio per il tumore al polmone caratterizzato da una specifica mutazione del gene EGFR, trattato con inibitori di EGFR (trattamento tumore-specifico), o per gli inibitori di NTRK, per gli inibitori di BRAF/MEK, per gli inibitori dei checkpoint immunitari (trattamento agnostico al tumore). La caratterizzazione molecolare del tumore potrebbe anche offrire al paziente la possibilità di essere arruolato in studi clinici e quindi sottoporsi ad approcci terapeutici sperimentali, offrendo nuove opzioni di trattamento, e una speranza, per i tumori attualmente non trattabili. Infine, per mutazioni patogeniche/probabilmente patogeniche della linea germinale, l'identificazione della presenza di queste mutazioni permetterebbe di iniziare il singolo individuo e i familiari a percorsi di prevenzione/sorveglianza.

**La caratterizzazione genomica dei tumori in ambito clinico: le sfide attuali.** Infine, gli autori discutono gli aspetti che richiedono un'attenzione particolare per far sì che i dati genomici possano essere sfruttati appieno nella routine clinica: estendere l'accesso alla caratterizzazione genomica è il primo passo ed è fondamentale. A tal proposito, da un lato, la selezione dei pazienti da sottoporre alla caratterizzazione molecolare è un aspetto critico, che deve tenere in considerazione questioni legate ai costi della procedura (e il rimborso); dall'altro, è fondamentale la creazione di network che permettano di offrire ai pazienti l'accesso a questi saggi tecnologici. Infine, la formazione adeguata dei clinici e l'expertise fornita dal *Molecular Tumor Board* sono aspetti fondamentali.

La caratterizzazione genomica sta progressivamente entrando nella routine clinica e occuperà un posto sempre maggiore negli anni a venire; è quindi essenziale per i clinici comprenderne appieno il potenziale e sapere come impiegarla al meglio, così da offrire ai pazienti cure sempre più all'avanguardia ed efficienti.

**Referenza.** Interpreting and integrating genomic tests results in clinical cancer care: Overview and practical guidance. Raffaella Casolino, Philip A Beer, Debyani Chakravarty, Melissa B Davis, Umberto Malapelle, Luca Mazzarella, Nicola Normanno, Chantal Pauli, Vivek Subbiah, Clare Turnbull, C Benedikt Westphalen, Andrew V Biankin. CA Cancer J Clin 2024. doi: 10.3322/caac.21825.

What's new in science?

# Dall'analisi proteomica, uno strumento prognostico nel tumore pancreatico.

Sfruttando un approccio proteomico, gli autori hanno sviluppato un modello prognostico che, sulla base di 14 proteine diversamente abbondanti nel tessuto tumorale pancreatico rispetto al tessuto normale, è in grado di predire la sopravvivenza dei pazienti. Inoltre, hanno identificato due proteine i cui livelli di espressione distinguono i pazienti con maggiori probabilità di rispondere al trattamento chemioterapico somministrato dopo la chirurgia. Questi strumenti possono rappresentare un aiuto concreto per i clinici, per identificare il miglior approccio terapeutico, personalizzato sulla base delle caratteristiche dei pazienti, che sia efficace e ben tollerato.

Il tumore pancreatico in stadio precoce è generalmente trattato chirurgicamente. Dopo la resezione del tumore primario, i pazienti vengono solitamente sottoposti a chemioterapia adiuvante. Tuttavia, molto spesso vanno incontro a recidiva. Risultati di studi clinici propongono un farmaco alternativo da poter utilizzare per la terapia adiuvante (ovvero dopo resezione chirurgica della massa del tumore primario), ben tollerato da parte dei pazienti. Dato che sono disponibili diverse terapie, è quindi necessario identificare i fattori che permettano di distinguere i pazienti che molto probabilmente risponderanno ad un dato trattamento da quelli che molto probabilmente non risponderanno, così da identificare le migliori opzioni terapeutiche e personalizzare il trattamento sulla base delle caratteristiche del paziente e del tumore.

**Scoperta principale.** Nel contesto di un clinical trial prospettico, sfruttando un approccio proteomico, gli autori hanno sviluppato un modello predittivo che, sulla base dei livelli di espressione di 14 proteine diversamente espresse nel tumore pancreatico (PDAC) rispetto al tessuto non tumorale adiacente, è in grado di predire la prognosi dei pazienti. Inoltre, hanno identificato due marcatori proteici (NDUFB8 e CEMIP2) di risposta a chemioterapia adiuvante.

**Risultati.** Lo studio prospettico osservazionale ha arruolato 1171 pazienti con PDAC trattati

chirurgicamente. Le analisi proteomiche hanno permesso di identificare un certo numero di proteine che erano diversamente abbondanti nei tessuti tumorali dei pazienti rispetto ai tessuti adiacenti sani. Le proteine identificate erano coinvolte in specifici processi biologici; alcuni di questi (come funzione ribosomiale, splicing dell'RNA, metabolismo e fosforilazione ossidativa) correlavano negativamente con la dimensione del tumore. Tra le proteine maggiormente espresse nei tumori, c'erano alcune proteine associate con processi biologici come la transizione epitelio-mesenchimale, il rimodellamento della matrice extracellulare, il metabolismo del glucosio, l'ipossia. Alcune proteine erano associate con una prognosi negativa (in termini di sopravvivenza generale dei pazienti), altre invece erano associate con una migliore prognosi (in termini di sopravvivenza generale e sopravvivenza in assenza di malattia).

Sfruttando 14 delle proteine diversamente abbondanti nel tessuto tumorale rispetto ai tessuti normali adiacenti, gli autori hanno costruito un modello predittivo: un valore (score) elevato di questo modello identificava i pazienti con una cattiva prognosi. Il modello sviluppato è stato validato in coorti indipendenti di pazienti.

Analisi ulteriori hanno rivelato che, tra queste proteine diversamente espresse, due potevano essere utilizzate come biomarcatori di risposta a chemioterapia adiuvante: NDUFB8 –meno

espressa in PDAC– e CEMIP2 –più espressa in PDAC. In particolare, indipendentemente dallo specifico chemioterapico usato, i pazienti che rispondevano diversamente alla chemioterapia avevano una diversa abbondanza di queste due proteine: la ridotta espressione di NDUFB8 e l'elevata espressione di CEMIP2 correlavano con una maggiore sopravvivenza dei pazienti trattati con chemioterapia adiuvante, dimostrando che queste due proteine possono in effetti identificare i pazienti che hanno più o meno probabilità di rispondere alla terapia, rappresentando quindi uno strumento utile per aiutare i clinici nel selezionare il miglior approccio di trattamento. La correlazione tra l'abbondanza di questi due biomarcatori e la risposta alla terapia, individuata attraverso l'analisi dei dati dei pazienti, è stata confermata sperimentalmente (tramite analisi immunostochimica).

Infine, le proteine NDUFB8 e CEMIP2 distinguevano anche i pazienti che rispondevano al trattamento combinato contenente gemcitabina (nello specifico, trattamento combinato con gemcitabina, paclitaxel e fluorouracile), suggerendo il potenziale di queste due proteine nell'identificazione dei pazienti con

maggiori probabilità di beneficiare di questa terapia di combinazione.

Infine, il silenziamento di NDUFB8 (che è meno espresso in PDAC) riduceva la sopravvivenza delle cellule tumorali sottoposte a questo trattamento combinato, mentre il silenziamento di CEMIP2 (che è più espresso in PDAC) determinava la resistenza delle cellule tumorali al trattamento che includeva gemcitabina.

**Conclusioni.** Sfruttando un approccio proteomico, gli autori hanno sviluppato –e validato– un modello prognostico che, sulla base di 14 proteine diversamente abbondanti nel tessuto tumorale pancreatico rispetto al tessuto normale adiacente, è in grado di predire la sopravvivenza dei pazienti. Inoltre, hanno identificato due biomarcatori proteici che distinguono i pazienti con maggiori probabilità di rispondere al trattamento adiuvante. Questi strumenti possono rappresentare un aiuto concreto per i clinici, per identificare il miglior approccio di trattamento, personalizzato sulla base delle caratteristiche dei pazienti, che bilanci efficacia e tolleranza/effetti sulla qualità di vita.

**Referenza.** Prospective observational study on biomarkers of response in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Lingxi Jiang, Jiejie Qin, Yuting Dai, Shulin Zhao, Qian Zhan, Peng Cui, Lingjie Ren, Xuelong Wang, Ruihong Zhang, Chenxu Gao, Yanting Zhou, Shangli Cai, Guoqiang Wang, Wenchuan Xie, Xiaomei Tang, Minmin Shi, Fangfang Ma, Jia Liu, Ting Wang, Chaofu Wang, Magali Svrcek, Armelle Bardier-Dupas, Jean Francois Emile, Louis de Mestier, Jean-Baptiste Bachet, Remy Nicolle, Jerome Cros, Pierre Laurent-Puig, Miaoyan Wei, Bin Song, Wei Jing, Shiwei Guo, Kailian Zheng, Hui Jiang, Huan Wang, Xiaxing Deng, Hao Chen, Qiang Tian, Shengyue Wang, Si Shi, Gang Jin, Tong Yin, Hai Fang, Saijuan Chen & Baiyong Shen.* Nature medicine 2024. doi: 10.1038/s41591-023-02790-x.

What's new from IEO Researchers?

## Studi preclinici mostrano che la restrizione calorica e gli inibitori di LSD1 uccidono le cellule leucemiche.

Studi preclinici e clinici hanno mostrato che un regime dietetico caratterizzato da una ridotta assunzione di calorie (restrizione calorica, CR) ha un effetto anti-tumorale ed è in grado di aumentare l'efficacia della terapia antitumorale. La CR riduce la disponibilità di nutrienti e abbassa i livelli di insulina circolante e del fattore di crescita IGF1 (insulin-like growth factor 1). Non è chiaro però in che modo tutto questo alla fine determini una ridotta crescita del tumore. In un articolo recente di Rani Pallavi et al., gli autori, supervisionati da Luca Mazarella –Group Leader al Dipartimento di Oncologia Sperimentale di IEO– e Pier Giuseppe Pelicci –Direttore della ricerca IEO–, descrivono, a livello molecolare, l'effetto della CR sulle cellule leucemiche (di leucemia mieloide acuta -AML- e leucemia promielocitica acuta -APL, un sottotipo di AML caratterizzato dalla traslocazione cromosomica 15-17) e del tumore al seno. Lo studio mostra che, nelle cellule tumorali, la CR riduce l'attivazione del pathway "insulin/IGF1" e del pathway "dsRNAsensing/IFNresponse". La ridotta attivazione di questi pathway inizialmente arresta la progressione del tumore, ma solo in maniera transitoria; infatti, induce anche un aumento delle cellule staminali leucemiche (LSC) -una sottopopolazione di cellule tumorali che sostiene la progressione del tumore e alimenta la recidiva-, risultando in una malattia più aggressiva. Eppure, nelle condizioni indotte dalla CR, in cui le LSC, per sopravvivere, si sono adattate, il trattamento con inibitori di LSD1 -agendo sul pathway dsRNAsensing/IFNresponse, riattivandolo- riesce ad indurre la morte delle cellule tumorali ed eliminare la malattia. Attualmente, diversi inibitori di LSD1 e del pathway insulin/IGF1 sono in sperimentazione clinica. Analizzando i meccanismi molecolari coinvolti, questo

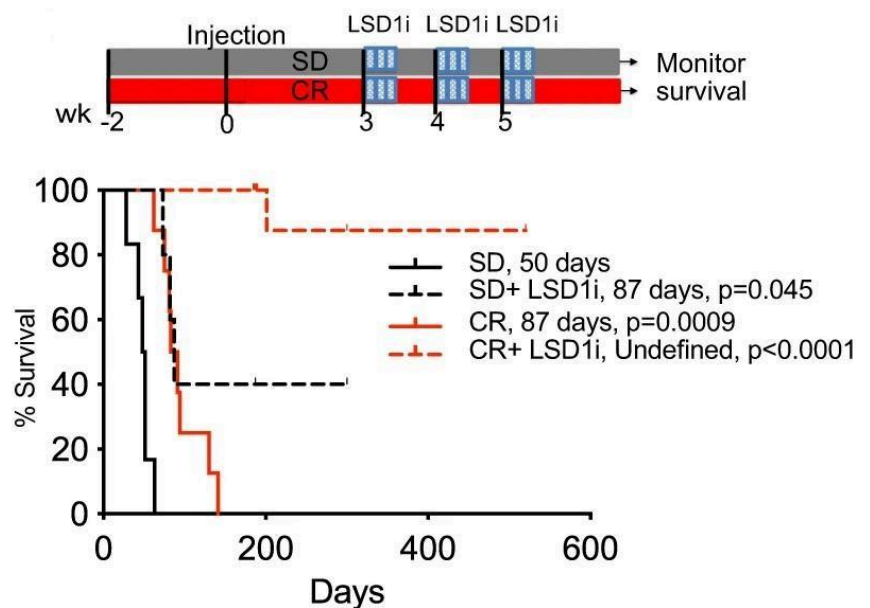


Figure from Pallavi et al., Nature Communications 2024.\*

***"Nelle cellule tumorali, la restrizione calorica riduce l'attivazione del pathway "insulin/IGF1" e del pathway "dsRNAsensing/IFNresponse", arrestando in maniera temporanea, la progressione del tumore, ma inducendo un aumento delle cellule staminali leucemiche, risultando in una malattia più aggressiva. In queste condizioni, però, il trattamento con inibitori di LSD1 -agendo sul pathway dsRNAsensing/IFNresponse- induce la morte delle cellule tumorali ed elimina la malattia"***

studio suggerisce che la somministrazione combinata dei due farmaci -che colpiscono l'epigenetica dei tumori e il metabolismo, rispettivamente- potrebbe rappresentare un nuovo ed efficace approccio terapeutico contro il cancro.

Leggi [qui](#) il comunicato stampa.

Utilizzando modelli murini di AML, APL e tumore al seno, gli autori hanno osservato che, in APL, l'effetto antitumorale della CR è solo transiente. Infatti, dopo una prima fase in cui effettivamente si osserva un arresto della leucemia, la malattia ricomincia a progredire ed il numero delle LSC aumenta. Le LSC isolate da animali nutriti con una dieta a basso contenuto calorico mostrano un profilo di espressione genica molto diverso rispetto a quelle isolate da animali nutriti con una dieta standard, caratterizzato dalla downregolazione di geni appartenenti al pathway "insulin/IGF1" e al pathway "dsRNA sensing/IFN response" (dsRNA). Il pathway dsRNA -che, down-regolato dalla CR, consente la sopravvivenza delle LSC- è noto essere represso da LSD1. Gli autori mostrano che la down-regolazione del pathway dsRNA indotto dalla CR può essere invertita farmacologicamente attraverso l'inibizione di LSD1, che infatti promuove la morte delle cellule leucemiche.

Quindi, la CR e gli inibitori di LSD1 agiscono in sinergia ed eliminano

completamente la leucemia: la sopravvivenza degli animali aumenta, milza e midollo osseo tornano alla normalità, i blasti leucemici scompaiono. E' importante sottolineare che la CR e l'inibizione di LSD1 inducono la morte cellulare solo nelle cellule leucemiche, ma non hanno alcun effetto sulle cellule normali (come osservato in progenitori, mieloblasti, mielociti),

ad eccezione dei progenitori dei globuli rossi, che sono noti target degli inibitori di LSD1, causando di conseguenza un'anemia reversibile. Tra i due pathway cellulari -il pathway di mTOR e il pathway insulin/IGF1- noti per essere influenzati dalla CR, gli autori hanno confermato che gli inibitori di LSD1 (attraverso un'azione sul pathway dsRNA) interferiscono con il pathway insulin/IGF1. Infatti, come negli animali nutriti con CR, l'inibizione farmacologica del pathway insulin/IGF1 con osi-906 -una molecola

### Il pathway Insulin/IGF1 come target di una terapia antitumorale.

Il pathway insulina/IGF1 è attualmente in fase di valutazione nel contesto di diversi studi clinici come potenziale target antitumorale. L'iperattivazione di questo pathway caratterizza diversi tipi di tumore, sostenendo la crescita tumorale, la disseminazione metastatica e la resistenza alla terapia. Quindi, l'inibizione farmacologica di questo pathway appare una strategia terapeutica promettente, che è stata testata attraverso diversi approcci: i. Attraverso il silenziamento del recettore IGF1; ii. Attraverso la neutralizzazione del recettore IGF1 con l'uso di specifici anticorpi, come Ganitumab -che ha mostrato una significativa attività antitumorale in studi clinici di fase I e II, da solo o in combinazione, in diversi tipi di tumore, con un livello di tossicità accettabile, ed attualmente testato nell'ambito di studi clinici di fase III- e Xentuzumab -che ha mostrato attività antitumorale in studi di fase I-; o iii. Con inibitori (TKIs), come Linsitinib (OSI-906) -che, colpendo il recettore IGF1, è stato dimostrato indurre una malattia stabile in pazienti recidivanti-, AXL-1717 -che ha mostrato efficacia antitumorale in studi clinici di fase I-, o imatinib per il trattamento della CML. L'inibizione di questo pathway è anche in fase di valutazione clinica come parte di terapie di combinazione.

attualmente in sviluppo clinico per i suoi effetti antitumorali- agisce in sinergia con gli inibitori di LSD1, sconfiggendo la malattia. In accordo con questi dati, in vitro, l'inibizione del pathway insulin/IGF1 con osi-906 induce le stesse alterazioni dell'espressione genica osservate nelle cellule leucemiche isolate da animali nutriti in CR. Inoltre, analisi ulteriori del meccanismo hanno

mostrato che l'inibitore di LSD1 inverte completamente gli effetti della CR sul pathway dsRNA, attraverso la derepressione degli stessi elementi trasponibili modulati dalla CR. L'apoptosi delle cellule staminali leucemiche avviene attraverso l'attivazione di TRAIL e la down regolazione di CFLAR, un noto fattore antiapoptotico. Analisi ad alta risoluzione (su singola cellula) dell'espressione genica hanno rivelato la presenza, in seguito a CR e al trattamento con inibitori di LSD1, di una sottopopolazione di cellule leucemiche caratterizzate dall'espressione di due marcatori, cd34 e cd177 (quest'ultimo recentemente identificato come fattore prognostico negativo nella leucemia mieloide). Questa sottopopolazione cellulare mostra un metabolismo quiescente, tipico delle cellule

*“Attualmente, diversi inibitori di LSD1 e del pathway insulin/IGF1 sono in sperimentazione clinica. Analizzando i meccanismi molecolari coinvolti, questo studio suggerisce che la somministrazione combinata dei due farmaci -che colpiscono l'epigenetica dei tumori e il metabolismo, rispettivamente- potrebbe rappresentare un nuovo ed efficace approccio terapeutico contro il cancro”*

staminali ematopoietiche normali quiescenti (caratterizzate da ridotta proliferazione, espressione di OXPHOS, MYC, e geni IFN alpha e gamma). Infine, gli autori hanno mostrato che CR e inibizione di LSD1 hanno un effetto antitumorale anche in modelli

preclinici in vivo di altri sottotipi di leucemia (AML non APL) e nel tumore al seno, indicando che la sinergia tra inibitori di LSD1 e CR non sia specifica di APL, ma potrebbe essere sfruttata anche in altri tipi di tumore, solidi ed ematologici. In conclusione, gli autori hanno svelato il meccanismo alla base del forte effetto sinergico antitumorale di CR e inibitori di LSD1, rivelando un nuovo meccanismo potenzialmente sfruttabile in ambito terapeutico.

### Inibitori di LSD1.

Identificata nel 2004, LSD1 è una proteina che attraverso la modificazione chimica degli istoni -proteine coinvolte nell'impacchettamento del DNA-, regola la struttura tridimensionale del DNA e quindi l'espressione genica, influenzando di conseguenza processi cellulari come il differenziamento, la proliferazione, la migrazione delle cellule. L'espressione di LSD1 è alterata (sovraespressa) in un gran numero di tumori, rendendola un potenziale bersaglio di terapie molecolari. Ad oggi ci sono nove inibitori di LSD1 in clinical trial per il trattamento di patologie ematologiche o tumori solidi, Malattia di Alzheimer, disordini di personalità.

I ricercatori IEO hanno precedentemente definito i meccanismi d'azione e dimostrato l'efficacia antitumorale, in diversi modelli preclinici, degli inibitori di LSD1 nel contrastare la progressione della leucemia.

**Referenza.** Caloric restriction leads to druggable LSD1-dependent cancer stem cells expansion. *Rani Pallavi, Elena Gatti, Tiphane Durfort, Massimo Stendardo, Roberto Ravasio, Tommaso Leonardi, Paolo Falvo, Bruno Achutti Duso, Simona Punzi, Aobuli Xieraili, Andrea Polazzi, Doriana Verrelli, Deborah Trastulli, Simona Ronzoni, Simone Frascolla, Giulia Perticari, Mohamed Elgendy, Mario Varasi, Emanuela Colombo, Marco Giorgio, Luisa Lanfrancone, Saverio Minucci, Luca Mazzearella, Pier Giuseppe Pelicci.* Nature communications 2024. doi: 10.1038/s41467-023-44348-y.

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

*What's new from IEO Researchers?*

## L'immunoterapia anti-PD1 nel trattamento del tumore metastatico della cervice.



*Nicoletta Colombo*

Nonostante la ridotta incidenza del tumore cervicale, grazie a screening efficaci, test e vaccinazione contro il papillomavirus umano, oltre 600.000 donne ricevono ogni anno una diagnosi di tumore della cervice. Sebbene i tumori in stadio precoce possano essere curati in maniera efficiente (con chirurgia e terapia adiuvante), la malattia avanzata/metastatica è più difficile da gestire; le pazienti sono spesso trattate con chemioterapia (a base di taxani e platino) in combinazione con agenti anti-angiogenici che, impedendo la formazione di nuovi vasi sanguigni che “alimentano” le cellule tumorali, di fatto ostacolano la progressione del tumore. In un articolo recentemente pubblicato sulla rivista JAMA Oncology, nel contesto di uno studio

clinico internazionale, di fase 3 “KEYNOTE-826”, gli autori, tra cui Nicoletta Colombo –Direttrice del Programma Ginecologia di IEO e Professore Associato presso l'Università degli Studi di Milano-Bicocca– hanno investigato l'efficacia antitumorale dell'aggiunta di immunoterapia con pembrolizumab –un anticorpo specifico contro la proteina PD1– al trattamento standard con chemioterapia, *indipendentemente* dallo specifico agente chemioterapico somministrato, o dall'aggiunta del farmaco anti-angiogenico bevacizumab, in pazienti con tumore della cervice persistente/ricorrente/metastatico. Lo studio KEYNOTE-826 ha arruolato un totale di 617 pazienti, in 151 diversi centri, in 19 diversi paesi. Le pazienti reclutate sono state

casualmente divise in due gruppi: un gruppo ha ricevuto l'anticorpo anti-PD1 in aggiunta alla chemioterapia (a base di platino e taxani, con o senza il farmaco anti-angiogenico bevacizumab) e un altro gruppo ha ricevuto un placebo. Pembrolizumab agisce legandosi alla proteina PD1 espressa sulla superficie delle cellule immunitarie, impedendo la sua interazione con la proteina PDL1 presente sulle cellule tumorali; bloccando l'interazione PD1-PDL1, rimuove un freno all'attività del sistema immunitario contro le cellule tumorali. I tumori sono stati quindi anche analizzati per valutare l'espressione di PDL1.

Prima di tutto, i loro risultati hanno confermato l'efficacia antitumorale dell'aggiunta di pembrolizumab alla chemioterapia per il trattamento di tumori

recidivanti/metastatici, senza esacerbare il profilo di tossicità, come era stato riportato in un lavoro pubblicato precedentemente sulla rivista *The New England Journal of Medicine* da Nicoletta Colombo e collaboratori (N. Colombo et al., *NEJM* 2021\*).

*“sia nelle pazienti trattate con il chemioterapico cisplatino, che in quelle trattate con il carboplatino, in presenza o in assenza del farmaco anti-angiogenico bevacizumab, l’immunoterapia con pembrolizumab ha una significativa efficacia antitumorale”*

In secondo luogo, le loro analisi hanno dimostrato l'efficacia di questo regime di trattamento *indipendentemente* dallo specifico agente chemioterapico (a base di platino) utilizzato, o l'eventuale aggiunta di farmaci anti-angiogenici: sia nelle pazienti trattate con il chemioterapico cisplatino, che in quelle trattate con il carboplatino, in presenza o in assenza del farmaco anti-angiogenico bevacizumab, l'immunoterapia con pembrolizumab ha una significativa efficacia antitumorale. L'aggiunta di pembrolizumab determina un aumento sia della sopravvivenza in generale che della sopravvivenza

in assenza di progressione della malattia e mostra dei benefici sia in tumori di tipo squamoso che non squamoso

(questi ultimi, più frequentemente caratterizzati dall'assenza della proteina PDL1).

Questo studio supporta quindi fortemente l'inclusione dell'immunoterapia anti-PD1 alla terapia standard per il trattamento del tumore della cervice recidivante/metastatico.

**Referenza.** Pembrolizumab or Placebo Plus Chemotherapy With or Without Bevacizumab for Persistent, Recurrent, or Metastatic Cervical Cancer: Subgroup Analyses From the KEYNOTE-826 Randomized Clinical Trial. *Krishnansu S Tewari, Nicoletta Colombo, Bradley J Monk, Coraline Dubot, M Valeria Cáceres, Kosei Hasegawa, Ronnie Shapira-Frommer, Pamela Salman, Eduardo Yañez, Mahmut Gümüş, Mivael Olivera Hurtado de Mendoza, Vanessa Samouëlian, Vincent Castonguay, Alexander Arkhipov, Cumhuri Tekin, Kan Li, Sarper Toker, Stephen M Keefe, Domenica Lorusso.* *JAMA Oncol*, February 2024. doi: 10.1001/jamaoncol.2023.5410.

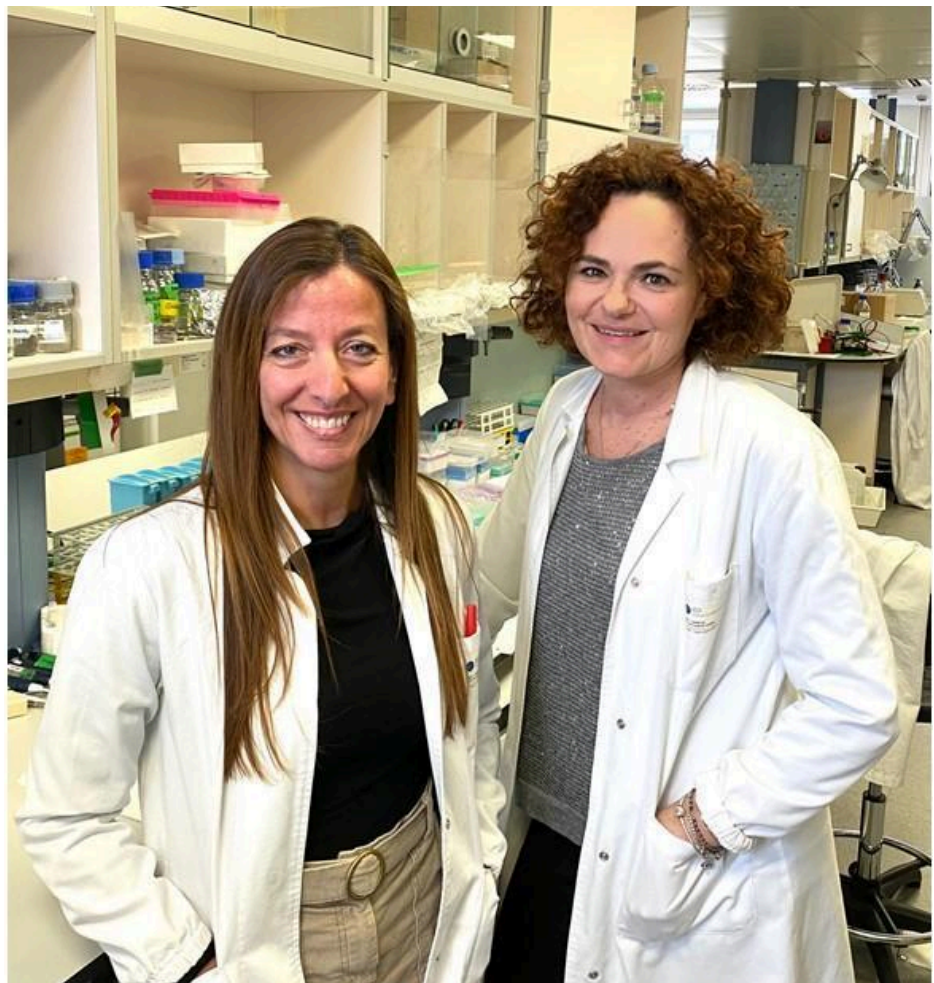
\*Pembrolizumab for Persistent, Recurrent, or Metastatic Cervical Cancer. *Nicoletta Colombo, Coraline Dubot, Domenica Lorusso, M Valeria Cáceres, Kosei Hasegawa, Ronnie Shapira-Frommer, Krishnansu S Tewari, Pamela Salman, Edwin Hoyos Usta, Eduardo Yañez, Mahmut Gümüş, Mivael Olivera Hurtado de Mendoza, Vanessa Samouëlian, Vincent Castonguay, Alexander Arkhipov, Sarper Toker, Kan Li, Stephen M Keefe, Bradley J Monk; KEYNOTE-826 Investigators.* *N Engl J Med* 2021. doi: 10.1056/NEJMoa2112435.



*What's new from IEO Researchers?*

## Analisi proteomiche identificano nuovi biomarcatori epigenetici del melanoma uveale.

Il melanoma uveale (UM) è il più diffuso tumore dell'occhio tra gli adulti, significativamente diverso dal melanoma cutaneo nelle sue caratteristiche principali, i meccanismi di tumorigenesi, la risposta alla terapia. Dal punto di vista genetico, UM è piuttosto ben caratterizzato; sono state infatti identificate le principali mutazioni driver. Durante la progressione del tumore, però, spesso emergono delle alterazioni epigenetiche –modificazioni chimiche delle proteine istoniche coinvolte nell'impacchettamento del DNA e del DNA stesso–, che sono ad oggi scarsamente caratterizzate, pur essendo potenzialmente utili marcatori prognostici/diagnostici, o target terapeutici. Infatti, diversamente dalle alterazioni geniche, le alterazioni epigenetiche possono essere modulate farmacologicamente, sottolineando ulteriormente la necessità di studiare a fondo i meccanismi cellulari epigenetici. Le modificazioni post-traduzionali (PTM) degli istoni sono tratti epigenetici che svolgono un ruolo cruciale nel controllo dell'espressione genica; sono alterate in diversi tipi di tumore, influenzando di



*Roberta Noberini e Tiziana Bonaldi*

conseguenza l'espressione genica, possibilmente inducendo la tumorigenesi.

In un articolo recente, grazie alla collaborazione di Martina Herwig-Carl del University Hospital di Bonn, Roberta Noberini e Tiziana Bonaldi –rispettivamente ricercatrice senior e Group Leader al Dipartimento di Oncologia

### Proteomica basata su spettrometria di massa in ambito clinico.

Permettendo una precisa quantificazione delle proteine e delle proteoforme (ovvero, diverse forme delle proteine, risultanti da variazioni geniche, isoforme di splicing, e PTM), la proteomica basata su spettrometria di massa sta trovando la sua strada verso l'applicazione clinica. La ricerca di nuovi biomarcatori, infatti, ha rivelato l'enorme potenziale di questa metodologia, per l'analisi di cellule, tessuti, campioni di biopsia liquida, permettendo l'identificazione di marcatori proteici in grado di definire uno stato patologico, rappresentando così un potente strumento per la diagnosi, la prognosi e il monitoraggio della malattia. Il gruppo Bonaldi, in collaborazione con ricercatori e clinici IEO, ha precedentemente combinato approcci di spettrometria di massa e machine learning per caratterizzare le microvescicole nel sangue (che sono caratterizzate da uno specifico contenuto proteico che rispecchia le caratteristiche delle cellule che le rilasciano) e hanno identificato diverse proteine in grado di distinguere i pazienti con tumore al polmone in stadio precoce dai soggetti sani ad alto rischio di sviluppare la malattia, fornendo così una lista di potenziali nuovi biomarcatori di malattia in stadio precoce (Gasparri et al., PMID: 36645712). Inoltre, sfruttando i loro protocolli ottimizzati per analisi di spettrometria di massa su campioni tissutali molto piccoli, hanno scoperto che livelli di alcune isoforme della proteina H1 erano significativamente ridotti nella massa del tumore primario di pazienti con cancro al seno triplo-negativo che erano andati incontro a recidiva tre anni dopo la fine del trattamento, proponendo H1 come un biomarcatore in grado di distinguere quei pazienti ad alto rischio di recidiva e quindi iniziarli al percorso terapeutico più appropriato (Noberini et al., PMID: 33020374). Grazie ai progressi tecnologici e alla validazione di nuovi candidati biomarcatori, attraverso altri approcci biochimici e/o in coorti di pazienti più ampie, nel contesto di reti di collaborazioni, questi biomarcatori potranno essere impiegati in futuro per sviluppare strumenti diagnostici applicabili di routine in ambito clinico-diagnostico, contribuendo a rendere la proteomica basata su spettrometria di massa una tecnologia potente al fianco di altri approcci omici.

Sperimentale di IEO, gli autori hanno sfruttato un approccio di spettrometria di massa per caratterizzare, per la prima volta, il panorama delle modifiche istoniche nel UM. I ricercatori hanno quantificato le modifiche istoniche in tessuti tumorali di UM ottenuti dai pazienti (della stessa età) e in tessuti normali di controllo, identificando differenze nei livelli di modifiche istoniche (metilazione e acetilazione degli istoni H3 e H4), aumentati o diminuiti nei tessuti tumorali rispetto ai controlli, o associati con specifici stadi del tumore. In maniera specifica con la stadiazione del tumore. Infine, i loro risultati hanno evidenziato che alcune PTM istoniche sembrano essere correlate con lo stato

di BAP1 (nello specifico, alcune modifiche istoniche diminuiscono nei tessuti che portavano mutazioni di BAP1). Mutazioni nel gene sono state precedentemente proposte come fattore prognostico, in grado di predire il rischio di disseminazione metastatica nel UM. Diversi studi sottolineano inoltre il ruolo attivo di BAP1 nel modulare il panorama epigenetico della cellula: BAP1 è responsabile della regolazione fisiologica della de-ubiquitinazione dell'istone H2A (e.g. Conway et al., Mol Cell 2021), per cui le sue mutazioni/perdita di espressione, frequentemente

osservate nei tumori, alterano i livelli di ubiquitinazione. Inoltre, BAP1 modifica indirettamente i livelli di metilazione dell'istone H3, attraverso l'interazione con il complesso polycomb, e la sua espressione altera i livelli di acetilazione nella cellula, interferendo con l'attività delle proteine HDAC, suggerendo un ruolo attivo di questa proteina nel processo di tumorigenesi, attraverso la modulazione diretta e indiretta dell'espressione genica. Alla luce di queste evidenze scientifiche, questi risultati sottolineano l'importanza di approfondire la correlazione tra le mutazioni di BAP1, il profilo

epigenetico globale delle cellule umorali –con le variazioni del panorama delle PTM– e i meccanismi alla base del processo di tumorigenesi nel UM.

Sebbene i risultati dovranno essere confermati in coorti di pazienti più ampie, questo studio, da un lato, contribuisce all’identificazione di meccanismi di tumorigenesi in UM; dall’altro, offre potenziali nuovi marcatori epigenetici prognostici/diagnostica di UM, da poter sfruttare in ambito diagnostico. Infine, ancora una volta, evidenzia il ruolo chiave della proteomica basata su spettrometria di massa nell’identificazione di nuovi biomarcatori.

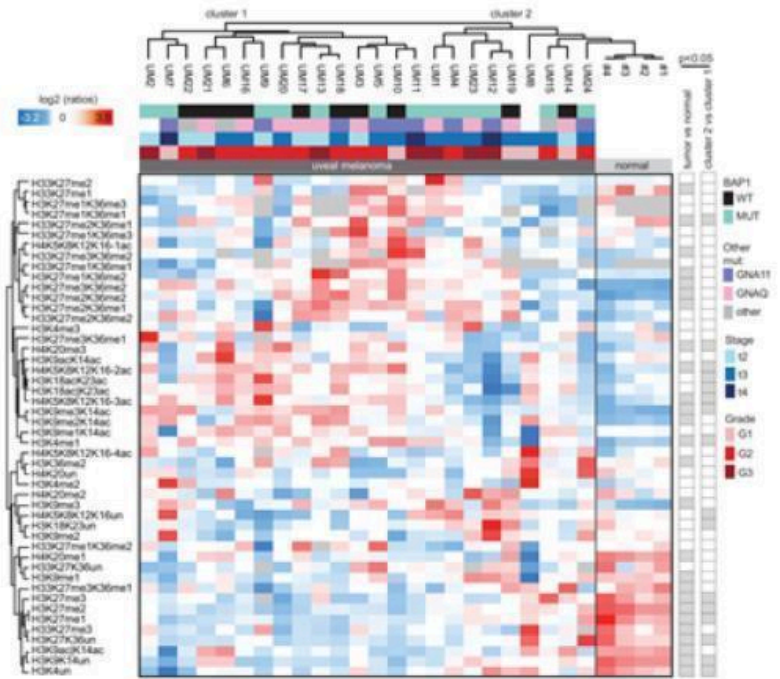


Figure from Herwig-Carl et al., Invest Ophthalmol Vis Sci 2024.\*

**Referenza.** Mass Spectrometry-Based Profiling of Histone Post-Translational Modifications in Uveal Melanoma Tissues, Human Melanocytes, and Uveal Melanoma Cell Lines - A Pilot Study. *Martina C Herwig-Carl, Amit Sharma, Verena Tischler, Natalie Pelusi, Karin U Loeffler, Frank G Holz, Michael Zeschngk, Solange Landreville, Claudia Auw-Haedrich, Roberta Noberini, Tiziana Bonaldi.* Invest Ophthalmol Vis Sci, February 2024. doi: 10.1167/iovs.65.2.27.

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

*What's new from IEO Researchers?*

## Meccanismi molecolari che regolano l'omeostasi intestinale.

Le cellule staminali intestinali hanno la capacità di proliferare e differenziare in tutti i tipi cellulari del tratto gastro-intestinale, consentendo così un rinnovo costante dell'epitelio intestinale. Le Tuft cells sono una sottopopolazione cellulare dell'intestino che svolge funzioni immunitarie fondamentali; monitorano l'ambiente e rispondono a specifici stimoli. In caso di danno tissutale, le cellule staminali intestinali proliferano rapidamente e differenziano in Tuft cells, per promuovere una specifica risposta immunitaria che riduce l'infiammazione evitando che evolva in colite ulcerosa. La colite ulcerosa è considerata una comune lesione pre-tumorale del cancro al colon, perciò le Tuft cells potrebbero avere un ruolo nel processo di tumorigenesi e una migliore comprensione della biologia delle Tuft cells potrebbe quindi contribuire allo sviluppo di nuovi approcci terapeutici contro le malattie umane del tratto gastrointestinale.

*“le Tuft cells potrebbero avere un ruolo nel processo di tumorigenesi e una migliore comprensione della biologia delle Tuft cells potrebbe quindi contribuire allo sviluppo di nuovi approcci terapeutici contro le malattie umane del tratto gastrointestinale”*

In un recente articolo di Annachiara Del Vecchio, Patrizia Mule' et al., gli autori, supervisionati da Diego Pasini –Group leader al dipartimento di oncologia sperimentale di IEO– hanno dimostrato che sebbene l'attività della proteina PCGF6 -un componente del complesso proteico PRC1.6, che agisce reprimendo l'espressione di specifici geni in specifiche condizioni- non sia necessaria per conferire alle cellule staminali intestinali la capacità di auto-rinnovarsi, è implicata nell'attivazione di determinati programmi di espressione genica che regolano il differenziamento delle Tuft cells. In particolare, gli autori hanno mostrato, per la prima volta, che la proteina PCGF6, indipendentemente dall'attività del complesso proteico PRC1, attraverso la metilazione dell'istone 3 (H3K9me2), regola l'espressione genica, controllando il differenziamento delle Tuft cells. Questo meccanismo intrinseco della cellula influenza a sua volta il microambiente intestinale. Infatti, in assenza di PCGF6, l'alterazione dei programmi di espressione genica induce un aumento del numero di Tuft cells che, a loro volta, determinano l'attivazione di un sottotipo di cellule immunitarie (type 2 innate



Diego Pasini

lymphoid cells, ILC2) nel microambiente intestinale.

Questo studio, quindi, amplia le attuali conoscenze sui meccanismi biomolecolari che regolano il differenziamento delle Tuft cells in condizioni fisiopatologiche, offrendo un possibile nuovo target per interferire con le patologie intestinali.

Gli autori hanno osservato che la delezione di PCGF6 non influenzava la capacità delle cellule staminali intestinali di rinnovarsi. Al contrario, la perdita di PCGF6 (inducendo una parziale perdita di CTCF e RD21 e riducendo il legame al DNA di due fattori di trascrizione intestinali - KL4 e KL5) alterava il programma di espressione delle Tuft cells,

determinando

l'up-regolazione di specifici geni che "definiscono"

l'identità delle Tuft cells. Infatti,

in vivo, i cambiamenti di espressione genica che accompagnavano la perdita di PCGF6 determinavano un aumento del numero di Tuft cells.

Le Tuft cells attivate da stimoli patologici secernono molecole (come interleuchina 25, IL25) che contribuiscono a reclutare le cellule immunitarie ILC2 e, infatti, gli autori hanno osservato che l'aumento del numero di Tuft cells

indotto dalla perdita di PCGF6 determinava l'attivazione di ILC2. Ciò indicava che, attraverso l'induzione dell'accumulo delle Tuft cells, PCGF6 modulava il microambiente immunitario intestinale.

L'aumento del numero di Tuft cells indotto dalla perdita di PCGF6 non dipendeva dal microambiente;

era piuttosto un meccanismo

intrinseco della cellula. Infatti, il legame di PCGF6 ai promotori di

geni marker del differenziamento delle Tuft cells regolava il differenziamento cellulare, indipendentemente dalla repressione da parte di PRC1 (e dalla deposizione di ubiquitina, H2AK119ub1), ma si basava sul controllo dell'espressione genica, mediato da PCGF6, attraverso H3K9me2.

***"l'attività della proteina PCGF6 è implicata nell'attivazione di determinati programmi di espressione genica che regolano il differenziamento delle Tuft cells"***

**Referenza.** PCGF6 controls murine Tuft cell differentiation via H3K9me2 modification independently of Polycomb repression. *Annachiara Del Vecchio, Patrizia Mulé, Daniel Fernández-Pérez, Simona Amato, Georgia Lattanzi, Marika Zanotti, Samantha Rustichelli, Silvia Pivetti, Paola Oldani, Andrea Mariani, Fabiola Iommazzo, Haruhiko Koseki, Federica Facciotti, Simone Tamburri, Karin J Ferrari, Diego Pasini.* Dev Cell, February 2024. doi: 10.1016/j.devcel.2023.12.015.

*What's new from IEO Researchers?*

# Collaborare perché tutto funzioni: un complesso proteico permette l'interazione tra il metabolismo cellulare e la regolazione dell'espressione genica

Diversi studi preclinici indicano l'efficacia antitumorale di un approccio terapeutico che interferisce contemporaneamente con il metabolismo e l'epigenetica –l'insieme delle modificazioni chimiche delle proteine istoniche associate al DNA e del DNA stesso– delle cellule tumorali, suggerendo fortemente l'esistenza di un'interazione tra questi meccanismi. Pur essendo classicamente considerati distinti –da un lato l'epigenetica, che con le sue modificazioni chimiche controlla l'espressione genica, e dall'altro il metabolismo, attraverso cui la cellula produce l'energia necessaria–, evidenze sperimentali indicano che siano strettamente collegate, si influenzino a vicenda e collaborino per il corretto funzionamento della cellula, fornendo così una spiegazione molecolare degli effetti terapeutici osservati in modelli preclinici (vedi anche [Mitro et al. Frontiers in Endocrinology 2024](#)).

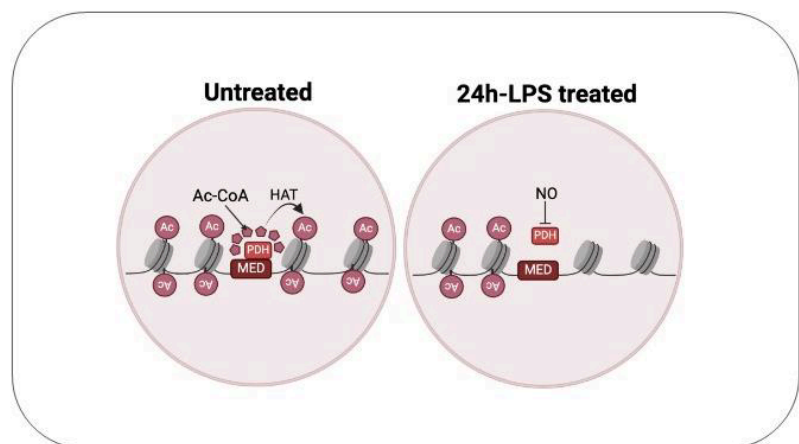
*“studi preclinici indicano l'efficacia antitumorale di un approccio terapeutico che interferisce contemporaneamente con il metabolismo e l'epigenetica delle cellule tumorali, suggerendo fortemente che questi meccanismi siano strettamente collegati, si influenzino a vicenda e collaborino per il funzionamento della cellula, fornendo così una spiegazione molecolare degli effetti terapeutici osservati in modelli preclinici”*

Acetil-CoA (Acetil coenzima A) e SAM (S-adenosil Metionina) sono molecole prodotte attraverso il metabolismo della cellula e sono impiegate dalla cellula per la modificazione chimica/epigenetica –acetilazione e metilazione, rispettivamente– di molte proteine, tra cui gli istoni, modulando a loro volta l'espressione genica.

L'aumento transiente, localizzato –piuttosto che generale– di acetil-CoA e SAM a livello di specifiche regioni del DNA, in prossimità delle proteine responsabili delle modificazioni epigenetiche, potrebbe essere responsabile della modificazione epigenetica degli istoni e di conseguenza della precisa regolazione dell'espressione genica. In che modo tutti questi fattori entrano in contatto, così da lavorare in maniera cooperativa per regolare l'espressione genica?

In un recente articolo di Russo, Gualdrini et al., gli autori, supervisionati da

Gioacchino Natoli e Serena Ghisletti, in collaborazione con Simona Rodighiero, Tiziana Bonaldi, Nico Mitro,



*Created with BioRender.com by Marta Russo*

Alessandro Cuomo e i loro collaboratori, hanno dimostrato che un complesso proteico chiamato “Mediator”, con ruolo chiave nella regolazione della trascrizione, lega specifiche regioni del DNA che regolano l'espressione genica (ovvero enhancer e promotori), interagisce direttamente con le proteine che generano acetil-CoA, permettendo così la produzione di acetil-CoA a livello di quelle specifiche regioni dove si trovano le proteine responsabili delle modificazioni epigenetiche, modulando di conseguenza la modificazione degli istoni e l'espressione genica. Portando insieme proteine che producono e che utilizzano acetil-CoA, Mediator crea una "piattaforma molecolare" che permette un aumento notevole, ma localizzato, di acetil-CoA dove necessario e quando richiesto, per una risposta tempestiva a specifiche condizioni; ad esempio, quando è necessario terminare una risposta infiammatoria. Questo studio sottolinea quindi il ruolo cruciale del complesso proteico Mediator nell'interazione tra metabolismo ed epigenetica e pone le basi per studi ulteriori volti a definire tutti gli attori molecolari coinvolti in questa interazione, che possano offrire nuovi target terapeutici per interferire con questi processi –laddove alterati– in maniera precisa.

*“il complesso proteico chiamato “Mediator” lega specifiche regioni del DNA che regolano l'espressione genica, interagisce direttamente con le proteine che generano acetil-CoA. Portando insieme proteine che producono e che utilizzano acetil-CoA, Mediator crea una ‘piattaforma molecolare’ che permette un aumento notevole, ma localizzato, di acetil-CoA dove necessario e quando richiesto, per una risposta tempestiva a specifiche condizioni”*

Sfruttando tre diversi approcci, gli autori hanno dimostrato che, nel nucleo, il complesso Mediator interagiva con gli enzimi responsabili della produzione di acetil-CoA e con il DNA. Il legame a Mediator degli enzimi che producevano acetil-CoA ne promuoveva l'attività e, infatti, quando il complesso proteico Mediator veniva distrutto, la loro attività ne risultava fortemente danneggiata. L'attivazione dei macrofagi tramite stimolazione con la molecola LPS induceva un aumento di NO (ossido nitrico, una molecola chiave nei processi di ossidazione cellulare e attivazione dei macrofagi) e l'attività dell'enzima che produceva acetil-CoA risultava inibita; al contrario, l'inibizione della produzione di NO ripristinava la produzione di acetil-CoA. Dal punto di

vista molecolare, la generazione di NO indotta dalla stimolazione con LPS danneggiava l'acetilazione dell'istone 3 (H3K27Ac) a livello di specifici siti sul DNA, dove Mediator permetteva l'interazione tra enzimi che producevano e utilizzavano acetil-CoA (le acetil-transferasi), per modulare in maniera precisa l'espressione genica (i livelli generali di acetilazione non erano infatti influenzati). Questo a sua volta aveva un forte impatto sui processi cellulari a valle, come il metabolismo e l'espressione genica (i geni della catena respiratoria mitocondriale e i geni della risposta infiammatoria risultavano particolarmente alterati). L'aumento della deposizione di acetil-CoA indotto dalla stimolazione acuta con LPS a livello di specifici siti sul DNA era influenzato in maniera simile dall'inibizione della produzione di NO e dalla



Marta Russo

distruzione del complesso Mediator, indicando che Mediator gioca un ruolo chiave nel portare gli enzimi che producono acetil-CoA al posto giusto e nel momento giusto, per fornire acetil-CoA necessario per la modificazione epigenetica e il

conseguente controllo dell'espressione genica in risposta a specifici stimoli. Altri meccanismi molecolari potrebbero contribuire a regolare finemente questa interazione e i processi a valle.

**Referenza.** Acetyl-CoA production by Mediator-bound 2-ketoacid dehydrogenases boosts de novo histone acetylation and is regulated by nitric oxide. *Marta Russo, Francesco Gualdrini, Veronica Vallelonga, Elena Prosperini, Roberta Noberini, Silvia Pedretti, Carolina Borriero, Pierluigi Di Chiaro, Sara Polletti, Gabriele Imperato, Mattia Marena, Chiara Ghirardi, Fabio Bedin, Alessandro Cuomo, Simona Rodighiero, Tiziana Bonaldi, Nico Mitro, Serena Ghisletti, Gioacchino Natoli.* *Molecular cell* 2024. doi: 10.1016/j.molcel.2023.12.033.



What's new from IEO Researchers?

# Faecalibacterium prausnitzii - un batterio dell'intestino influenza l'insorgenza della recidiva nei pazienti con melanoma avanzato.

Studi precedenti (nel contesto dello studio clinico MIND-DC) hanno mostrato che nei pazienti con melanoma la vaccinazione con cellule dendritiche è un approccio immunoterapico sicuro e in grado di attivare una risposta immunitaria tumore-specifica, inducendo la proliferazione di linfociti T antitumorali. Eppure questi effetti biologici non si traducono in un effettivo beneficio per i pazienti (Kaliñ F Bol et al., Nature Communications 2024. PMID: 38395969), dato che non riescono ad aumentarne la sopravvivenza, suggerendo che potrebbero essere implicati altri fattori.

In un articolo di Carolina Alves Costa Silva, Gianmarco Piccinno –ricercatore nel laboratorio di Nicola Segata–,

Déborah Suissa, Mélanie Bourgin, Gerty Schreibelt, recentemente pubblicato sulla rivista Nature Communications, nell'ambito di una collaborazione internazionale, gli autori, tra cui Nicola Segata –Group Leader del Dipartimento di Oncologia Sperimentale di IEO e professore dell'Università di Trento–, mostrano che la prognosi dei pazienti con melanoma avanzato è associata ad alterazioni del microbiota intestinale e del metabolismo dei pazienti; nello specifico, livelli bassi di *Faecalibacterium prausnitzii* nell'intestino e livelli elevati di acidi grassi nel sangue correlano con una prognosi peggiore, ovvero una minore sopravvivenza in assenza di recidiva.

Gli autori hanno osservato che l'abbondanza di *F. prausnitzii* è inversamente correlata con i livelli di acidi grassi, acidi carbossilici, acilcarnitine nel sangue. Inoltre, considerando insieme il microbioma (nello specifico, la presenza di *F. prausnitzii*) e il metaboloma del sangue è possibile predire la manifestazione della recidiva (indipendentemente dal trattamento con cellule dendritiche).

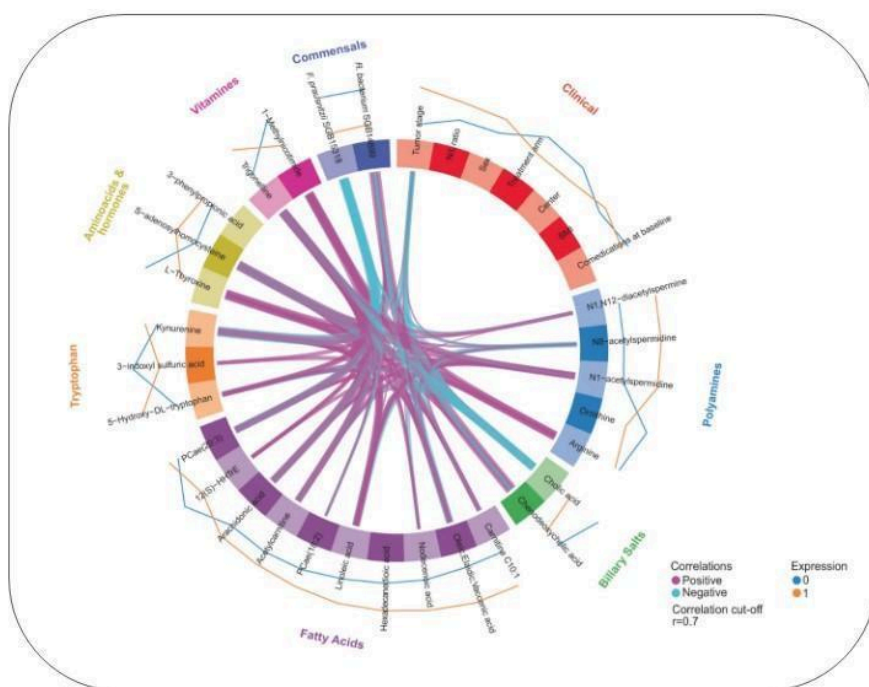


Figure from Alves Costa Silva, C., Piccinno, G., Suissa, D. et al. Nat Commun 2024. \*

*F. prausnitzii* è un batterio del microbiota intestinale legato al corretto funzionamento di un intestino sano. Ha effetti antinfiammatori ed è associato al metabolismo e al sistema immunitario; ad esempio, è stato precedentemente mostrato che *F. prausnitzii* è direttamente coinvolto nel rilascio di molecole anti-infiammatorie da parte delle cellule dendritiche. Inoltre, *F. prausnitzii* influenza l'attività del sistema immunitario e la riprogrammazione del microambiente tumorale in seguito al trattamento con inibitori dei checkpoint immunitari. Alcuni degli effetti della presenza di *F. prausnitzii* potrebbero essere associati ai suoi metaboliti, attraverso la regolazione del metabolismo dei lipidi, che a sua volta influirebbe sulle cellule immunitarie, con un impatto sull'aggressività del melanoma.

I risultati di questo studio evidenziano come i pazienti con melanoma in stadio III con cattiva prognosi abbiano probabilmente delle alterazioni nella composizione del microbiota intestinale e nel metabolismo dei lipidi già al momento della diagnosi; ciò a sua volta avrebbe un impatto sull'attività delle cellule dendritiche e di conseguenza sulla prognosi dei pazienti, indicando l'importanza di valutare lo stato del microbiota e del metaboloma per la stratificazione dei pazienti e quindi per selezionare il trattamento più adeguato.

Nel complesso, questo studio supporta l'ipotesi che le alterazioni sistemiche dell'interazione paziente-microbioma potrebbero essere clinicamente rilevanti, con un potenziale impatto sulla recidiva della malattia.

***“livelli bassi di Faecalibacterium prausnitzii nell'intestino e livelli elevati di acidi grassi nel sangue correlano con una prognosi peggiore, ovvero una minore sopravvivenza in assenza di recidiva”***

Gli autori hanno analizzato la composizione del microbioma intestinale (tramite analisi metagenomica) e il metaboloma del sangue (tramite metabolomica del siero) nei pazienti arruolati nello studio clinico MIND-DC, vaccinati con cellule dendritiche o nel gruppo placebo, prima e dopo la vaccinazione, e hanno valutato l'associazione di determinate specie del microbiota intestinale e dei metaboliti nel sangue con la prognosi del paziente (ovvero, presenza o assenza di recidiva a due anni di follow up).

Le analisi metagenomiche hanno rivelato che mentre il trattamento aveva un impatto minimo sulla composizione del microbioma, l'abbondanza di *F. prausnitzii* correlava con una migliore prognosi, ovvero assenza di recidiva a 2 anni. Le analisi metabolomiche hanno evidenziato delle alterazioni nei livelli di alcuni metaboliti, acidi grassi e aminoacidi coinvolti in infiammazione, stress ossidativo, regolazione del glucosio. In particolare, una maggiore abbondanza di acidi grassi era associata con una prognosi peggiore. Integrando i risultati delle analisi del microbioma con i risultati delle analisi metabolomiche gli autori hanno osservato che, già *prima* della terapia, il livello dei pathway metabolici associati con gli acidi grassi correlava con la recidiva. Analisi dettagliate hanno rivelato che, dal punto di vista del microbiota intestinale, l'elevata

abbondanza di *F. prausnitzii* prima della vaccinazione con cellule dendritiche era clinicamente rilevante; poteva infatti essere usato come predittore prognostico. Dal punto di vista del metaboloma, aminoacidi, acidi grassi, poliamine e acilcarnitine, il metabolismo del triptofano e la vitamina B3 erano anch'essi prognostici.

È interessante sottolineare che, tra i pazienti che avevano ricevuto la vaccinazione con cellule dendritiche, quelli che avevano una maggiore abbondanza di *F. prausnitzii* e bassi livelli di acilcarnitine mostravano una sopravvivenza più lunga in assenza di recidiva.

Da notare, i risultati delle loro analisi metagenomiche e metabolomiche, evidenziando delle differenze già *prima* del trattamento (in particolare, una maggior abbondanza di *F. prausnitzii*), indicano l'esistenza di un bias, nonostante la randomizzazione, nelle due coorti di pazienti dello studio clinico MIND-DC -che potrebbe spiegare il fallimento del clinical trial- e indicano l'importanza di tenere in considerazione microbioma/metaboloma in studi futuri volti a testare l'efficacia antitumorale della vaccinazione con cellule dendritiche. Inoltre, i loro risultati supportano l'associazione del microbiota intestinale con l'esito della terapia, che merita certamente studi ulteriori.

**Referenza.** Influence of microbiota-associated metabolic reprogramming on clinical outcome in patients with melanoma from the randomized adjuvant dendritic cell-based MIND-DC trial. *Carolina Alves Costa Silva, Gianmarco Piccinno, Déborah Suissa, Mélanie Bourgin, Gerty Schreibelt, Sylvère Durand, Roxanne Birebent, Marine Fidelle, Cissé Sow, Fanny Aprahamian, Paolo Manghi, Michal Punčochář, Francesco Asnicar, Federica Pinto, Federica Armanini, Safae Terrisse, Bertrand Routy, Damien Drubay, Alexander M. M. Eggermont, Guido Kroemer, Nicola Segata, Laurence Zitvogel, Lisa Derosa, Kalijn F. Bol & I. Jolanda M. de Vries.* Nature communications, 2024. doi: 10.1038/s41467-024-45357-1.

\* Figure from *Alves Costa Silva, C., Piccinno, G., Suissa, D. et al., an open access [article](#) under the [CC BY](#) license.*

What's new from IEO Researchers?

# Il microbiota intestinale - marcatore e target per potenziare gli effetti dell'immunoterapia nei pazienti con melanoma in stadio avanzato.

Nonostante l'innegabile successo dell'immunoterapia con inibitori dei checkpoint immunitari (ICB), non tutti i pazienti rispondono al trattamento. E' stato precedentemente mostrato il ruolo chiave del microbioma intestinale nella risposta alla terapia e, infatti, sono in corso numerosi studi clinici volti ad approfondire gli effetti della manipolazione del microbioma intestinale. Esistono delle particolari specie del microbiota che potrebbero essere usate come biomarcatori, in grado di predire l'efficacia della terapia? Inoltre, il microbioma cambia durante il trattamento con ICB? Se sì, in che modo? Una risposta a queste domande fornirebbe ai medici un maggiore controllo sull'evoluzione della malattia e sull'esito del trattamento, consentendo così di "personalizzare le cure", ovvero selezionare il trattamento più adeguato e identificare i pazienti con maggiori probabilità di beneficiare dell'immunoterapia. A questo scopo, in un articolo recente pubblicato sulla rivista Nature Medicine, nell'ambito di una collaborazione internazionale, gli autori, tra cui Nicola Segata e Luigi Nezi –entrambi Group Leader al dipartimento di oncologia sperimentale di IEO– e Sabrina Tamburini –ricercatrice IEO–,

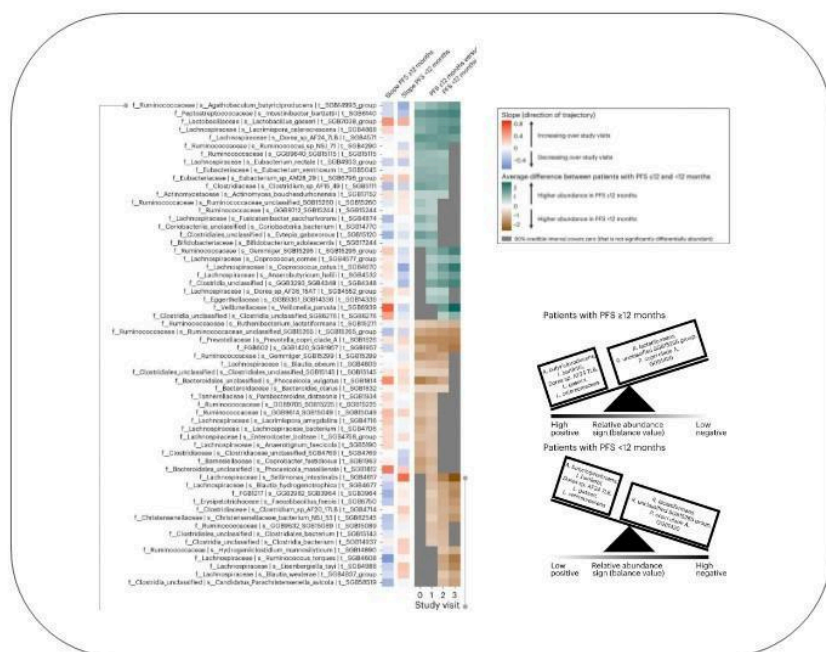


Figure from Björk, Bolte et al., Nat Med 2024.\*

hanno caratterizzato (tramite shotgun metagenomics e analisi successive sfruttando lo strumento computazionale MetaPhlan4) il microbioma intestinale di 175 pazienti con melanoma avanzato che hanno ricevuto immunoterapia con ICB. Con queste analisi hanno definito tutti i cambiamenti nel microbioma –in termini di abbondanza delle diverse specie microbiche che compongono il microbiota intestinale–, da prima del trattamento e per l'intera durata della terapia, su un periodo di 12 settimane, identificando le specie la cui abbondanza relativa è in grado di predire la

**“Esistono delle particolari specie del microbiota che potrebbero essere usate come biomarcatori, in grado di predire l'efficacia della terapia? Il microbioma cambia durante il trattamento con ICB? Se sì, in che modo?”**

risposta alla terapia e rivelando il modo in cui il microbioma si modifica in seguito alla terapia.

Gli autori hanno osservato che nei pazienti che rispondevano al trattamento con ICB, già prima della terapia il microbiota intestinale era ricco di

***“caratterizzando il microbioma intestinale di 175 pazienti con melanoma avanzato che hanno ricevuto immunoterapia con ICB, hanno definito i cambiamenti nel microbioma -in termini di abbondanza delle diverse specie microbiche che compongono il microbiota intestinale- da prima del trattamento e per l'intera durata della terapia, identificando le specie la cui abbondanza relativa è in grado di predire la risposta alla terapia e rivelando il modo in cui il microbioma si modifica in seguito alla terapia”***

specie coinvolte nella sintesi degli acidi grassi a catena corta (short chain fatty acid, SCFA) ed era caratterizzato dall'attivazione dei pathway metabolici microbici coinvolti nella sintesi di SCFA, suggerendo che i SCFA derivanti dal microbiota potrebbero migliorare l'esito del trattamento in pazienti trattati con terapia con ICB.

Al contrario, nei pazienti in cui la risposta al trattamento era limitata, gli autori hanno osservato un aumento dell'attivazione dei pathway metabolici microbici coinvolti nella sintesi di vitamina K, che sono noti essere correlati a malattie cardiovascolari e infiammazione cronica e sono stati precedentemente associati a due specie del microbiota la cui abbondanza può essere modificata attraverso la dieta, suggerendo, innanzitutto, che la vitamina K rappresenti un marcatore precoce di non risposta al trattamento con ICB, ma anche un fattore modificabile attraverso la dieta al fine di aumentare l'efficacia della terapia con ICB.

Inoltre, analizzando in dettaglio i cambiamenti del microbioma intestinale dopo l'inizio della terapia, gli autori hanno riscontrato un aumento, nei pazienti che mostravano una buona risposta alla terapia, dell'abbondanza di specie associate alla sintesi di SCFA. Al contrario, nei pazienti in cui la risposta era limitata, in seguito al trattamento con ICB il microbioma intestinale risultava più ricco di specie precedentemente associate con resistenza alla terapia e tumori più aggressivi.

I loro risultati indicano quindi che la composizione del microbiota dovrebbe essere tenuta in considerazione non solo per la prognosi

dei pazienti, ma anche per selezionare il miglior approccio di trattamento e, nel complesso, intervenire sulla composizione del microbioma a scopo terapeutico. E' importante sottolineare che i loro risultati dimostrano che il trattamento

immunoterapico modifica la composizione del microbioma in modo diverso nei due gruppi di pazienti (ovvero in quelli che rispondono meglio rispetto a quelli che mostrano una risposta limitata alla terapia), indicando che il comportamento dinamico del microbioma dovrebbe essere considerato al momento di disegnare studi clinici volti a

migliorare l'esito della terapia attraverso la modulazione attiva del microbioma e che la sola presenza di determinate specie prima del trattamento non è sufficiente. Le loro analisi hanno identificato diverse specie probabilmente attivamente coinvolte nella risposta alla terapia, che potrebbero essere facilmente manipolate attraverso la dieta.

Diversi studi indicano il ruolo chiave del microbiota nella fisiologia umana e in contesti patologici, così come nell'esito della terapia. Il cancro è certamente una di quelle. Da un lato, diversi risultati preclinici e clinici -inclusi quelli

***“Da un lato, diversi risultati preclinici e clinici -inclusi quelli riportati in questo lavoro- sottolineano che il microbiota è profondamente influenzato da diversi fattori; dall'altro, diversi studi clinici hanno mostrato gli effetti benefici del trapianto di microbiota fecale, sottolineando il ruolo attivo del microbiota nel ripristinare le condizioni fisiologiche e nel potenziare la risposta dei pazienti a immunoterapia. Sebbene i meccanismi implicati siano poco noti, gli effetti osservati sono innegabili.”***

riportati in questo lavoro- sottolineano che il microbiota è profondamente influenzato da diversi fattori (come l'utilizzo di antibiotici o farmaci); dall'altro, diversi studi clinici hanno mostrato gli effetti benefici del trapianto di microbiota fecale, sottolineando il ruolo attivo del microbiota nel ripristinare le condizioni fisiologiche e nel potenziare la risposta dei pazienti a immunoterapia.

Sebbene i meccanismi implicati siano poco noti, e oggetto di intensi studi, gli effetti osservati sono innegabili. Definire il complesso ecosistema del microbiota intestinale e identificare le singole

specie coinvolte -che siano esse influenzate o responsabili degli effetti osservati- è certamente il

primo passo verso la piena comprensione dell'intero processo.

**Referenza.** Longitudinal gut microbiome changes in immune checkpoint blockade-treated advanced melanoma. *Johannes R Björk#, Laura A Bolte#, Andrew Maltez Thomas, Karla A Lee, Niccolo Rossi, Thijs T Wind, Lotte M Smit, Federica Armanini, Francesco Asnicar, Aitor Blanco-Miguez, Ruth Board, Neus Calbet-Llopart, Lisa Derosa, Nathalie Dhomen, Kelly Brooks, Mark Harland, Mark Harries, Paul Lorigan, Paolo Manghi, Richard Marais, Julia Newton-Bishop, Luigi Nezi, Federica Pinto, Miriam Potrony, Susana Puig, Patricio Serra-Bellver, Heather M Shaw, Sabrina Tamburini, Sara Valpione, Levi Waldron, Laurence Zitvogel, Moreno Zolfo, Elisabeth G E de Vries, Paul Nathan, Rudolf S N Fehrmann, Tim D Spector, Véronique Bataille, Nicola Segata, Geke A P Hospers, Rinse K Weersma.* Nat Med 2024. doi: 10.1038/s41591-024-02803-3.

\*Figure from Björk, Bolte et al., an open access [article](#) under the [CC BY](#) license.

What's new from IEO Researchers?

# Microstyle: uno studio clinico IEO-DEO per valutare se cambiamenti dello stile di vita influenzano la composizione del microbioma intestinale, l'efficacia e la tossicità della radioterapia.

L'opzione terapeutica, non chirurgica, del tumore alla prostata consiste nella radioterapia.

Nonostante l'uso di approcci avanzati come la radioterapia ad intensità modulata, il trattamento radioterapico si accompagna a tossicità, come ad esempio malessere associato al tratto gastrointestinale e perdita di peso, con conseguenze sulla qualità di vita dei pazienti. Lo stato nutrizionale dei pazienti con tumore prostatico dipende dalle caratteristiche del paziente, co-morbilità ed età avanzata. Studi precedenti indicano un'interazione bidirezionale tra microbiota intestinale e radioterapia, che può ad esempio essere sfruttata per predire la tossicità e la qualità di vita. La radioterapia potrebbe influenzare la composizione del microbiota intestinale, eliminando specie "benefiche"; inoltre, una maggiore diversità prima del trattamento, in termini di specie microbiche nell'intestino, potrebbe correlare con la tossicità.

Sulla base delle evidenze scientifiche disponibili, i ricercatori e i clinici IEO coordinati da Sara Gandini, PI del dipartimento di Oncologia

Sperimentale di IEO, Giulia Marvaso –co-PI dello studio e ricercatrice della Divisione di Radioterapia guidata da Barbara Alicja Jereczek–

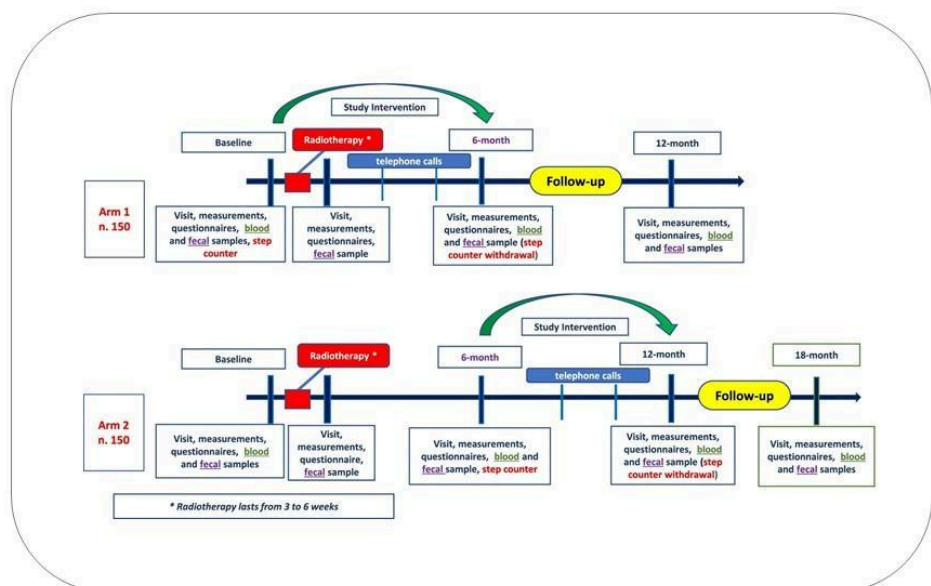


Figure from Gnagnarella, Marvaso et al., BMC Cancer 2022.\*

e Patrizia Gnagnarella –Ricercatrice IEO– hanno disegnato uno studio clinico -Microstyle-, finanziato dal Ministero Italiano della Salute, ottenendo un grant di Ricerca Finalizzata, volto a valutare se un cambiamento dello stile di vita, sulla base di consigli nutrizionali e attività fisica, abbia un effetto sul microbiota intestinale e sulla tossicità associata alla radioterapia, influenzando di conseguenza la qualità di vita dei pazienti con tumore alla prostata; in altre parole, **una specifica dieta combinata con esercizio fisico regolare influenzano la tossicità e l'efficacia**

### **della radioterapia alterando il microbiota intestinale?**

Microstyle è uno studio multicentrico. La fase di reclutamento dei pazienti, condotta in due centri, a Milano (IEO) e a Napoli (Cancer Institute, “Fondazione G. Pascale”) è conclusa. Prima di tutto, i ricercatori valuteranno se modificando attivamente la dieta è possibile influenzare l'efficacia della radioterapia e la tossicità associata in pazienti con tumore alla prostata non metastatico, inducendo alterazioni del microbioma, in termini di alpha diversity (ovvero, numero di taxa in un dato campione) e beta diversity (ovvero differenze, in termini di tipi di taxa, tra i campioni). Inoltre, valuteranno i meccanismi biomolecolari coinvolti, analizzando biomarcatori metabolici e infiammatori nel sangue. I pazienti arruolati sono stati casualmente suddivisi in due gruppi: un gruppo si è attenuto ad uno stile di vita controllato (ovvero una dieta specifica e attività fisica regolare) durante la radioterapia e ha continuato per un periodo di sei mesi. Questo gruppo è seguito per altri sei mesi. Il secondo gruppo di pazienti ha iniziato a seguire uno stile di vita controllato sei mesi dopo aver ricevuto il trattamento radioterapico ed è seguito per un periodo ulteriore di sei mesi. Il design di questo studio consente di analizzare gli effetti di queste variazioni dello stile di vita in pazienti che, dopo la radioterapia, hanno ricostituito il loro microbioma rispetto a quelli che ancora subiscono effetti collaterali associati al trattamento e allo stesso tempo permette di analizzare l'associazione con effetti collaterali della radioterapia e qualità di vita. Il design innovativo del clinical trial Microstyle prevede un

cambiamento nel regime dietetico e nell'attività fisica sulla base di linee guida nazionali e un counseling –con un approccio di ascolto motivazionale, empatico–, sia per aumentare l'efficacia che per attenuare gli effetti collaterali associati al trattamento, migliorando di conseguenza la qualità di vita.

L'attività fisica e la dieta alterano la composizione del microbiota intestinale nei pazienti con tumore alla prostata sottoposti a radioterapia? L'attività fisica e la dieta rafforzano l'attività del sistema immunitario nei pazienti con tumore alla prostata sottoposti a radioterapia? L'attività fisica e la dieta influenzano il profilo infiammatorio –cioè, riducono il numero di molecole infiammatorie nel sangue–, creando di conseguenza un microambiente meno pro-tumorale? Lo studio clinico Microstyle aiuterà a rispondere a queste domande e chiarire il potenziale ruolo del microbioma intestinale come anello di giunzione tra dieta, attività del sistema immunitario, tossicità ed efficacia della radioterapia, rivelando –con una risoluzione molecolare– in che modo

***“Lo studio clinico Microstyle aiuterà a chiarire il potenziale ruolo del microbioma intestinale come anello di giunzione tra dieta, attività del sistema immunitario, tossicità ed efficacia della radioterapia, rivelando -con una risoluzione molecolare- in che modo questi fattori interagiscono e verosimilmente si influenzano a vicenda, e valutando il potenziale del microbiota come target di interventi terapeutici mirati per migliorare la qualità di vita dei pazienti ed in ultimo la risposta al trattamento”***

questi fattori interagiscono e verosimilmente si influenzano a vicenda, valutando così il potenziale del microbiota come target di interventi terapeutici mirati per migliorare la qualità di vita dei pazienti e, in ultimo, la risposta al trattamento.

**Referenza.** Life style and interaction with microbiota in prostate cancer patients undergoing radiotherapy: study protocol for a randomized controlled trial. *Patrizia Gnagnarella#, Giulia Marvaso#, Barbara Alicja Jereczek-Fossa, Ottavio de Cobelli, Maria Claudia Simoncini, Luiz Felipe Nevola Teixeira, Annarita Sabbatini, Gabriella Pravettoni, Harriet Johansson, Luigi Nezi, Paolo Muto, Valentina Borzillo, Egidio Celentano, Anna Crispo, Monica Pinto, Ernesta Cavalcanti, Sara Gandini; MicroStyle Collaborative Group.* BMC Cancer 2022. doi: 10.1186/s12885-022-09521-4.

\*Figure from Gnagnarella, Marvaso et al., an open access [article](#) under the [CC BY](#) license.



What's new from IEO Researchers?

## La stretta interazione tra ricerca fondamentale e clinica per la caratterizzazione dei tumori testa-collo.

Il progetto INTERCEPTOR è stato finanziato nel 2022 nel contesto della *European Cooperation in Science and Technology (COST)* call, con il fine ultimo di disegnare approcci personalizzati per la prevenzione e la cura dei pazienti con lesioni del cavo orale a rischio di evoluzione in tumori maligni. COST finanzia reti di ricerca interdisciplinari per permettere l'interazione tra professionisti e promuovere lo scambio di expertise.

INTERCEPTOR è coordinato da Pierre Saintigny, medico del Centre Léon Bérard di Lione- e



Susanna Chiocca

Susanna Chiocca, Direttrice dell'unità "Viruses and cancer" al dipartimento di oncologia sperimentale di IEO, è Principal investigator IEO e parte del Management Committee. Uno dei problemi principali nella gestione

clinica dei pazienti con lesioni del cavo orale che potrebbero evolvere in lesioni maligne è la loro estrema eterogeneità, che richiede un'accurata valutazione clinico-patologica e spesso un monitoraggio su lunghi periodi. Al fine di assicurare un approccio terapeutico adeguato a tutti i pazienti, che sia allo stesso tempo efficace, ma eviti un sovra-trattamento non necessario, con conseguente miglioramento della qualità di vita, è necessaria l'identificazione di biomarcatori

molecolari o istologici di malattia. A questo riguardo, nell'ambito di questo progetto, sulla base di una stretta collaborazione tra il dipartimento di oncologia sperimentale (DEO), con l'unità "Viruses and Cancer" diretta da Susanna Chiocca, e l'IEO ospedale, con il Programma



Mohssen Ansarin

Cervico-Facciale diretto da Mohssen Ansarin, i ricercatori si pongono l'obiettivo di definire procedure standardizzate per la raccolta dei campioni ed effettuare una caratterizzazione approfondita di lesioni del cavo orale che potrebbero evolvere in tumori maligni, al fine di identificare e validare dei nuovi biomarcatori. La fruttuosa collaborazione tra Susanna Chiocca al DEO e Mohssen Ansarin in IEO è iniziata nel 2011, fortemente incoraggiata da Fausto Chiesa –precedente direttore della Divisione di Otorinolaringoiatria e chirurgia cervico-facciale–, con la creazione del consorzio [HPV-AHEAD](#) (*Role of human papillomavirus infection and other co-factors in the etiology of head and neck cancer in Europe and India*). All'interno di questo consorzio, scienziati DEO e IEO hanno effettuato lo studio più esteso e completo volto a valutare il ruolo dell'infezione da papilloma virus umano (HPV) -uno dei principali fattori di rischio- nell'insorgenza del tumore testa-collo (HNC) e

*“sulla base di una stretta collaborazione tra il dipartimento di oncologia sperimentale, con l’unità “Viruses and Cancer” diretta da Susanna Chiocca, e l’IEO ospedale, con il Programma Cervico-Facciale diretto da Mohssen Ansarin, i ricercatori si pongono l’obiettivo di definire procedure standardizzate per la raccolta dei campioni ed effettuare una caratterizzazione approfondita di lesioni del cavo orale che potrebbero evolvere in tumori maligni, al fine di identificare e validare dei nuovi biomarcatori”*

nella sua evoluzione in Italia, con implicazioni per la gestione clinica di questi pazienti (vedi DEO newsletter 019).

Successivamente, Susanna Chiocca e Mohssen Ansarin hanno consolidato la loro collaborazione e, nel contesto del consorzio [HEADLAcE](#) (*Biomarkers of Head and Neck Cancer in Latin America and Europe*), hanno ricevuto un finanziamento per la caratterizzazione molecolare e clinica dei campioni HNC, così da offrire strumenti utili in ambito clinico. Sebbene

piuttosto differenti dal punto di vista molecolare e clinico, con diversa prognosi e risposta alla terapia, i tumori HNC HPV-positivi e HPV-negativi, sono trattati essenzialmente allo stesso modo. Nell’ambito di una collaborazione tra i gruppi di ricerca di diversi paesi europei e sudamericani, il consorzio HEADLAcE ha evidenziato la prevalenza dell’infezione HPV in diversi sottotipi di HNC (ovvero tumori orofaringei rispetto ai tumori

della cavità orale e della laringe) e in diverse aree geografiche.

Attraverso la stretta collaborazione tra ricercatori di laboratorio e clinici, e il continuo scambio di expertise, nel contesto di ampi network internazionali, la caratterizzazione molecolare approfondita dei HNC permetterà in un futuro prossimo un trattamento più accurato dei pazienti.

*What's new from IEO Researchers?*

## Identificare nuovi biomarcatori per un trattamento personalizzato del tumore ovarico: il progetto OVA-PDM.

Gli inibitori di PARP (bloccando il sistema cellulare coinvolto nel riparo delle rotture a singola elica del DNA) sono efficaci nel trattamento di pazienti con tumori caratterizzati da un sistema di riparo del DNA non funzionante (*homologous recombination deficiency* –HRD– responsabile, nello specifico, del riparo delle rotture a doppia elica del DNA), esacerbando ulteriormente una condizione di stress cellulare associata all'accumulo di danno al DNA non riparato. Eppure, sebbene ci si aspetti che le pazienti con un sistema non funzionante del riparo del DNA rispondano agli inibitori di PARP, studi precedenti hanno mostrato che, da un lato, anche le pazienti con un sistema funzionante del riparo del DNA rispondono agli inibitori di PARP e, dall'altro, diverse pazienti con un sistema di riparo del DNA non funzionante non rispondono. Quindi, per poter personalizzare in maniera appropriata l'approccio terapeutico sono necessari dei biomarcatori di risposta al trattamento nuovi e più efficienti, che permettano di predire quali pazienti beneficeranno del trattamento con inibitori di PARP, evitando allo stesso tempo la tossicità nelle pazienti che non risponderanno alla terapia.

Nel contesto di una collaborazione internazionale, Ugo Cavallaro coordinerà un progetto volto all'identificazione di nuovi biomarcatori di risposta agli inibitori di PARP nelle pazienti con tumore ovarico, impiegando modelli tumorali *in vitro* di ultima generazione derivati da pazienti.

In linea con una delle principali caratteristiche della ricerca in IEO, integrando ricerca orientata alla definizione di meccanismi molecolari, ricerca traslazionale e ricerca clinica in un flusso continuo, in cui gli studi biologici sono disegnati per rispondere a specifiche domande cliniche e i nuovi approcci terapeutici sono radicati nei



*Ugo Cavallaro*

meccanismi biomolecolari di malattia, il progetto OVA-PDM sfrutterà approcci tecnologici di ultima generazione per identificare nuovi biomarcatori predittivi di risposta, al fine di consentire una più efficiente gestione delle pazienti con tumore ovarico, permettendo di selezionare l'opzione terapeutica più appropriata.

Il progetto capitalizzerà sulla sinergia tra il gruppo di ricerca di Ugo Cavallaro, con solida esperienza nell'ambito dei modelli tumorali di tumore ovarico, il Programma di Ginecologia di IEO guidato da Nicoletta Colombo, che offrirà l'accesso ai campioni chirurgici ed expertise clinica, e l'Unità di Ricerca Applicata per le

Scienze Psicologiche e Cognitive diretta da Gabriella Pravettoni, per la creazione di materiale informativo personalizzato per le pazienti. Il team sarà così in grado di valutare le implicazioni dei nuovi modelli predittivi basati sui nuovi potenziali biomarcatori. Mediante la collaborazione con i gruppi di ricerca in Spagna, Germania e Danimarca, ciò consentirà di identificare nuovi biomarcatori di risposta al trattamento e potenzialmente nuovi target terapeutici.

Ugo Cavallaro e il suo team sfrutteranno protocolli già messi a punto e validati nel suo laboratorio per isolare e far crescere in coltura cellule di tumore ovarico e omentali dai tessuti

derivati dalle pazienti. Questi modelli cellulari permettono di conservare sia l'eterogeneità intrinseca delle cellule tumorali, sia

l'interazione con –e quindi gli effetti del– microambiente tumorale. Analisi dell'espressione genica e del profilo di fosforilazione proteica di queste colture organotipiche derivate da pazienti permetterà di identificare i pathway molecolari in grado di distinguere le pazienti che risponderanno al trattamento da quelle che non risponderanno. I candidati biomarcatori identificati con questo approccio saranno validati sia in un contesto preclinico, attraverso approcci funzionali, sia clinicamente, impiegando dataset esistenti di pazienti.

“Questo studio –spiega Cavallaro– ha le sue radici in una collaborazione iniziata qualche anno fa con il gruppo di Ernst Lengyel, un ginecologo

oncologo dell'Università di Chicago che per primo aveva messo a punto la metodica per il modello organotipico. In quel caso il modello era basato su linee cellulari tumorali, di conseguenza con una rilevanza clinica non ottimale. Per ovviare al problema, ci siamo avvalsi della produttiva collaborazione che si è instaurata negli anni tra il nostro gruppo e lo staff clinico del Programma di Ginecologia IEO e con la Biobanca, nonché della cooperazione delle tante pazienti attraverso il consenso alla donazione dei tessuti per la ricerca. Queste interazioni ci garantiscono l'accesso regolare ai campioni clinici, sui quali abbiamo capitalizzato per costruire modelli organotipici

totalmente

derivanti dalle pazienti, pertanto molto più vicini alla malattia reale rispetto alla versione originale.

Già nei nostri

studi precedenti al progetto OVA-PDM, questo approccio ci ha dato modo di identificare meccanismi molecolari alla base del carcinoma ovarico (e potenziali bersagli terapeutici) che non erano emersi dall'analisi di modelli meno sofisticati e rappresentativi. Si tratta –conclude Cavallaro– di un chiaro esempio di come l'integrazione tra ricerca di base e attività clinica, unita al coinvolgimento delle pazienti, possa portare a progressi significativi non solo nell'ambito della conoscenza ma soprattutto nella prospettiva di migliorare la prognosi e la qualità di vita di chi è affetto da patologie gravi quali il tumore ovarico”.

*“questi modelli cellulari permettono di conservare sia l'eterogeneità intrinseca delle cellule tumorali, sia l'interazione con -e quindi gli effetti del- microambiente tumorale”*

*What's new from IEO Researchers?*

## “Avatar” di pazienti per predire la risposta alla terapia – lo studio clinico/traslazionale IOLANTHE.

Sebbene un'elevata percentuale di pazienti (circa l'80%) con tumore ovarico risponda bene all'approccio terapeutico standard, molte di loro vanno incontro a recidiva. La recidiva è dovuta alla presenza di sottopopolazioni di cellule neoplastiche, all'interno della massa tumorale, in grado di sopravvivere al trattamento –attraverso meccanismi cellulari intrinseci o indotti dal microambiente– e, al termine della terapia, alimentare la ricrescita del tumore. Queste cellule sono chiamate cellule staminali tumorali.



*Chiara Battistini*

Nel contesto di uno studio clinico di fase IIIB-IV, prospettico, multicentrico –che coinvolge diverse istituzioni italiane tra cui l'Istituto Mario Negri, l'università Sapienza, Humanitas Research Hospital e IEO–, volto a confermare l'efficacia della terapia di mantenimento con l'inibitore di PARP olaparib in combinazione con l'agente anti-angiogenico bevacizumab in pazienti con tumore ovarico caratterizzato da un sistema di riparo del DNA non pienamente funzionante (tumori HRD), Ugo Cavallaro –PI del dipartimento di oncologia sperimentale di IEO– condurrà uno studio traslazionale per testare l'utilizzo di colture ex vivo di cellule tumorali derivanti dalle pazienti come “avatar” per identificare le pazienti che risponderanno alla terapia combinata olaparib+bevacizumab e per confrontare la risposta alla terapia delle cellule staminali tumorali rispetto alle cellule tumorali non

staminali. Come risultato di una collaborazione tra clinici e ricercatori, lo studio IOLANTHE includerà una componente clinica e due studi traslazionali paralleli. IEO sarà attivamente coinvolto sia nella ricerca clinica –con la collaborazione del Programma di Ginecologia guidato da Nicoletta Colombo– che in quella traslazionale –attraverso la ricerca condotta dal gruppo di Ugo Cavallaro al dipartimento di oncologia sperimentale. IOLANTHE è un'iniziativa di YMaGiNe (Young MaNGO Gynecologic Network), un network di giovani ricercatori del gruppo italiano sul tumore ovarico “MaNGO” (Mario Negri Gynecological Oncology). Infatti, in IEO lo studio sarà condotto da Silvia Derio per la parte clinica e Chiara Battistini (nel gruppo Cavallaro) per la parte traslazionale. Nei tumori HRD (come i tumori con mutazioni dei geni BRCA1/2), olaparib rappresenta una valida opzione terapeutica. Olaparib è un inibitore di PARP –elemento chiave del sistema di riparo del DNA–; in cellule HRD in cui, per via di specifiche mutazioni, il DNA danneggiato non viene propriamente riparato, il trattamento con olaparib porta all'accumulo di danno al DNA, che diventa letale, determinando la morte delle cellule tumorali. Lo studio clinico IOLANTHE è volto a confermare, in condizioni “real world” (ovvero senza alcuna pre-selezione dei pazienti inclusi nello studio), l'efficacia di olaparib+bevacizumab nel



*Silvia Derio*

trattamento del tumore ovarico, definendo le specifiche caratteristiche cliniche e demografiche delle pazienti che meglio rispondono alla terapia.

Uno dei due studi traslazionali, condotto in Humanitas, testerà la possibilità di sfruttare il *next generation sequencing* su biopsia liquida in ambito clinico per la prognosi delle pazienti e il monitoraggio della progressione del tumore.

In parallelo, il gruppo di Ugo Cavallaro sfrutterà degli “avatar” per testare l’efficacia del trattamento.

Un avatar è la “rappresentazione” virtuale di una persona, generato sulla base delle caratteristiche principali che descrivono e definiscono questa persona. Oggi siamo abituati a vedere gli avatar su internet, per rappresentare un utente nel mondo virtuale. Le colture di tumore ovarico derivanti da pazienti, ricapitolando le

*“questo studio consentirà di validare l’approccio basato sull’uso di colture umane di tumore ovarico –gli avatar– per predire la risposta delle pazienti ad una data terapia, attraverso un saggio di facile utilizzo, sfruttabile in ambito clinico”*

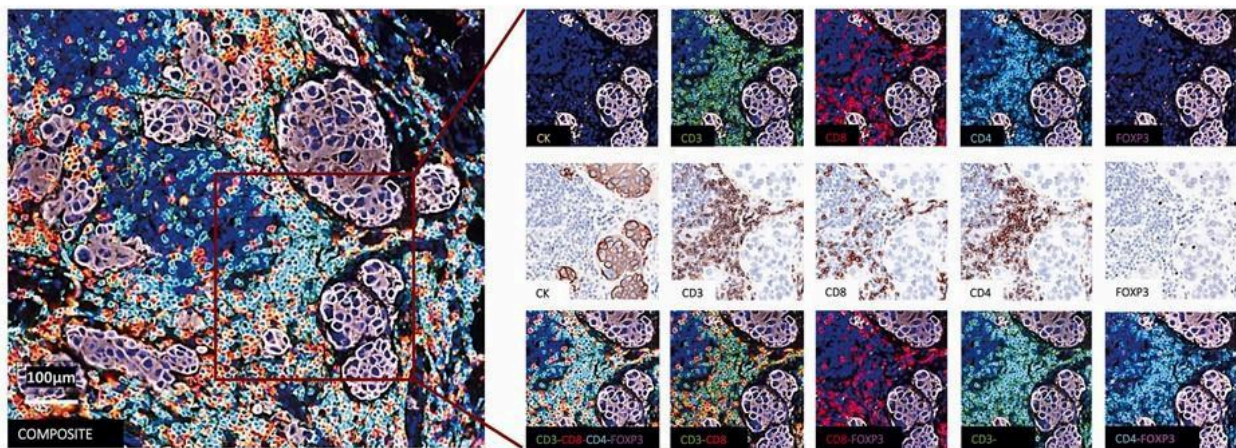
caratteristiche del tumore della paziente da cui derivano –l’eterogeneità tumorale e le proprietà del microambiente tumorale–, sono degli “avatar” dei tumori: nell’ambito dello studio IOLANTHE, le colture (“modelli organotipici”) di tumore ovarico derivanti dalle pazienti saranno generate secondo protocolli messi a punto e validati nel laboratorio di Ugo Cavallaro. La risposta dei modelli “avatar” al trattamento con olaparib e bevacizumab sarà confrontata

con la risposta delle pazienti sottoposte allo stesso trattamento.

Questo studio consentirà di validare l’approccio basato sull’uso di colture umane di tumore ovarico –gli avatar– per predire la risposta delle pazienti ad una data terapia, attraverso un saggio di facile utilizzo, sfruttabile in ambito clinico.

*What's new from IEO Researchers?*

# Le cellule immunitarie intratumorali come biomarcatori prognostici: un passo avanti verso l'immuno-oncologia di precisione.



*Figure from S Rusakiewicz et al., Eur J Cancer 2024.\**

Il tumore al seno triplo-negativo (TNBC) è il sottotipo più aggressivo ed è definito dalla contemporanea perdita di espressione delle proteine ER, PgR, HER2. Questo sottotipo di tumore è caratterizzato dall'elevata abbondanza di cellule immunitarie -i cosiddetti "linfociti infiltranti il tumore"- ed un'elevata espressione della proteina PDL1 (un target frequente di immunoterapia tramite anticorpi). Per questo il TNBC è considerato un candidato ideale per approcci di immunoterapia che, modulando il sistema immunitario, si sono rivelati efficaci nel trattamento di diversi tipi di tumore.

Nel contesto dello studio clinico IBCSG 22-00, in un articolo recentemente pubblicato sulla rivista *European Journal of Cancer*, grazie ad una collaborazione tra IEO, Harvard e l'Università di Losanna, gli autori hanno caratterizzato, con una risoluzione spaziale, le cellule immunitarie all'interno della massa tumorale, identificando specifici sottotipi di cellule immunitarie con valore prognostico, associate cioè con una ridotta "sopravvivenza in assenza di recidiva distante", ovvero un ridotto rischio di insorgenza di metastasi in altri organi.

I biomarcatori sono parte integrante dell'oncologia di precisione; il campo di ricerca sui biomarcatori è infatti in rapida espansione.

L'identificazione di nuovi fattori per la diagnosi della malattia, il monitoraggio o la prognosi, è fondamentale

***"I biomarcatori sono parte integrante dell'oncologia di precisione; il campo di ricerca sui biomarcatori è infatti in rapida espansione. L'identificazione di nuovi fattori per la diagnosi della malattia, il monitoraggio o la prognosi, è fondamentale per guidare le scelte di trattamento. Questo studio supporta ulteriormente l'inclusione sistematica, nella routine clinica, della valutazione dell'abbondanza intratumorale di cellule immunitarie, per informare i clinici e guidarli nella scelta dell'opzione di trattamento più adatta, consentendo così un passo ulteriore verso la realizzazione della medicina di precisione in ambito oncologico"***

per guidare le scelte di trattamento. Sebbene diversi lavori suggeriscano un'associazione tra l'abbondanza di cellule immunitarie all'interno della massa tumorale e la prognosi del paziente, la valutazione della loro presenza non è inclusa nel percorso diagnostico di routine, pur essendo un biomarcatore relativamente non costoso. Questo studio supporta ulteriormente l'inclusione sistematica della valutazione dell'abbondanza intratumorale di cellule immunitarie nella routine clinica, per informare i clinici e guidarli nella scelta dell'opzione di trattamento più adatta, consentendo così un passo ulteriore verso la realizzazione della medicina di precisione in ambito oncologico.

Questi dati suggeriscono inoltre che dosi basse del farmaco ciclofosfamide, interferendo selettivamente con specifiche sottopopolazioni di linfociti T all'interno della massa tumorale, potrebbero permettere un controllo maggiore, attraverso la regolazione del sistema immunitario, della progressione del tumore.

---

IBCSG 22-00 era uno studio clinico volto a valutare l'efficacia della somministrazione combinata di ciclofosfamide -che agisce sopprimendo l'attività del sistema immunitario- e metotrexato -un farmaco antimetabolita, anch'esso in grado di ridurre l'attività del sistema immunitario- sottoforma di terapia metronomica -ovvero a dosi più basse, ma per un periodo di tempo più lungo- come terapia adiuvante di mantenimento dopo la chirurgia, in aggiunta alla chemioterapia. Lo studio IBCSG ha già mostrato che nei pazienti che ricevevano terapia metronomica con ciclofosfamide e metotrexato e che avevano un gran numero di linfociti all'interno della massa tumorale, si osservava una maggiore riduzione della massa tumorale.

In questo lavoro, gli autori hanno effettuato un'analisi ulteriore, sfruttando un approccio di immunofluorescenza multiplex, che permette di visualizzare contemporaneamente sei diversi marcatori proteici all'interno della sezione tumorale, consentendo così l'identificazione di diversi tipi di cellule immunitarie.

Analizzando 204 sezioni di tumore primario, innanzi tutto hanno osservato, in linea con risultati precedenti, che una generale elevata abbondanza di cellule immunitarie all'interno della massa del tumore primario era associata ad una maggiore sopravvivenza in assenza di recidiva distante (*Distant Recurrence-Free Interval*, DRFI) in tutti i pazienti, ma soprattutto, indipendentemente dal trattamento, nei pazienti LN-positivi (ovvero i 127 pazienti in cui gli esami hanno rivelato la presenza di cellule tumorali a livello dei linfonodi, indicando che il tumore si era diffuso oltre la massa del tumore primario). Inoltre, sebbene siano necessarie analisi ulteriori

in popolazioni più ampie di pazienti, i loro risultati suggeriscono che il trattamento con ciclofosfamide e metotrexato contribuisca ad aumentare il numero di cellule immunitarie intratumorali nei pazienti LN-negativi (ovvero i 77 pazienti in cui gli esami *non* hanno rivelato la presenza di cellule tumorali a livello dei linfonodi).

Analisi più dettagliate delle specifiche sottopopolazioni di linfociti T coinvolte hanno mostrato che, in particolare, l'elevata abbondanza di linfociti T regolatori (sia intraepiteliali che stromali, marcati con CD4 e FoxP3) era associata con una maggiore DRFI nei pazienti LN-positivi. Inoltre, i dati hanno evidenziato il ruolo chiave della presenza di linfociti T del sottotipo CD8: solo nei tumori in cui erano presenti queste cellule, l'abbondanza di linfociti T regolatori era di fatto prognostica. Quando i linfociti T CD8 erano più abbondanti dei T regolatori, nei pazienti LN-positivi, il trattamento con ciclofosfamide e metotrexato risultava deleterio, indicando fortemente che la valutazione della presenza di linfociti T CD8 e regolatori dovrebbe essere tenuta in considerazione nella scelta del trattamento.

Inoltre, gli autori propongono che il trattamento con alcuni farmaci, come la ciclofosfamide, potrebbe inibire e ridurre selettivamente l'attività dei linfociti T regolatori -che sono pro-tumorali-; di conseguenza, la maggiore abbondanza di cellule citotossiche determinerebbe, indirettamente, una più efficiente eliminazione del tumore, suggerendo che dosi basse di ciclofosfamide potrebbero essere sfruttate per una più efficace eliminazione immuno-mediata del tumore.

**Referenza.** Multiplexed high-throughput immune cell imaging in patients with high-risk triple negative early breast cancer: Analysis from the International Breast Cancer Study Group (IBCSG) Trial 22-00. *S Rusakiewicz,*



*S Tyekucheva, S Tissot-Renaud, K Chaba, M Imbimbo, F Benedetti, R Kammler, J Hornfeld, E Munzone, L Gianni, B Thurlimann, I Láng, G Pruneri, K P Gray, M R Regan, S Loi, M Colleoni, G Viale, L Kandalaft, G Coukos, Giuseppe Curigliano. Eur J Cancer 2024. doi: 10.1016/j.ejca.2024.113535.*

\*Figure from [S Rusakiewicz et al., Eur J Cancer 2024.](#)

What's new from IEO Researchers?

# Dallo studio dei meccanismi molecolari, un potenziale marcatore precoce e target terapeutico nel tumore del fegato: ARID1.

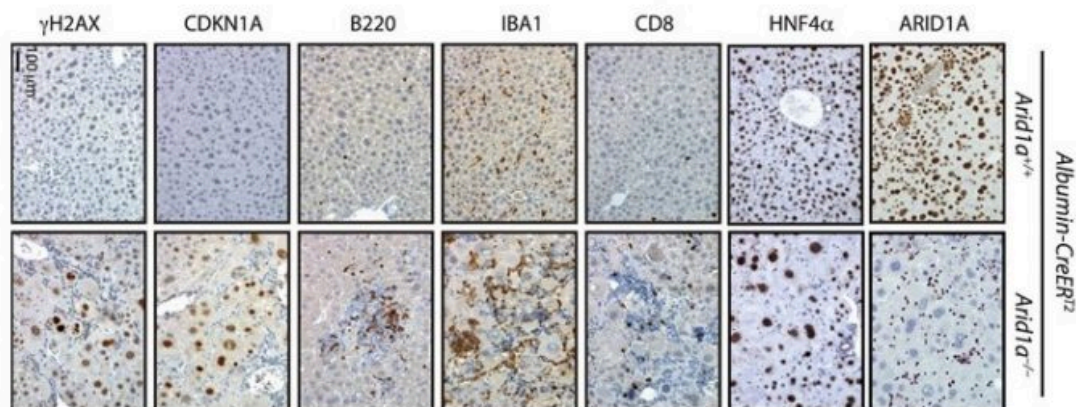


Figure from D'Ambrosio, Bressan, Ferracci, et al., Sci Adv 2024.\*

ARID1 è un gene che codifica per una proteina (una subunità del complesso SWI/SNF) il cui ruolo è quello di modificare la cromatina. ARID1 è spesso mutato nei tumori; la perdita di ARID1 si osserva ad esempio nel tumore gastrico, ovarico, uterino, della vescica, del colon e del fegato.

In che modo le mutazioni nel gene ARID1 sono coinvolte nella tumorigenesi?

In un articolo recente di D'Ambrosio, Bressan, Ferracci et al., nel contesto di una collaborazione tra il laboratorio di Diego Pasini –Group Leader al Dipartimento di Oncologia Sperimentale di IEO– e Fulvio Chiacchiera –precedentemente ricercatore nel laboratorio Pasini in IEO e attualmente Group Leader all'Università di Trento– che ha coordinato lo studio, gli autori, hanno analizzato, in modelli preclinici in vivo, gli eventi iniziali correlati con la perdita di ARID1 che portano alla trasformazione maligna.

Pur non escludendo un effetto associato al meccanismo per cui è noto ARID1 –ovvero l'interazione con elementi regolatori come enhancer e promotori e la modulazione dell'espressione genica–, i ricercatori hanno scoperto un ruolo di questa proteina nella tumorigenesi legato all'accumulo di danno al DNA e instabilità genomica, attivazione della risposta all'interferone e infiammazione cronica. Inoltre le mutazioni di ARID1 erano presenti anche in tessuti non tumorali

***“gli autori hanno mostrato un nuovo ruolo di ARID1 nel preservare l'integrità del DNA. Pur non essendo di per sé sufficiente ad indurre il tumore, la perdita di ARID1, l'accumulo del danno al DNA e la risultante instabilità genomica favoriscono la formazione di mutazioni aggiuntive che determinano l'insorgenza del tumore, sensibilizzando allo stesso tempo le cellule al trattamento con inibitori di ATR”***

–potenzialmente pro-tumorali– di pazienti che manifestavano un’inflammatione cronica –condizione che spesso accompagna la trasformazione maligna–, suggerendo, da un lato, che questa mutazione riesca a conferire alle cellule che si trovano in un contesto infiammatorio un vantaggio selettivo in termini di sopravvivenza e, in seguito ad una seconda mutazione, contribuisca a sostenere la trasformazione maligna. Dall’altro, ARID1 potrebbe rappresentare un marcatore precoce associato con l’aumentato rischio di insorgenza del tumore. Infine, i ricercatori mostrano che le cellule prive di ARID1 sono sensibili al trattamento con inibitori di ATR, suggerendo l’utilizzo di queste molecole per il trattamento di tumori al fegato caratterizzati da mutazione/perdita di ARID1, aprendo la strada a futuri studi clinici volti ad esplorare il potenziale di questo trattamento in questo tipo di tumori.

“Questo lavoro –sottolinea Diego Pasini– è iniziato in IEO qualche anno fa, quando Fulvio era ricercatore nel mio team. Quando si è trasferito all’Università di Trento come ricercatore indipendente, abbiamo mantenuto una stretta collaborazione e il progetto è stato recentemente finalizzato. Ancora una volta, una ‘prova’ dell’impegno di IEO nello sviluppo professionale di scienziati di successo, che trovano il loro posto nel panorama nazionale ed internazionale”.

Gli autori hanno analizzato in maniera specifica gli effetti dell’assenza di ARID1 nel fegato: gli animali in cui veniva indotta la perdita di ARID1 erano più propensi a sviluppare tumori, sia spontanei che indotti, rispetto agli animali di controllo. Dal punto di vista molecolare, il profilo di espressione genica delle cellule epatiche prive di ARID1 era diverso: numerosi geni erano diversamente

espressi, tra cui regolatori negativi del ciclo cellulare –che erano up-regolati–, indicando che, interferendo con la progressione del ciclo cellulare (nello specifico, con la transizione G2-M), la perdita di ARID1 favoriva l’insorgenza del tumore. Inoltre, la perdita di ARID1 determinava l’up-regolazione dei geni di risposta all’interferone e infiammazione epatica, un maggiore reclutamento di cellule immunitarie come linfociti T e macrofagi, e un aumento del danno al DNA. Il danno al DNA dovuto alla perdita di ARID1, a sua volta, portava all’accumulo di micronuclei e aumentava l’instabilità genomica. L’instabilità genomica indotta da ARID1 promuoveva l’acquisizione di mutazioni aggiuntive, comuni nei tumori epatici umani, che contribuivano alla tumorigenesi. Tra le mutazioni presenti nelle cellule prive di ARID1, erano molto spesso presenti mutazioni del gene CTNNB1 insieme ad Arid1, sia nei campioni murini che nei dati dei pazienti, dove erano associate con una prognosi peggiore e cooperavano con la perdita di ARID1 nel promuovere tumori epatici metastatici, molto aggressivi. Infine, dato che l’instabilità genomica è nota sensibilizzare le cellule agli inibitori di ATR, gli autori hanno valutato l’effetto di queste molecole in colture tridimensionali: gli organoidi privi di ARID1 mostravano una ridotta vitalità in seguito al trattamento con inibitori di ATR.

#### **Gli inibitori di ATR in ambito clinico.**

ATR è generalmente reclutato a livello di rotture del DNA a singola elica, percepisce il danno al DNA ed attiva la signaling cellulare che porta ad un arresto del ciclo cellulare per consentire il riparo del danno. L’inibizione di ATR blocca questo meccanismo protettivo, determinando di conseguenza una condizione di stress cellulare associato al danno al DNA, la progressione inopportuna del ciclo cellulare nonostante il danno al DNA ed infine la morte delle cellule tumorali. Diverse piccole molecole in grado di inibire in maniera specifica e potente l’attività di ATR, in monoterapia o come parte di terapia di combinazione, sono quindi attualmente in sviluppo clinico. Ad oggi i risultati più promettenti sono stati raccolti in pazienti con tumore ovarico recidivante con alterazioni in geni associati alla risposta al danno al DNA (come BRCA1/2 o RAD51C), la maggior parte di loro resistente a inibitori di PARP e chemioterapia a base di platino. Tuttavia, studi ulteriori, basati su una stretta collaborazione tra ricerca preclinica e clinica, mirano ad una ottimizzazione del profilo di tossicità delle molecole attualmente disponibili, così come dei regimi di somministrazione, del trattamento combinato, insieme all’identificazione di biomarcatori e una più completa comprensione dei meccanismi molecolari coinvolti.

In conclusione, gli autori hanno mostrato un nuovo ruolo di ARID1 nel preservare l'integrità del DNA. Pur non essendo di per sé sufficiente ad indurre il tumore, la perdita di ARID1, l'accumulo del danno al DNA e la risultante instabilità

genomica favoriscono la formazione di mutazioni aggiuntive che determinano l'insorgenza del tumore, sensibilizzando allo stesso tempo le cellule al trattamento con inibitori di ATR.

**Referenza.** Increased genomic instability and reshaping of tissue microenvironment underlie oncogenic properties of Arid1a mutations. *Alessandro D'Ambrosio, Davide Bressan, Elisa Ferracci, Francesco Carbone, Patrizia Mulè, Federico Rossi, Caterina Barbieri, Elisa Sorrenti, Gaia Fiaccadori, Thomas Detone, Elena Vezzoli, Salvatore Bianchi, Chiara Sartori, Simona Corso, Akihisa Fukuda, Giovanni Bertalot, Andrea Falqui, Mattia Barbareschi, Alessandro Romanel, Diego Pasini, Fulvio Chiacchiera.* Sci Adv 2024.

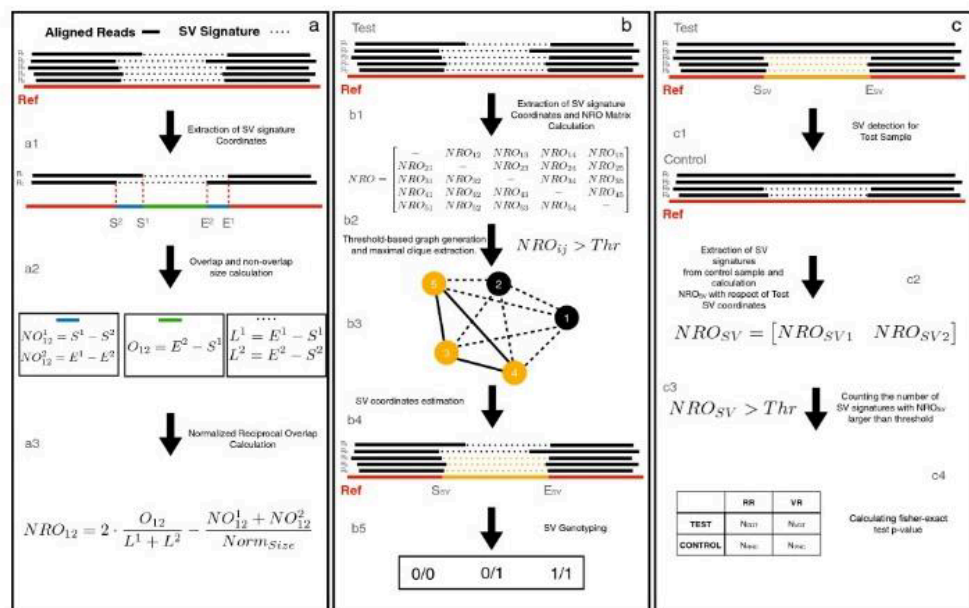
\*Figure from D'Ambrosio, Bressan, Ferracci, et al., an open access [article](#) under the [CC BY-NC](#) license.

What's new from IEO Researchers?

# GASOLINE: un nuovo strumento computazionale per l'identificazione di varianti strutturali da dati di sequenziamento del genoma.

Alterazioni del genoma di una cellula causano stati patologici. Ampie delezioni o inserzioni di porzioni di un cromosoma, traslocazioni di interi pezzi di un cromosoma, sono chiamate varianti strutturali (SVs), possono alterare profondamente processi cellulari critici e possono indurre il cancro. Rilevare queste

alterazioni è fondamentale per poter curare la malattia. Ad esempio, la traslocazione cromosomica che coinvolge i cromosomi 15 e 17, che porta alla fusione dei geni PML e RARA è la causa di un sottotipo di leucemia (leucemia promielocitica acuta, APL) e l'identificazione di questa anomalia cromosomica ha permesso di studiare i meccanismi della malattia e definire una terapia mirata che, nella stragrande maggioranza dei pazienti (ad oggi oltre il 90%) porta alla guarigione. La traslocazione cromosomica alla base della APL è solo un esempio; decine di traslocazioni



GASOLINE workflow. Figure from Magi et al., Scientific reports 2023. \*

cromosomiche sono state identificate e studiate, consentendo così di colpirle con terapie mirate, ed altre lo saranno in futuro.

Le tecnologie di ultima generazione –come Oxford Nanopore– permettono il sequenziamento di lunghe molecole del DNA, condizione che rende più efficiente e specifica l'identificazione di alterazioni così significative, rappresentando un utile strumento nel rilevare SVs dai dati di sequenziamento del genoma. Nonostante i notevoli progressi tecnologici, però, gli strumenti analitici attualmente disponibili

**“Alterazioni del genoma di una cellula causano stati patologici. Ampie delezioni o inserzioni di porzioni di un cromosoma, traslocazioni di interi pezzi di un cromosoma, sono chiamate varianti strutturali, possono alterare profondamente processi cellulari critici e possono indurre il cancro. Rilevare queste alterazioni è fondamentale per poter curare la malattia.”**

non sono sufficientemente accurati nell'identificazione di SVs lunghe (ovvero più lunghe di 50 bp; nel range delle 50-1000 bp); inoltre, non esistono strumenti per rilevare in maniera specifica le SVs somatiche, tramite l'analisi comparativa del campione tumorale e del tessuto normale di uno stesso paziente.

Per ovviare alle limitazioni degli attuali strumenti computazionali nell'analisi dei dati di sequenziamento di lunghe regioni del DNA, in un recente articolo di Magi et al., gli autori, coordinati da Pier Giuseppe Pelicci –Direttore della ricerca di IEO e professore all'Università di Milano– descrivono lo sviluppo di GASOLINE, uno strumento computazionale per l'identificazione più accurata, ad elevata risoluzione, di SVs. Inoltre, GASOLINE è il primo strumento in grado di rilevare sia SVs somatiche (cioè anomalie acquisite dalle cellule tumorali e potenzialmente coinvolte nell'induzione del cancro) che germinali (cioè ereditarie e potenzialmente associate al rischio di insorgenza del tumore) dai dati di sequenziamento, attraverso il confronto con campioni normali.

***“GASOLINE rappresenta uno strumento nuovo ed utile per l'identificazione di alterazioni somatiche nel cancro.”***

In breve, GASOLINE funziona rilevando le SVs sulla base di un parametro che gli autori hanno sviluppato, l'“NRO” (normalized reciprocal overlap). L'NRO consente di identificare in maniera accurata sia SVs piccole che grandi, con la stessa accuratezza, distinguendo SVs reali da eventuali imprecisioni nell'allineamento. Sfruttando questo NRO, GASOLINE può rilevare sia SVs somatiche che germinali, con elevata accuratezza e sensibilità, meglio degli attuali strumenti disponibili. In particolare, GASOLINE si è dimostrato più efficiente

nell'identificazione di piccole SVs, rivelando una maggiore precisione senza una riduzione significativa nella sensibilità (ovvero rilevando SVs reali),

permettendo l'identificazione di SVs che gli altri strumenti non erano riusciti a rilevare.

GASOLINE rappresenta uno strumento nuovo ed utile per l'identificazione di alterazioni somatiche nel cancro. GASOLINE è disponibile qui: <https://sourceforge.net/projects/gasoline/>.

**Referenza.** GASOLINE: detecting germline and somatic structural variants from long-reads data. *Alberto Magi, Gianluca Mattei, Alessandra Mingrino, Chiara Caprioli, Chiara Ronchini, Gianmaria Frigè, Roberto Semeraro, Marta Baragli, Davide Bolognini, Emanuela Colombo, Luca Mazzarella, Pier Giuseppe Pelicci.* Scientific reports 2023. doi: 10.1038/s41598-023-48285-0.

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

*What's new from IEO Researchers?*

## L'intelligenza artificiale per predire l'aggressività della malattia nei pazienti con tumore della prostata.

Al fine di evitare un sovra- o sotto-trattamento dei pazienti, sono necessari degli strumenti nuovi, che consentano di stimare in maniera corretta l'aggressività della malattia. In questo contesto, la radiomica possiede un enorme potenziale. La radiomica sfrutta le immagini diagnostiche –come ad esempio immagini raccolte attraverso esami quali MRI (*magnetic resonance imaging*)– per trovare dei biomarcatori quantitativi –ovvero delle caratteristiche, nelle immagini– da poter sfruttare a scopi prognostici. L'intelligenza artificiale, con gli approcci di machine Learning (ML) –e più specificatamente deep learning–, è stata impiegata con successo per gestire l'elevato numero di immagini e di variabili (ovvero le caratteristiche estratte dalle immagini).

In un recente articolo di Giulia Marvaso, Lars Johannes Isaksson et al., gli autori, coordinati da Giuseppe Petralia e Barbara Alicja Jereczek-Fossa –Direttrice della Divisione di Radioterapia di IEO e Professore Ordinario di Radioterapia Oncologica presso l'Università degli Studi di Milano– hanno valutato i vantaggi di un modello basato su ML che sfrutta proprietà cliniche, radiologiche e radiomiche per la prognosi non invasiva del tumore della prostata, sfruttando il più grande dataset esistente di pazienti con tumore prostatico, comprendente 949 pazienti.

I ricercatori hanno considerato diverse variabili cliniche, radiologiche e radiomiche dei pazienti arruolati e hanno selezionato quelle con il maggiore potere predittivo, ovvero quelle che avevano un impatto maggiore sulla capacità del



*Giulia Marvaso, Lars Johannes Isaksson, Giuseppe Petralia, Barbara Alicja Jereczek-Fossa.*

modello di ML di predire l'aggressività della malattia. I quattro modelli includevano *i.* variabili cliniche soltanto, oppure *ii.* variabili cliniche e radiologiche, oppure *iii.* variabili cliniche e radiomiche, oppure *iv.* variabili cliniche, radiologiche e radiomiche insieme. Confrontando l'efficienza dei quattro modelli, hanno osservato che il modello che teneva in considerazione solo le caratteristiche cliniche era il peggiore, mentre quello che le includeva tutte era il migliore, indicando quindi che tutti e tre i tipi di variabili

*“sfruttando immagini di MRI multiparametrica di una coorte di 949 pazienti con tumore prostatico, gli autori hanno sviluppato un modello di machine learning in grado di combinare parametri clinici, radiologici e radiomici, più efficiente delle attuali stime cliniche nel predire l'aggressività della malattia nei pazienti con tumore della prostata, fornendo così uno strumento per aiutare i clinici a predire in maniera più accurata l'aggressività della malattia prima di iniziare un qualsiasi approccio terapeutico”*

considerate (cliniche, radiologiche e radiomiche) erano di fatto informative. Includere le variabili radiomiche aumentava la performance del modello –soprattutto nei pazienti ad alto rischio– indicando che forniva in effetti informazioni complementari. Infine, la validazione del modello ha mostrato che quello con la migliore performance (ovvero quello che considerava le variabili cliniche, radiologiche e radiomiche

insieme) era più efficiente delle attuali stime cliniche, essendo meno propenso a sottostimare l'aggressività della malattia.

In conclusione, sfruttando immagini di MRI multiparametrica di una coorte di 949 pazienti con tumore prostatico, gli autori hanno sviluppato un modello di machine learning in grado di combinare parametri clinici, radiologici e radiomici, più efficiente delle attuali stime cliniche nel predire l'aggressività della malattia nei pazienti con tumore della prostata, fornendo così uno strumento per aiutare i clinici a predire in maniera più accurata l'aggressività della malattia prima di iniziare un qualsiasi approccio terapeutico.

**Referenza.** Can we predict pathology without surgery? Weighing the added value of multiparametric MRI and whole prostate radiomics in integrative machine learning models. *Giulia Marvaso, Lars Johannes Isaksson, Mattia Zaffaroni, Maria Giulia Vincini, Paul Eugene Summers, Matteo Pepa, Giulia Corrao, Giovanni Carlo Mazzola, Marco Rotondi, Federico Mastroleo, Sara Raimondi, Sarah Alessi, Paola Pricolo, Stefano Luzzago, Francesco Alessandro Mistretta, Matteo Ferro, Federica Cattani, Francesco Ceci, Gennaro Musi, Ottavio De Cobelli, Marta Cremonesi, Sara Gandini, Davide La Torre, Roberto Orecchia, Giuseppe Petralia, Barbara Alicja Jereczek-Fossa.* Eur Radiol 2024. doi: 10.1007/s00330-024-10699-3.



*What's new from IEO Researchers?*

## Vaccini e nuove terapie contro il melanoma - La straordinaria evoluzione degli ultimi anni.

Il trattamento del melanoma si è straordinariamente evoluto negli ultimi anni, con l'introduzione di terapie innovative che offrono speranze di guarigione anche nelle fasi avanzate della malattia. Questi progressi hanno cambiato radicalmente la prospettiva per i pazienti, che ora possono considerare la loro malattia sempre curabile e, in un numero crescente di casi, guaribile. L'immunoterapia, in particolare, ha rivoluzionato l'approccio alle cure farmacologiche. Parallelamente ai nuovi trattamenti già entrati nella pratica clinica, gli studi sperimentali offrono inedite possibilità di cura, con oltre 70 farmaci immunoterapici in fase di studio e circa 200 studi clinici attivi in Italia. Tra questi sono al momento al centro dell'attenzione i vaccini terapeutici, come il vaccino a mRNA in combinazione con il pembrolizumab. Va sottolineato che non si tratta di un vaccino nel senso classico del termine – con l'obiettivo cioè di impedire che la malattia si manifesti – ma di un trattamento altamente personalizzato, basato sul profilo molecolare del tumore del paziente e mirato a insegnare ai linfociti T a riconoscere e attaccare le cellule di melanoma. L'accesso al vaccino per il melanoma è possibile solo attraverso la partecipazione a studi clinici controllati, e la decisione sulla candidabilità del paziente spetta all'oncologo curante. Attualmente, si sta sperimentando la terapia combinata di vaccino a mRNA e pembrolizumab come trattamento adiuvante post-chirurgico per il melanoma avanzato. Questo studio di Fase III coinvolge centri clinici internazionali, fra cui IEO, e ha l'obiettivo di dimostrare l'efficacia del trattamento nel ridurre il rischio di recidiva e aumentare la sopravvivenza, sulla base dei promettenti risultati già ottenuti in studi precedenti. Per i pazienti non candidabili al vaccino, esistono comunque altre opzioni terapeutiche efficaci, come ad esempio il



*Paola Queirolo*

pembrolizumab, che da solo offre una probabilità di guarigione del 50%. La ricerca è attiva nel migliorare ulteriormente questi risultati, con diversi vaccini terapeutici a mRNA e nuove applicazioni per farmaci immunoterapici in fase di studio. È importante rivolgersi a centri oncologici altamente specializzati poiché la cura è più efficace in contesti di ricerca attiva, come in IEO. Leggi [qui](#) l'intervista completa.

*What's new from IEO Researchers?*

## STUDIO ACCLAIM, IEO primo centro arruolatore in Italia.



Il nostro Istituto è stato selezionato dalla Società di Oncologia Interventistica (SIO) come centro abilitato all'arruolamento di pazienti con una diagnosi di metastasi epatiche da cancro del colon-retto per lo studio ACCLAIM.

ACCLAIM è uno studio internazionale, prospettico, multicentrico volto a stabilire l'ablazione a microonde (MWA) come terapia curativa preferita per metastasi epatiche coloretali selezionate (CLM) che possono essere ablate con margini sufficienti.

Lo IEO è la prima struttura in Italia a ottenere questo via libera dalla SIO.

Il Dott. Franco Orsi e il Dott. Paolo Della Vigna saranno rispettivamente il Principal Investigator (PI) e il Co-Investigatore del nostro Istituto per ACCLAIM, studio che la SIO prevede duri 3 anni, con circa 275 soggetti trattati, in 10 centri fra Stati Uniti d'America ed Europa.

Scopri di più, leggi la news:  
[www.ieo.it/studioacclaim](http://www.ieo.it/studioacclaim).

What's new from IEO Researchers?

# Riposizionare un farmaco antitumorale contro la covid-19.

La gravità della malattia covid-19 dipende fortemente dal profilo delle molecole infiammatorie secrete dal sistema immunitario in risposta all'infezione virale: la prevalenza di molecole proinfiammatorie (IL6, TNFa, IL1) è collegata alla malattia grave, mentre l'abbondanza di molecole antivirali (IFN-I) è associata ad una più rapida risoluzione dell'infezione. La risposta immunitaria all'infezione virale è modulata da diversi meccanismi; ad esempio, i modificatori della cromatina -ovvero quelle proteine che,

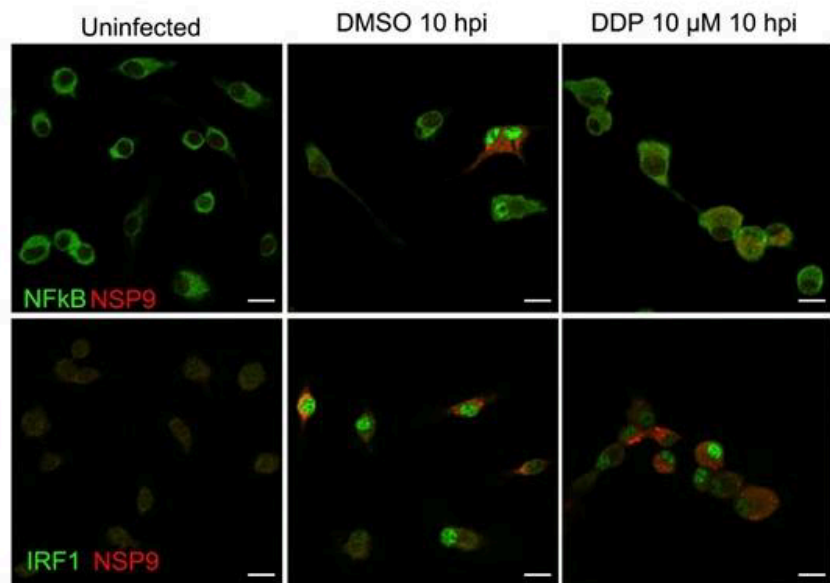


Figure from Mazzeella et al., Science Signaling 2023.\*

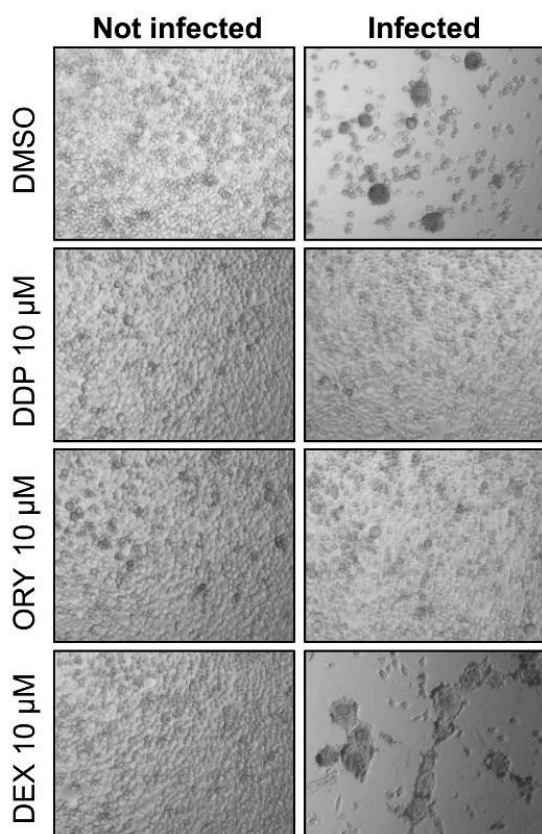


Figure from Mazzeella et al., Science Signaling 2023.\*

attraverso la modificazione chimica del DNA e delle proteine associate al DNA, modificano l'espressione genica- appaiono giocare un ruolo cruciale. Tra questi, la proteina LSD1 (nota anche come KDM1A) può essere colpita farmacologicamente; così diversi composti che inibiscono LSD1, attualmente in studio preclinico e clinico come agenti antitumorali, potrebbero essere riposizionati, ovvero utilizzati per il trattamento di un'altra patologia rispetto a quella per cui sono stati sviluppati.

In un articolo recente di Luca Mazzeella -Group Leader del dipartimento di oncologia sperimentale di IEO- e colleghi, coordinati dal prof Pier Giuseppe Pelicci e il prof Saverio Minucci, gli autori hanno mostrato che l'inibizione di LSD1 influenza la produzione di molecole pro-infiammatorie e antivirali; in particolare, riducendo la produzione di molecole proinfiammatorie e promuovendo la generazione di molecole antivirali, suggerendo che gli inibitori di LSD1 potrebbero essere utili nel limitare l'infiammazione che accompagna i casi gravi di Covid-19, contribuendo al tempo stesso ad eliminare il virus e combattere l'infezione, indicando il

potenziale del riposizionamento di un farmaco antitumorale per il trattamento della covid-19.

Chi avrebbe mai pensato che un farmaco antitumorale potesse essere utilizzato contro la covid-19? Grazie allo studio e alla comprensione dei meccanismi molecolari alla base delle due patologie e alla base del

funzionamento di questa terapia, futuri studi clinici potrebbero consentire la definizione di un nuovo trattamento antivirale, fornendo un nuovo strumento contro la malattia, attraverso il riposizionamento di un

farmaco già in stadio avanzato di sviluppo preclinico e clinico.

*“riducendo la produzione di molecole proinfiammatorie e promuovendo la generazione di molecole antivirali, gli inibitori di LSD1 potrebbero essere utili nel limitare l'infiammazione che accompagna i casi gravi di Covid-19, contribuendo al tempo stesso ad eliminare il virus e combattere l'infezione, indicando il potenziale del riposizionamento di un farmaco antitumorale per il trattamento della covid-19”*

Innanzitutto, gli autori hanno messo a punto un

sistema in vitro di co-coltura (fibroblasti e macrofagi) che consentisse loro di valutare

separatamente la tossicità cellulare (sui fibroblasti e sulle cellule epiteliali polmonari) dovuta alle citochine infiammatorie

rilasciate dai macrofagi, dalla attività antivirale in grado di inibire la replicazione dei virus. Sfruttando

questo sistema in vitro, hanno osservato che

l'inibizione di LSD1 aveva effetti diversi sui due processi: l'inibitore di LSD1 spegneva la

massiccia produzione di molecole citotossiche

rilasciate dai macrofagi, mentre

promuoveva l'attività antivirale; ciò determinava la quasi completa eliminazione del virus. I risultati ottenuti con gli inibitori di LSD1 sono stati

confermati dalla delezione genetica di LSD1. Per quanto riguarda il meccanismo, i diversi effetti in

risposta all'inibizione

di LSD1 erano dovuti alla ridotta

attivazione, indotta dall'infezione, di

NF- $\kappa$ B e dalla downregolazione di geni associati al

rilascio di citochine (tossicità estrinseca)

da parte degli inibitori di LSD1.

Infatti, in seguito all'infezione, NF $\kappa$ B veniva attivato e

traslocava nel nucleo; l'effetto

veniva invertito dall'inibizione di

LSD1. Per valutare il potenziale

traslazionale della loro scoperta, hanno

confrontato l'inibitore di LSD1

(nello specifico, hanno usato due

molecole diverse, una di queste

attualmente in sviluppo per il

trattamento di malattie ematologiche) con

desametasone, che rappresenta l'attuale trattamento standard per inibire l'infiammazione



Luca Mazarella

trattamento di malattie ematologiche) con desametasone, che rappresenta l'attuale trattamento standard per inibire l'infiammazione

associata a Covid-19 e che agisce (e riduce) sia l'attività antivirale intrinseca che estrinseca. Gli autori hanno notato che tutti e tre i composti prevenivano la morte delle cellule infettate, sebbene fossero necessarie concentrazioni più elevate di desametasone che di inibitori di LSD1. Per quanto riguarda l'attività antivirale, gli inibitori di LSD1 aumentavano sia l'attività antivirale intrinseca che estrinseca, con conseguente riduzione della presenza del virus, mentre la concentrazione del desametasone necessaria ad indurre l'attività antivirale aboliva

anche l'effetto protettivo nei confronti delle cellule infettate. Infine, sostenendo ulteriormente una futura applicazione clinica delle loro scoperte, i risultati sono stati confermati in modelli murini in vivo e in modelli in vitro umani di covid-19.

Questi risultati indicano quindi la maggiore efficienza dell'inibizione di LSD1 contro la malattia covid-19 rispetto agli attuali trattamenti standard e il potenziale riposizionamento di questo farmaco antitumorale per il trattamento della covid-19.

**Referenza.** Inhibition of the lysine demethylase LSD1 modulates the balance between inflammatory and antiviral responses against coronaviruses. *Luca Mazzearella, Fabio Santoro, Roberto Ravasio, Valeria Fumagalli, Paul E. Massa, Simona Rodighiero, Elena Gavilán, Mauro Romanenghi, Bruno A. Duso, Emanuele Bonetti, Lara Manganaro, Rani Pallavi, Deborah Trastulli, Isabella Pallavicini, Claudia Gentile, Silvia Monzani, Tommaso Leonardi, Sebastiano Pasqualato, Gabriele Buttinelli, Angela Di Martino, Giorgio Fedele, Ilaria Schiavoni, Paola Stefanelli, Giuseppe Meroni, Raffaele de Francesco, Christian Steinkuhler, Gianluca Fossati, Matteo Iannacone, Saverio Minucci, Pier Giuseppe Pelicci.* Science Signaling 2023. doi: 10.1126/scisignal.ade0326.

\*Figure from Mazzearella et al., Science Signaling 2023. doi: 10.1126/scisignal.ade0326

*What's new from IEO Researchers?*

# Tumori del retto: evitare la chirurgia è possibile.



 IEO  
Istituto Europeo  
di Oncologia

L'Istituto Europeo di Oncologia ha ospitato il 19 Aprile l'importante incontro regionale della Società Italiana di Chirurgia (SIC) dedicato alle "Attualità nell'ambito delle terapie integrate dei tumori del retto". Un tema di grande rilevanza, considerando che ogni anno in Italia si registrano 50.500 nuovi casi di questa patologia.

Durante l'evento, i massimi esperti hanno discusso le ultime innovazioni nel trattamento del tumore del retto, evidenziando come, grazie ai progressi terapeutici, circa il 30% dei pazienti ora può evitare la chirurgia. "Abbiamo massimizzato le risposte alla combinazione di terapia medica e radioterapia prima dell'intervento," hanno affermato i responsabili scientifici Uberto Fumagalli Romario (Chirurgia Apparato Digerente e Tumori Neuroendocrini IEO e delegato SIC), Maria Giulia Zampino (Oncologia Medica Gastrointestinale e Tumori Neuroendocrini IEO) e Luigi Boni (Chirurgia Generale e Mini Invasiva, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore

Policlinico, Università degli Studi di Milano e delegato SIC).

Anche in IEO è stata dimostrata la possibilità di evitare la chirurgia attraverso lo studio italiano NoCut, che ha visto la completa remissione della malattia nel 38% dei pazienti trattati, con risultati che saranno presto pubblicati – ha anticipato Maria Giulia Zampino.

La collaborazione tra chirurghi, oncologi e radioterapisti, insieme all'innovazione diagnostica, è cruciale per la gestione ottimale dei pazienti. Uberto Fumagalli Romario sottolinea l'importanza di rivolgersi a centri oncologici specializzati per un trattamento tempestivo e all'avanguardia, ricordando che la diagnosi precoce rimane lo strumento più potente a nostra disposizione.

Il Prof Luigi Boni ha concluso: "Siamo testimoni di progressi significativi, con terapie sempre più personalizzate e approcci chirurgici meno invasivi", e per questo è fondamentale mantenere

un aggiornamento costante e un confronto multidisciplinare.

Queste scoperte aprono nuove frontiere nella lotta contro il tumore del retto.

Per saperne di più leggi il comunicato [qui](#).

*What's new from IEO Researchers?*

## Tumore mammario: l'approccio "risk adapted" può migliorare le cure mediche.



È stata recentemente pubblicata sulla prestigiosa rivista della Società Americana di Oncologia Clinica – il *Journal of Clinical Oncology* – la posizione di alcuni dei maggiori esperti oncologi internazionali circa la necessità di modulare meglio le terapie farmacologiche per il tumore del seno. Il tema è l'ottimizzazione dei trattamenti oncologici nelle pazienti con carcinoma mammario che, dopo terapia preoperatoria, ottengono una "risposta

patologica completa", vale a dire la scomparsa totale del tumore dal tessuto mammario e i linfonodi.

Si tratta di un lavoro corale, guidato dal Professor Giuseppe Curigliano, Direttore della Divisione Sviluppo Nuovi Farmaci per Terapie Innovative a cui hanno partecipato anche i dottori Carmine Valenza e Dario Trapani.

[Leggi il Comunicato Completo](#)



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

## *Marica Ippolito, Post doc, Santaguida Group.*



Fin dalla mia infanzia, sono stata affascinata dagli intricati meccanismi della vita, passione che mi ha spinto ad intraprendere gli studi in Scienze Biologiche presso l'Università Federico II di Napoli. La mia vita, personale e lavorativa ha subito un drastico cambiamento quando mi sono trasferita a Milano, per proseguire i miei studi presso l'Università Bicocca, culminata in un tirocinio in proteomica presso lo IEO ed il conseguimento della laurea magistrale nel 2018. Durante il mio tirocinio ho avuto modo di conoscere la componente scientifica e quella umana del campus dello IEO, ed ho così intrapreso il dottorato della SEMM-IEO presso il laboratorio di integrità genomica del Prof. Santaguida. Durante il mio dottorato mi sono dedicata allo studio della aneuploidia e dei meccanismi adattativi che le cellule mettono in atto per mitigare lo stress derivante da un numero sbilanciato di cromosomi. Inoltre, i miei studi hanno mostrato come nel cancro, l'aneuploidia e la conseguente instabilità genomica possano favorire la chemioresistenza. Proprio grazie a questo lavoro, ho ottenuto una borsa di studio AIRC ed una menzione

d'onore al premio "Giovani promesse, Top Italian Women Scientists". Durante il dottorato, ho avuto l'opportunità di collaborare con numerosi ricercatori locali ed internazionali arricchendo la mia esperienza ed affinando le mie competenze. Con orgoglio, ho contribuito come co-autore a 9 pubblicazioni su riviste internazionali. Ora, continuo la mia ricerca come post-doc cercando di identificare vulnerabilità delle cellule aneuploidi, nella speranza ultima che possano portare alla scoperta di nuovi bersagli terapeutici per il cancro.

## *Francesco Tucci, Dottorando, Pece Group.*



Sono cresciuto a Lesina, un paese di 6000 anime, e la mia principale passione era la musica. Il costo della strumentazione mi ha avvicinato all'elettronica e all'informatica per potermi costruire effetti ed amplificatori valvolari. Questa è stata la prima volta che mi sono innamorato della scienza. Durante l'adolescenza, ho frequentato la "scuola di scienze Agorà", dove, prima come studente e poi come docente, ho coltivato la passione per le scienze biomediche. Finito il liceo, diviso tra l'ingegneria e la medicina, ho scelto di intraprendere gli studi in quest'ultima disciplina, per poter comprendere a fondo l'uomo, il "sistema" più affascinante di tutti. Dopo la laurea, ho vinto una borsa di studio della Fondazione Rotary che mi ha portato a Rotterdam, nel laboratorio del prof. Fodde, dove ho studiato il controllo epigenetico dell'EMT nel cancro orale. Qui,

grazie al contatto quotidiano con alcuni bioinformatici, ho riscoperto la mia passione per l'informatica. Sono rientrato in Italia per intraprendere la specializzazione in anatomia patologica nell'Università di Milano, collaborando in parallelo con il laboratorio "Hormone-Related Cancers and Stem Cell Pathobiology" del prof. Pece presso lo IEO, come biostatistico e bioinformatico. Nel 2022, ho iniziato il dottorato in "Medicina dei Sistemi" sotto la guida del prof. Pece, con l'obiettivo di utilizzare tecniche multiomiche per caratterizzare l'eterogeneità tumorale ed identificare nuovi marcatori prognostici e predittivi nei carcinomi della vescica e della prostata.

## ***Alessandra Rossi, Post doc, Derenzini Group.***



Dopo un inizio singolare al liceo artistico di Crema, ho proseguito i miei studi presso la facoltà di biotecnologie Mediche di Milano e ho mosso i miei primi passi nel mondo della ricerca come tesista nel laboratorio del Dr. Finocchiaro all'Istituto Neurologico Besta. Questa esperienza ha indubbiamente nutrito la mia passione per la natura stimolante e dinamica di questo lavoro, coniugando creatività e rigorosa metodologia scientifica. Successivamente ho arricchito il mio percorso personale e professionale grazie ad una Exchange Fellowship alla Yale University, seguita da un PhD SEMM in oncologia molecolare nel laboratorio di epigenetica del Prof. Pasini all'IEO. Gli anni del dottorato, nei quali ho lavorato sul ruolo dei complessi Polycomb nelle cellule leucemiche e intestinali, sono stati decisivi per la mia maturazione come ricercatrice e mi hanno permesso di contribuire alla letteratura scientifica con varie pubblicazioni. La volontà di essere più vicina a una ricerca clinica applicata, mi ha portato infine a lavorare come Post Doc nel team di Ematologia dell'IEO sotto la guida del Prof. Derenzini. Dal

2017 ad oggi ho assistito e partecipato alla nascita e allo sviluppo di un laboratorio che pone la ricerca scientifica al servizio diretto del paziente. Lo scopo del mio lavoro riguarda l'identificazione di biomarcatori predittivi e lo sviluppo di strategie terapeutiche innovative per il trattamento dei linfomi, sia su base farmacologica che come immunoterapia con cellule NK. Questo tipo di progettualità mi ha insegnato un approccio molto più traslazionale e mi sta dando grandi soddisfazioni in termini di riconoscimenti, pubblicazioni e finanziamenti ma, soprattutto, mi permette di dare il mio contributo nel migliorare la cura dei pazienti oncologici.

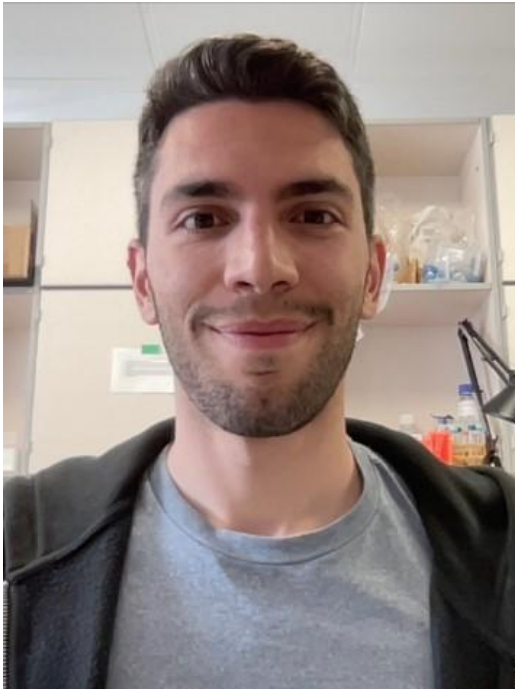
## ***Francesco Pileri, Dottorando, Natoli Group.***

Sono nato a Poggibonsi in provincia di Siena e sono cresciuto a Vagliagli, un piccolo paese di circa 200 abitanti nel cuore del Chianti senese.

Amo andare in bici, i libri, la musica e i concerti ma soprattutto il turismo enogastronomico.

Mi sono trasferito a Bologna per studiare Biotecnologie presso il Collegio Superiore dell'Università, dove ho avuto la fortuna di poter vivere un'esperienza formativa fortemente interdisciplinare e partecipare a progetti che coinvolgevano studenti provenienti da ogni disciplina.

Credo fortemente che la scienza non sia in grado di progredire attraverso gli sforzi intellettuali di un singolo individuo. Al contrario, quello che spinge in avanti la scienza è un processo complesso in cui persone provenienti da background personali e scientifici diversi collaborano sinergicamente. Fare il ricercatore per me significa fare parte di questo processo con entusiasmo e consapevolezza.



Ho iniziato a fare ricerca nel laboratorio di Gioacchino Natoli cinque anni fa come tesista continuando poi come borsista e quindi come dottorando SEMM. Ho sempre utilizzato come modello i macrofagi e al momento sto cercando di identificare e caratterizzare tutte le chinasi coinvolte nella loro attivazione tramite CRISPR screenings. Il mio personale interesse è rivolto alla ricerca di base e alla comprensione dei meccanismi, ma identificare nuove chinasi coinvolte nell'attivazione dei macrofagi significa anche contribuire al processo scientifico fornendo nuovi potenziali bersagli terapeutici ai miei complementari colleghi clinici e traslazionali.

### ***Simone Tamburri, Ricercatore RTD-A, Pasini Group.***



Mi chiamo Simone Tamburri e sono un ricercatore RTD-A dell'università di Milano, affiliato anche all'Istituto Europeo di Oncologia.

Ho una grande passione per gli sport, in particolare il football. Inoltre, mi piace la musica, avendo suonato il sassofono per molti anni. Credo fermamente che la scienza, come lo sport, rappresenti una continua sfida dei propri limiti.

La mia ricerca si focalizza principalmente su vari aspetti dell'epigenetica e della biologia molecolare, con particolare enfasi sulla comprensione del ruolo delle modifiche istoniche nella progressione del tumore e nell'identità trascrizionale. Sono molto affascinato dalla comprensione dei meccanismi biomolecolari oltre i processi biologici. Negli ultimi anni ho deciso di approfondire lo studio della topologia dei complessi attraverso l'uso di tecniche di *cross-linking mass spectrometry*, per comprendere la composizione strutturale del complesso PRC1, ampliando la conoscenza dei meccanismi molecolari che governano questi pathway cellulari critici. Dal punto di vista professionale sono cresciuto molto durante il post doc all'Istituto Europeo di Oncologia a Milano, iniziato a Marzo

2018. Durante questo periodo ho contribuito in maniera sostanziale allo studio dei complessi del gruppo Polycomb nello stabilire l'identità trascrizionale, così come nel caratterizzare la funzione delle modificazioni istoniche, tra cui H2AK119ub1, nelle cellule staminali embrionali murine. Nel mio percorso accademico e professionale, sono stato fortunato di ricevere diversi finanziamenti, borse di studio e premi, tra cui il prestigioso *My First AIRC Grant* nel 2021 e i grant CARIPLO.

What's new in science?

## Cancer genomics in a clinical context.

The past decades have witnessed a remarkable evolution in genomic technologies. Technological approaches formerly employed only in the research and discovery setting are increasingly present in the clinical setting, embedded in the diagnostic path and thus exploited for patient management and selection of the most adequate treatment approach.

The tumor genomic profiling enables the identification of the molecular alterations inducing cancer, thus allowing for the precise pharmacological targeting of the altered process. This targeted treatment approach to oncology patients is called precision medicine, has been revolutionizing cancer care and is likely to play an increasingly larger role in the future medicine. In a review recently published in *CA: A cancer journal for clinicians*, the authors, including Luca Mazarella, Group Leader at the department of experimental oncology of IEO, offer a comprehensive overview of the advances in tumor profiling, emphasizing the key role played by Next Generation

Sequencing (NGS), and provide guidelines to aid clinicians in the implementation of NGS-based tumor molecular profiling in clinical care, addressing issues such as “how to integrate genomic information in clinical routine?” “When is it recommended to use NGS in cancer profiling, for treatment scopes?” “What is the best suited technology, among the numerous available nowadays, to be used?” “How should results be

interpreted?” “What are the most clinically relevant genomic biomarkers?”.

By reviewing and discussing in detail all these aspects, this review aims at supporting clinicians in dealing with the evolving field of genomic-based tumor treatment, drawing at the same time a comprehensive picture of the associated medical-scientific context.

**The success of targeted therapy.** The history of targeted treatment has started in the 1970's, with the approval of **tamoxifen** for the treatment of breast tumors expressing the estrogen receptor;

### Main principles of genomics and cancer.

The authors offer a comprehensive overview of the genetic (at the level of the single genes) and genomic (related to the whole genome) alterations associated with the malignant transformation (**somatic mutations**) or that increase the risk of cancer (**germline mutations**); they delve into the differences between **driver** (cancer-inducing) and **passenger** (not sufficient per se to induce the malignant transformation) mutations; **oncogenes** (which, when mutated, acquire the capability to sustain uncontrolled cell proliferation, resulting in cancer cell proliferation) and **tumor suppressor** genes (which, when mutated, lose their antitumor activity, resulting in cancer cell proliferation); **small** (at the level of single nucleotides or few nucleotide insertions and deletions) vs **structural variants** (large chromosomal rearrangement, such as large insertion and deletion, translocations, copy number alterations). They also explain concepts such as **mutation clonality** (distinguishing between clonal -mostly driver- vs subclonal -mostly resistance-associated- mutations) and **genetic heterogeneity**, namely the co-existence within the tumor mass of different cell subclones characterized by diverse sets of mutations.

Tamoxifen binds this receptor, thus preventing estrogen binding, resulting in the arrest of cancer cell proliferation. In 1998, **trastuzumab** received approval for the treatment of breast cancer overexpressing the HER2 (human epidermal growth factor receptor 2) receptor. Trastuzumab is a HER2 receptor-specific monoclonal antibody and, by blocking the downstream signaling, arrests cancer cell proliferation. Thanks to this treatment, today a high percentage of patients

are cured. Next, *imatinib* has been approved for the treatment of chronic myeloid leukemia characterized by the presence of an abnormal BCR-ABL1 fusion protein. By blocking the activity of this protein, imatinib inhibits leukemic cell proliferation. Over the years other targeted treatments have been approved, which, alone or as part of a combined therapy regimen, allowed to cure numerous patients, demonstrating the huge potential of this treatment approach.

**NGS technology in tumor profiling.** NGS allows for the high throughput profiling of tumors, enabling the simultaneous identification of several cancer-related molecular alterations. On one side, this enables to identify patients to be initiated to specific treatments; on the other side, it enables the identification of previously unknown and potentially clinically meaningful cancer-related molecular alterations. The authors

mandatory. Equally important is the reduction of costs associated with NGS technology which, despite being decreased remarkably in the past years, are still quite high, thus preventing its broad diffusion. Importantly, the possibility of using NGS technology also in the context of liquid biopsy is contributing to sustain its diffusion; indeed, though the clinical implementation of liquid biopsy is still mainly restricted to experimental settings or to complement the results of standard diagnostic procedures, its huge potential as a non-invasive tool for screening and disease monitoring is likely to have soon a huge impact on the diagnostic approach.

**Guidelines for clinicians.** The authors provide guidelines for clinicians to choose between gold standard approaches for tumor molecular profiling and NGS, highlighting that, in spite of a comparable specificity and sensitivity, the choice

### Genomic sequencing and data analysis.

The tumor molecular profiling is made of different phases, for sample preparation and data analysis: i. DNA extraction from the patient tissue sample; ii. library preparation; iii. generation of raw sequencing data; iv. raw data processing (a. filter out poor-quality data; b. alignment to a reference genome; c. algorithm-based determination of genomic alteration -e.g. small vs variants, etc-; d. assessment of the impact on protein synthesis; e. filtering of germline variants); v. determination of driver vs passenger mutation (through the use of databases, in silico predictions, literature review); vi. identification of clinically relevant mutations, in diagnostic, prognostic or therapeutic terms, through knowledge bases and literature reviews; vii. data interpretation.

of the most appropriate approach largely depends on the cancer type and, overall, NGS represents the best option to analyze several genes simultaneously and for exploratory analyses.

They report recommendations for selecting a patient for a tumor molecular profiling, highlighting how this is important in case targeted therapy is available and, for germline testing, according to family history, to initiate individuals at risk to specific

discuss how technological advances and the development of NGS-based approaches have enabled to go from single gene testing to whole genomic profiling in a time- and cost- effective manner. In this regard, gene panels have been rapidly gaining their place in the implementation of NGS-based approaches in clinical routine: By including a specific set of genes to be tested, gene panels enable the rapid testing of clinical samples. NGS thus holds the potential, in the next future, of replacing the current gold standard technological assays (such as FISH, PCR, IHC) in the identification of cancer alterations. However, to this aim, thorough validation as well as standardization of procedures and workflows are

surveillance programs.

To further aid clinicians in the implementation of genomic testing in clinical practice, they offer basic information about sequencing procedures and data analysis, as well as hints for data interpretation (such as considering tumor cellularity of the sample, details on the NGS method employed, or the variant allele frequency (VAF). The VAF, a feature of somatic mutations, represents the number of DNA molecules in the sample carrying that mutation as a proportion of all DNA molecules).

To help clinicians and offer actual support in dealing with the rapidly evolving field of NGS-based technologies in clinical routine and

the interpretation of the results of molecular analyses according to guidelines being continuously updated, bodies such as the interdisciplinary Molecular Tumor Boards of experts offer fundamental support.

**What are the implications for patients?**

Integrating tumor genomic information in clinical routine has remarkable implications for patients; indeed, it allows to have patients undergoing targeted therapy, either tumor type-specific or tumor-agnostic (namely, the treatment of patients with a specific targeted treatment independently from the tumor type in which the mutation is found). This is currently happening for lung tumors characterized by a specific alteration of the EGFR gene, who are treated with EGFR inhibitors (tumor-specific therapy), or for NTRK inhibitors, BRAF/MEK inhibitors, immune checkpoint inhibitors (tumor-agnostic therapy). Moreover, the tumor molecular profiling may offer to the patient the possibility to be enrolled in clinical trials and thus receive experimental therapeutic approaches, offering new treatment options, and hopes, for currently untreatable tumors. Finally, for germline pathogenic/likely pathogenic mutations, the identification of

molecular alterations would enable to initiate the individual and family members to specific prevention/surveillance paths.

**Tumor genomic profiling in the clinical setting:**

**Current challenges.** Finally, aspects requiring particular attention to achieve the full exploitation of genomic data in the clinical routine are discussed: Extending access to genomic profiling is the first key step. In this regard, on one side, selecting patients for genomic profiling is crucial, and should take into consideration issues related to the cost of the procedure (and reimbursement); on the other side, the creation of networks offering to patients access to such technological assays. Finally, the training of the clinicians and the expertise provided by the molecular tumor board is also critical.

Genomic profiling is progressively entering the clinical routine and will be an increasingly larger part of it in the coming years. It is thus essential for clinicians to fully understand its potential and to know how to properly employ it, to ultimately improve cancer patient treatment outcome.

**Reference.** Interpreting and integrating genomic tests results in clinical cancer care: Overview and practical guidance. *Raffaella Casolino, Philip A Beer, Debyani Chakravarty, Melissa B Davis, Umberto Malapelle, Luca Mazzeo, Nicola Normanno, Chantal Pauli, Vivek Subbiah, Clare Turnbull, C Benedikt Westphalen, Andrew V Biankin.* CA Cancer J Clin 2024. doi: 10.3322/caac.21825.

What's new in science?

## From a proteomic analysis, a prognostic marker in pancreatic tumor.

By exploiting a proteomic approach, the authors developed a prognostic model that, on the basis of 14 proteins differentially abundant in pancreatic cancer tissue as compared to normal tissue, is able to predict patient survival. Moreover, they identified two proteins whose expression levels distinguish patients more likely to respond to chemotherapy administered after surgery. These tools could aid clinicians in finding the best therapeutic approach, personalized on the basis of patients' features, both effective and well tolerated.

Pancreatic tumor in the early stage is usually treated with surgery. After surgical resection of the primary mass, patients usually undergo adjuvant chemotherapy. However, patients very often relapse. Previous clinical studies have proposed an alternative drug to be used in the adjuvant setting (namely after the surgical resection of the primary tumor), well tolerated by the patients. So, as different therapies are available, identifying factors enabling to distinguish likely responders from non-responders are needed, in order to identify the best therapeutic option and tailor the treatment to the patient's and tumor's features.

**Main finding.** In the frame of a prospective clinical trial, exploiting a proteomic approach, the authors developed a predictive model that, on the basis of the differential expression level of 14 proteins in pancreatic cancer (PDAC) vs adjacent non-tumor tissue, is able to predict patient prognosis. Moreover, they identified two protein biomarkers (NDUFB8 and CEMIP2) of response to adjuvant chemotherapy.

**Results.** The prospective observational study enrolled 1171 surgically treated PDAC patients. Proteomic analyses revealed a number of up- and down-regulated proteins in treatment-naive tumor tissue and in tumor-adjacent normal tissues. The identified proteins were involved in specific biological processes; some of those (such as ribosome function, RNA splicing, metabolism and oxidative phosphorylation) were negatively correlated with tumor size. Among the

upregulated proteins in tumors, they found some associated with biological processes such as epithelial-mesenchymal transition, extracellular matrix remodeling, glucose metabolism, hypoxia. Some proteins were related to poor patient overall survival, while others were associated with good overall survival and disease-free survival.

By exploiting 14 of the proteins differentially abundant in tumor tissue as compared to the adjacent normal tissue, the authors built a predictive model: a high score of this model distinguished patients with worse prognosis. The model was validated in independent validation patient cohorts.

Further analyses revealed that, among these differentially abundant proteins, two could be used as biomarkers of response to adjuvant chemotherapy: NDUFB8 –down-regulated in PDAC– and CEMIP2 –up-regulated in PDAC. In particular, independently from the specific chemotherapeutic used, patients responding differently to chemotherapy had a different abundance of these two proteins: low NDUFB8 expression or high CEMIP2 expression correlated with better overall survival of chemo-treated patients, demonstrating that these two proteins can actually identify patients more or less likely to benefit from chemotherapy, therefore guiding clinicians in finding the best treatment approach. The correlation of these two biomarker abundances with chemosensitivity, defined through the analysis of patients' data, was

experimentally confirmed (by immunohistochemistry).

Finally, NDUFB8 and CEMIP2 proteins also distinguished patients responding to the combined treatment including gemcitabine (specifically, the gemcitabine, paclitaxel, fluorouracil combine treatment), suggesting a potential role of these two proteins in identifying the patients more likely to benefit from this therapeutic approach.

Finally, silencing of NDUFB8 (which is downregulated in PDAC) reduced cancer cell viability, whereas CEMIP2 (which is upregulated in PDAC) silencing resulted in cancer cell resistance to gemcitabine-including treatment.

**Conclusions.** By exploiting a proteomic approach, the authors developed –and validated– a prognostic model that, on the basis of 14 proteins differentially abundant in pancreatic cancer tissue as compared to adjacent normal tissue, predicted patient overall survival. Moreover, they identified two protein biomarkers distinguishing patients more likely to respond to adjuvant treatment. These tools hold the potential to aid clinicians in finding the best, personalized treatment approach for patients, correctly balancing efficacy and tolerance/effects on quality of life.

**Reference.** Prospective observational study on biomarkers of response in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Lingxi Jiang, Jiejie Qin, Yuting Dai, Shulin Zhao, Qian Zhan, Peng Cui, Lingjie Ren, Xuelong Wang, Ruihong Zhang, Chenxu Gao, Yanting Zhou, Shangli Cai, Guoqiang Wang, Wenchuan Xie, Xiaomei Tang, Minmin Shi, Fangfang Ma, Jia Liu, Ting Wang, Chaofu Wang, Magali Svrcek, Armelle Bardier-Dupas, Jean Francois Emile, Louis de Mestier, Jean-Baptiste Bachet, Remy Nicolle, Jerome Cros, Pierre Laurent-Puig, Miaoyan Wei, Bin Song, Wei Jing, Shiwei Guo, Kailian Zheng, Hui Jiang, Huan Wang, Xiaxing Deng, Hao Chen, Qiang Tian, Shengyue Wang, Si Shi, Gang Jin, Tong Yin, Hai Fang, Saijuan Chen & Baiyong Shen.* Nature medicine 2024. doi: 10.1038/s41591-023-02790-x.



What's new from IEO Researchers?

## Preclinical studies show that caloric restriction and LSD1 inhibitors eradicate leukemia.

Previous preclinical and clinical studies showed that a dietary regimen characterized by reduced calorie intake (caloric restriction, CR) has an anti-tumor effect and is able to enhance the efficacy of anti-cancer therapy. CR results in the reduced availability of nutrients and lower the levels of circulating insulin and the growth factor IGF1 (insulin-like growth factor). However, how all that ultimately limits tumor growth is poorly known.

In a recent paper by Rani Pallavi et al., the authors, supervised by Luca Mazzeo –Group Leader at the Department of Experimental Oncology of IEO– and Pier Giuseppe Pelicci –IEO Director of research–, describe, at molecular

level, CR effect on leukemia (acute myeloid leukemia –AML– and acute promyelocytic leukemia –APL, an AML subtype characterized by the 15-17 chromosome translocation) and breast cancer cells. They show that, in cancer cells, CR reduces the activation of the “insulin/IGF1” pathway and the “dsRNA sensing/IFN response” pathway. The reduced activation of these pathways transiently arrests tumor progression but it also increases the abundance of leukemia stem cells (LSCs) –a subpopulation of cancer cells fueling tumor progression and relapse–, resulting in a more aggressive disease. However, in such CR-induced nutrient-deprived conditions, in which LSCs have adapted to survive, the treatment with LSD1 inhibitors –by re-activating the dsRNA sensing/IFN response pathway– kills leukemia cells and eradicates the disease. Currently, several inhibitors of LSD1 and insulin/IGF1 pathway are in clinical trials. By dissecting the underlying molecular mechanisms, this work proposes the combined administration of the two drugs –targeting tumor epigenetics and metabolism,

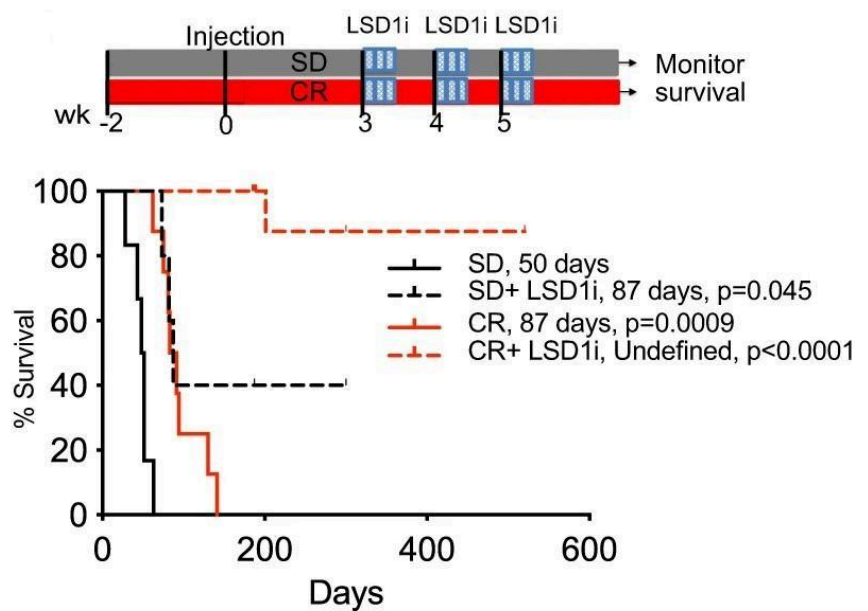


Figure from Pallavi et al., Nature Communications 2024. \*

***“In cancer cells, caloric restriction reduces the activation of the “insulin/IGF1” pathway and the “dsRNA sensing/IFN response” pathway, transiently arresting tumor progression but also increasing the abundance of leukemia stem cells, resulting in a more aggressive disease. However, in such caloric restriction-induced nutrient-deprived conditions, in which LSCs have adapted to survive, the treatment with LSD1 inhibitors -by re-activating the dsRNA sensing/IFN response pathway- kills leukemia cells and eradicates the disease”***

respectively– as a potential novel and effective therapeutic approach against cancer.  
Read the press release [here](#) (Italian only).

### Insulin/IGF1 pathway as an anticancer target.

The insulin pathway is being investigated as a potential anticancer target in the context of several clinical studies. The hyperactivation of this pathway is a feature of different tumor types, supporting cancer growth, metastatic dissemination and therapy resistance. Therefore, the pharmacological inhibition of this pathway appears to be a promising therapeutic strategy, which has been attempted through a number of different approaches: Via i. silencing of the IGF1 receptor; ii. IGF1 receptor neutralization through the use of specific antibodies, such as Ganitumab -which showed significant antitumor effect in phase I and II clinical trials, alone or in combination, in different tumor types, with acceptable toxicity, and is currently being tested in phase III clinical trials- and Xentuzumab -showing antitumor activity in phase I studies-; or iii. small inhibitors (TKIs), such as Linsitinib (OSI-906) -which, by targeting IGF1 receptor, induced stable disease in refractory patients-, AXL-1717 -showing antitumor efficacy in phase I trials-, or imatinib for the treatment of CML. The inhibition of this pathway is also being tested in combination therapy in a number of clinical trials.

By employing mouse models of AML, APL and breast cancer, the authors observed that, in APL, the antitumor effect of CR was only transient. Indeed, while in CR leukemia is initially arrested, later on disease progression is resumed and the number of LSCs increases. LSCs grown in mice fed a low calorie diet show a largely different gene expression profile as compared to those isolated from mice fed a standard diet, being characterized by the downregulation of genes of the “insulin/IGF1” pathway and the dsRNA sensing/IFN response” (dsRNA) pathway. The dsRNA pathway -which is downregulated by CR, enabling LSC survival- is known to be repressed- by LSD1. Consistently, they show that CR-induced downregulation of the dsRNA pathway can be pharmacologically reverted by LSD1 inhibition, ultimately fostering leukemia cell death. Therefore, CR and LSD1 inhibitors synergize and completely eradicate leukemia: Mouse survival is increased, spleen and bone marrow go back to normal, leukemic blasts disappear. Importantly, LSD1 inhibition and CR synergize and induce cell death only in leukemic cells but do not exert any effect on normal cells (as observed in multilineage progenitors,

myeloblasts, myelocytes), except for red cell progenitors, which are a known target of LSD1 inhibitors, thus causing reversible anemia. Between the two cellular pathways –mTOR pathway and insulin/IGF1 pathway– known to be affected by CR, the authors confirmed that LSD1 inhibitors (by acting on the dsRNA pathway) interfere with the insulin/IGF1 pathway. Indeed, similar to the effect observed in CR-fed animals, pharmacological

inhibition of the insulin/IGF1 pathway by osi-906 –a molecule currently in clinical trials as an anticancer drug- synergizes with LSD1 inhibitors resulting in disease eradication. Consistently, in vitro inhibition of insulin/IGF1 pathway by osi-906 recapitulates the gene expression alterations observed in leukemia cells grown in CR-fed mice. Further in vitro mechanistic analyses showed that LSD1 inhibitors completely revert the effects of CR on the dsRNA pathway, through the de-repression of the same transposable elements modulated by CR. Apoptosis of leukemia stem cells occurs through the activation of TRAIL and the downregulation of CFLAR, a known anti-apoptotic factor. High resolution (single cell) gene expression analyses revealed the presence, following LSD1 inhibition and CR, of a subpopulation of leukemic stem cells expressing both Cd34 and Cd177 marker proteins (the latter one recently identified as a negative prognostic factor for myeloid leukemias). This cell subpopulation is characterized by metabolically quiescent phenotype, typical of dormant normal hematopoietic stem cells (featured by decreased proliferation, OXPHOS expression, MYC, and

### LSD1 inhibitors.

Identified in 2004, LSD1 is a protein that, through the chemical modification of histones -proteins involved in DNA packaging-, regulates DNA 3D structure and thus gene expression, in turn influencing cell processes such as differentiation, proliferation, migration. LSD1 expression is altered (overexpressed) in a number of tumor types, making it a potential attractive target of molecular therapies. Nowadays, nine LSD1 inhibitors are in clinical trial for the treatment of hematological and solid tumors, Alzheimer's disease, personality disorders. IEO researchers previously defined mechanism of action and demonstrated antitumor efficacy, in different preclinical models, of LSD1 inhibitors in countering leukemia progression and glioblastoma growth.

breast cancer, indicating that the synergy between LSD1 inhibitor and CR is not specific to APL but it could be exploited also in other solid and hematological tumor types.

In conclusion, the authors dissected the mechanism underlying the synergistic strong antitumor effect of LSD1 inhibitor and CR, offering potential novel targetable

mechanisms to be exploited in a therapeutic setting.

Interferon alpha/gamma genes). Finally they show that CR and LSD1 inhibition exert an antitumor effect also in preclinical in vivo models of other leukemia (non-APL AML) subtypes and in

**Reference.** Caloric restriction leads to druggable LSD1-dependent cancer stem cells expansion. *Rani Pallavi, Elena Gatti, Tiphonie Durfort, Massimo Stendardo, Roberto Ravasio, Tommaso Leonardi, Paolo Falvo, Bruno Achutti Duso, Simona Punzi, Aobuli Xieraili, Andrea Polazzi, Doriana Verrelli, Deborah Trastulli, Simona Ronzoni, Simone Frascolla, Giulia Peticari, Mohamed Elgendy, Mario Varasi, Emanuela Colombo, Marco Giorgio, Luisa Lanfrancone, Saverio Minucci, Luca Mazzarella, Pier Giuseppe Pelicci.* Nature communications 2024. doi: 10.1038/s41467-023-44348-y.

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

*What's new from IEO Researchers?*

## Anti-PD1 immunotherapy for the treatment of metastatic cancer of the cervix.



*Nicoletta Colombo*

Despite the lower prevalence of cancer of the cervix, due to effective screening and human papillomavirus testing and vaccination, more than 600.000 women are still diagnosed with this tumor every year. While early tumors can be efficiently cured (by surgery and adjuvant therapy), advanced/metastatic disease is less easy to manage; patients are usually treated with chemotherapy (platinum- and taxane-based) in combination with antiangiogenic agents that, preventing the formation of new blood vessels that “feed” cancer cells, *de facto* counter tumor progression.

In a paper recently published in JAMA oncology, in the frame of the international, phase 3 “KEYNOTE-826” clinical trial, the authors,

including Nicoletta Colombo –Director of the IEO Gynecology Program and Associate Professor at the University of Milano-Bicocca– investigated antitumor efficacy of the addition of pembrolizumab immunotherapy –namely, the antibody specifically binding PD1 protein– to the standard chemotherapy treatment, *independently* from the specific chemotherapeutic administered, or the addition of the antiangiogenic drug bevacizumab, in patients with persistent/recurrent/metastatic cervical cancer.

The KEYNOTE-826 study enrolled a total of 617 patients, in 151 different centers, in 19 different countries. Recruited patients were randomly assigned to receive either anti-PD1 treatment in

addition to chemotherapy (platinum- and taxane-based, with or without the antiangiogenic drug bevacizumab), or placebo. Pembrolizumab acts by binding PD1 protein expressed on the surface of immune cells, preventing its interaction with PDL1 protein on tumor cells; by blocking PD1-PDL1 interaction, it removes a brake to the activity of the immune

system against tumor cells.

Therefore, tumors were also analyzed to assess PD-L1 expression.

Firstly, they further confirmed the antitumor efficacy of the addition of pembrolizumab to chemotherapy for the treatment of recurrent/metastatic cancers, with no additional toxic effects; these results were described in a paper previously published in The New England Journal of Medicine by Nicoletta Colombo and colleagues (N. Colombo et al., NEJM 2021\*).

Secondly, their analyses demonstrated the efficacy of this treatment regimen *independently*

***“both in patients treated with the chemotherapeutic cisplatin and in those treated with carboplatin, with or without the antiangiogenic drug bevacizumab, immunotherapy with pembrolizumab has a significant antitumor efficacy”***

from the specific (platinum-based) chemotherapeutic agent employed, or the actual inclusion of antiangiogenic drugs: Both in patients treated with the chemotherapeutic drug cisplatin and in those treated with carboplatin, with or without the parallel administration of the anti-angiogenic drug bevacizumab, pembrolizumab-based immunotherapy had a significant antitumor efficacy.

Pembrolizumab addition to the therapy regimen increases both overall survival and progression-free survival and provides benefits both in squamous and non-squamous tumor subtypes (the latter one more likely to be PDL1-negative).

In conclusion, this study strongly supports the inclusion of anti-PD1 immunotherapy to the standard approach for the treatment of recurrent/metastatic cancer of the cervix.

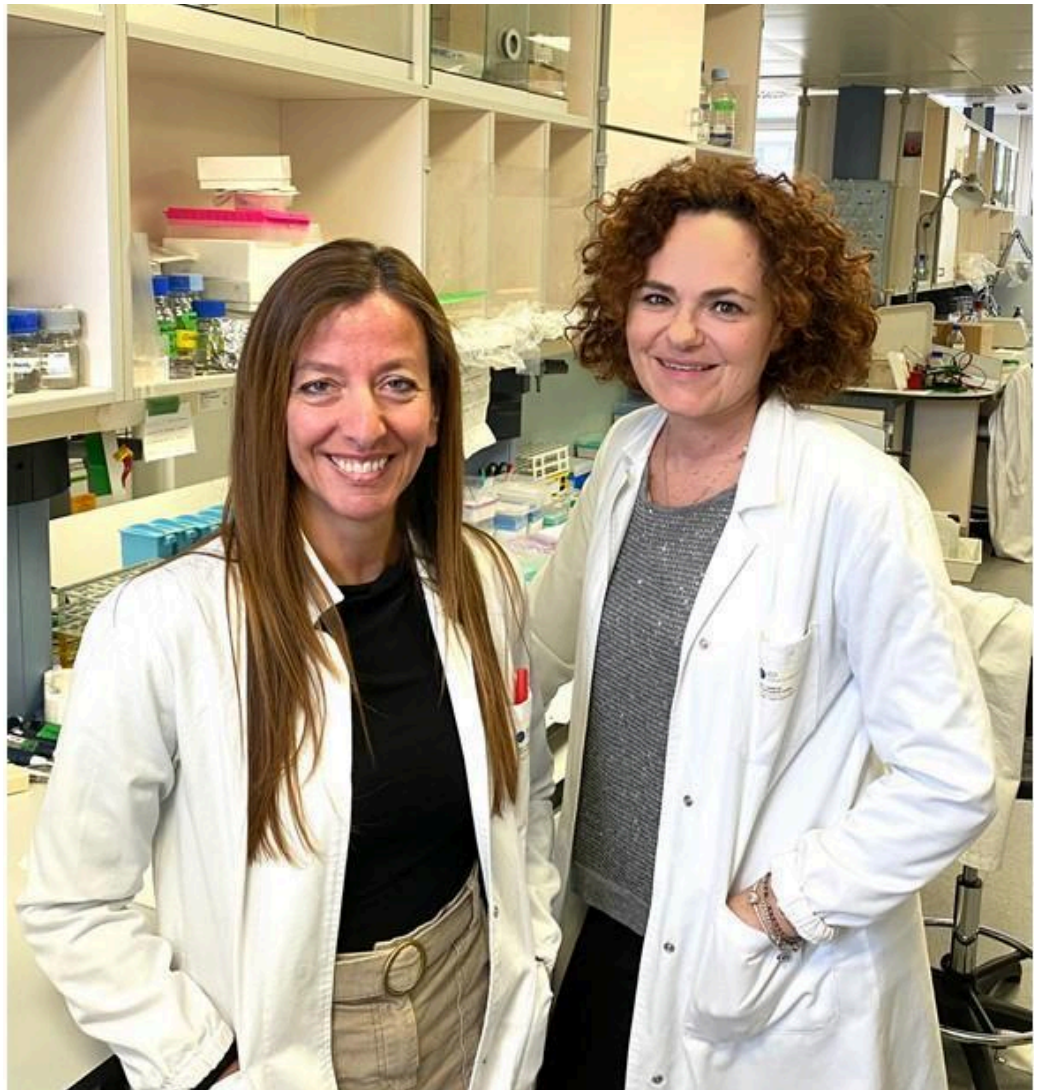
**Reference.** Pembrolizumab or Placebo Plus Chemotherapy With or Without Bevacizumab for Persistent, Recurrent, or Metastatic Cervical Cancer: Subgroup Analyses From the KEYNOTE-826 Randomized Clinical Trial. *Krishnansu S Tewari, Nicoletta Colombo, Bradley J Monk, Coraline Dubot, M Valeria Cáceres, Kosei Hasegawa, Ronnie Shapira-Frommer, Pamela Salman, Eduardo Yañez, Mahmut Gümüş, Mivael Olivera Hurtado de Mendoza, Vanessa Samouëlian, Vincent Castonguay, Alexander Arkhipov, Cumhuri Tekin, Kan Li, Sarper Toker, Stephen M Keefe, Domenica Lorusso.* JAMA Oncol, February 2024. doi: 10.1001/jamaoncol.2023.5410.

\*Pembrolizumab for Persistent, Recurrent, or Metastatic Cervical Cancer. *Nicoletta Colombo, Coraline Dubot, Domenica Lorusso, M Valeria Cáceres, Kosei Hasegawa, Ronnie Shapira-Frommer, Krishnansu S Tewari, Pamela Salman, Edwin Hoyos Usta, Eduardo Yañez, Mahmut Gümüş, Mivael Olivera Hurtado de Mendoza, Vanessa Samouëlian, Vincent Castonguay, Alexander Arkhipov, Sarper Toker, Kan Li, Stephen M Keefe, Bradley J Monk; KEYNOTE-826 Investigators.* N Engl J Med 2021. doi: 10.1056/NEJMoa2112435.

*What's new from IEO Researchers?*

## Proteomic analyses identify potential novel epigenetic biomarkers of uveal melanoma.

Uveal melanoma (UM) is the most diffused tumor of the eye among adults, significantly different from skin melanoma in its main features, cancer-associated mechanisms, response to therapy. From a genetic point of view, UM is rather well characterized; main driver mutations are indeed identified. However, during tumor progression, epigenetic alterations -chemical modifications of DNA-associated histone proteins involved in DNA packaging and of the DNA itself- often emerge, which are still poorly characterized despite being potentially useful prognostic/diagnostic markers, or therapeutic targets. Indeed, differently from genetic alterations, epigenetic alterations can be pharmacologically reverted, emphasizing the need to investigate in depth the epigenetics-related cellular mechanisms. Histone post-translational modifications (PTM) are epigenetic traits crucially involved in the control of gene expression, altered in several



*Roberta Noberini and Tiziana Bonaldi*

tumor types, and thus leading to altered gene expression, possibly driving tumorigenesis. In a recent paper resulting from the collaboration of Martina Herwig-Carl from the University Hospital of Bonn with Roberta Noberini and Tiziana Bonaldi –senior scientist and group leader at the Department of Experimental Oncology of

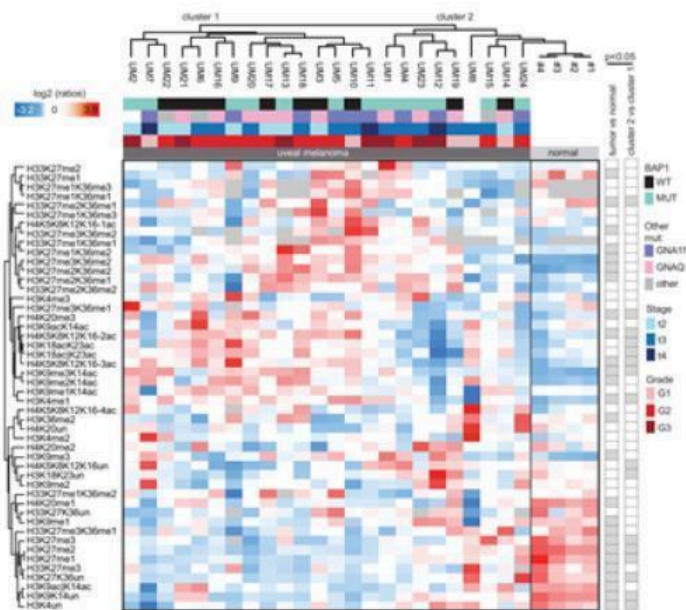


Figure from Herwig-Carl et al., *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2024.\*

IEO, respectively–, the authors exploited mass spectrometry to profile, for the first time, the histone PTM landscape in UM. They quantified histone PTMs in (age-matched) patient-derived UM and normal control tissues, identifying differences in histone PTMs (methylation and acetylation of histone proteins H3 and H4) either increased or decreased in tumor tissue vs normal ones, or specifically associated to different tumor staging. Finally, they found that some PTMs seem to correlate with BAP1 status (specifically, some histone PTMs were reduced in tissues carrying BAP1 mutations). Mutations in the gene coding for BAP1 have been previously proposed as a prognostic factor, predicting the risk of metastatic dissemination of UM. Moreover, several studies highlight BAP1 active role in modulating the cellular epigenetic landscape: BAP1 is physiologically responsible for the regulation of the de-ubiquitination of

## Mass spectrometry-based proteomics in the clinical setting.

By allowing a precise quantification of proteins and proteoforms (namely, different protein forms resulting from genetic variations, splicing isoforms, and PTMs), mass spectrometry-based proteomics has been finding its way towards clinical application. Biomarker discovery research, indeed, has unraveled the great potential of this methodology, for the analysis of cells, tissues, liquid samples, allowing for the identification of differentially expressed marker proteins capable of defining a pathological state, thus representing a powerful tool for diagnosis, prognosis or disease monitoring. Bonaldi's group, in collaboration with IEO researchers and clinicians has previously combined mass spectrometry and machine learning to profile microvesicles in the blood (which are characterized by a specific protein content mirroring the features of the cells that released them), identifying a number of proteins that can distinguish early stage lung cancer patients from healthy subjects at high risk of developing the disease, thus providing a list of potential novel disease biomarkers of early disease (Gasparri et al., PMID: 36645712). Moreover, by exploiting their optimized technique for mass spectrometry-based analysis of very small tissue samples, they found that the levels of some isoforms of histone protein H1 were significantly decreased in primary tumors of triple-negative breast cancer patients who relapsed three years after treatment, proposing H1 as a biomarker to distinguish those patients at high risk of relapse and thus initiate them to the appropriate treatment (Noberini et al., PMID: 33020374). Through technological advancements as well as the validation of candidates biomarkers, through other biochemical approaches and/or in larger patient cohorts, in the context of collaborative networks and in large cooperative research efforts, these biomarkers can be employed in the future to develop diagnostic tools routinely exploitable in a clinical-diagnostic setting, contributing to make mass spectrometry-based proteomics a powerful technology along with other -omic approaches.

histone H2A (e.g. see Conway et al., Mol Cell 2021) – ubiquitination level is thus altered upon BAP1 mutation/loss of expression, frequently observed in tumors. BAP1 can also indirectly affect histone H3 methylation levels, through the interaction with the polycomb complex, and its expression alters cell acetylation levels, by interfering with HDAC protein activity, suggesting an active role of this protein in tumorigenesis, through the direct and indirect modulation of gene expression. In light of this scientific evidence, these results further underline the importance of deepening the correlation among BAP1 mutations, global epigenetic profile of

cancer cells -with variations in PTM landscape- and mechanisms underlying tumorigenesis in UM.

Although results will need to be confirmed in larger patient cohorts, this study, on one side, contributes to the identification of epigenetic-related tumorigenesis mechanisms in UM; on the other side, provides potential novel epigenetic prognostic/diagnostic markers of UM, to be exploited in a diagnostic setting. Finally, once again, highlights the key role of mass spectrometry-based proteomics in biomarker discovery.

**Reference.** Mass Spectrometry-Based Profiling of Histone Post-Translational Modifications in Uveal Melanoma Tissues, Human Melanocytes, and Uveal Melanoma Cell Lines - A Pilot Study. *Martina C Herwig-Carl, Amit Sharma, Verena Tischler, Natalie Pelusi, Karin U Loeffler, Frank G Holz, Michael Zeschnigk, Solange Landreville, Claudia Auw-Haedrich, Roberta Noberini, Tiziana Bonaldi.* Invest Ophthalmol Vis Sci, February 2024. doi: 10.1167/iops.65.2.27.

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



*What's new from IEO Researchers?*

## Molecular mechanisms regulating intestinal homeostasis.

Proliferating intestinal stem cells have the ability to differentiate in all cell types of the gastro-intestinal tract, constantly renewing the intestinal epithelium. Tufts cells are a rare secretory subpopulation of the intestine with critical immune function. Tuft cells monitor the environment and respond to given pathological conditions. In case of tissue damage, intestinal stem cells proliferate and differentiate into Tuft cells, which in turn foster a specific immune response that reduces inflammation, preventing the progression towards ulcerative colitis. Ulcerative colitis is considered a precancerous event in colon tumorigenesis; therefore, Tuft cells may be involved in tumorigenesis and a better understanding of their biology may ultimately contribute to the development of novel therapeutic approaches against human intestinal diseases.

*“Tuft cells may be involved in tumorigenesis and a better understanding of their biology may ultimately contribute to the development of novel therapeutic approaches against human intestinal diseases”*

In a recent paper by Annachiara Del Vecchio, Patrizia Mule' et al., the authors, supervised by Diego Pasini –Group leader at the department of experimental oncology of IEO– demonstrated that although the activity of PCGF6 protein –member of the PRC1.6 protein complex, which acts by repressing the expression of specific genes in specific conditions– is not needed to confer self-renewal ability to intestinal stem cells, it is implicated in the cell-intrinsic activation of the gene expression program regulating Tuft cell differentiation. In particular, the authors showed, for the first time, that PCGF6 protein, independently from the activity of the PRC1 protein complex, through the methylation of histone 3 (H3K9me2), regulates gene expression, thus modulating Tuft cell differentiation. This cell-intrinsic mechanism in turn affects the intestinal microenvironment. Indeed, in the absence of PCGF6, the alteration of gene expression programs increases the numbers of Tuft cells which, in turn, lead to the activation of an immune cell type (type 2 innate lymphoid cells,



*Diego Pasini*

ILC2) in the intestinal microenvironment.

This work thus expands the current knowledge on the biomolecular mechanisms regulating Tuft cell differentiation in physiopathological conditions, potentially offering a novel target to interfere with intestinal pathologies.

The authors observed that PCGF6 deletion did not affect intestinal stem cell ability to self-renew. Conversely, PCGF6 loss (by inducing a partial loss of CTCF and RAD21 as well as reducing the binding to the DNA of two intestinal transcription factors – KLF4 and KLF5) altered the gene expression program of Tuft cells, resulting in the upregulation

of specific genes

“defining”

Tuft cell identity.

Consistently, in vivo, the

gene expression changes accompanying PCGF6 loss resulted in the increased abundance of Tuft cells.

Tuft cells activated by pathological stimuli secrete molecules (such as interleukin-25, IL-25) that contribute to the recruitment of ILC2 immune

*“PCGF6 protein activity is implicated in the activation of specific gene expression programs regulating differentiation of Tuft cells”*

cells. Consistently, the increased abundance of Tuft cells elicited by PCGF6 loss resulted in the activation of ILC2, indicating that, by inducing Tuft cell accumulation, PCGF6 influenced the intestinal immune microenvironment.

The increased abundance of Tuft cells induced by PCGF6 loss was not induced by the microenvironment; it was rather a cell-intrinsic mechanism. Indeed, mechanistically, PCGF6 binding to the promoters of marker genes of Tuft cell

differentiation regulated Tuft cell differentiation, independently from PRC1 repression (and ubiquitin deposition, H2AK119ub1), but relying on PCGF6 control of gene expression, through H3K9me2.

**Reference.** PCGF6 controls murine Tuft cell differentiation via H3K9me2 modification independently of Polycomb repression. *Annachiara Del Vecchio, Patrizia Mulé, Daniel Fernández-Pérez, Simona Amato, Georgia Lattanzi, Marika Zanotti, Samantha Rustichelli, Silvia Pivetti, Paola Oldani, Andrea Mariani, Fabiola Iommazzo, Haruhiko Koseki, Federica Facciotti, Simone Tamburri, Karin J Ferrari, Diego Pasini.* Dev Cell, February 2024. doi: 10.1016/j.devcel.2023.12.015.

What's new from IEO Researchers?

# A collaboration to work efficiently: A protein complex enables the interplay between cell metabolism and regulation of gene expression.

A number of preclinical studies point to the anticancer efficacy of a therapeutic approach targeting at the same time cancer cell metabolism and epigenetics –the ensemble of chemical modification of histone proteins associated to the DNA and the DNA itself–, strongly suggesting the existence of an interplay between these mechanisms. Despite being classically considered distinct –on one side epigenetics, which controls

gene expression with its chemical modifications, and on the other side metabolism, through which cells produce the energy needed–, experimental evidence indicate that these two are strictly linked, influence each other and collaborate for the correct cell functioning, thus providing a mechanistic explanation of the therapeutic effects observed in preclinical models (see also [Mitro et al., Frontiers in Endocrinology 2024](#)).

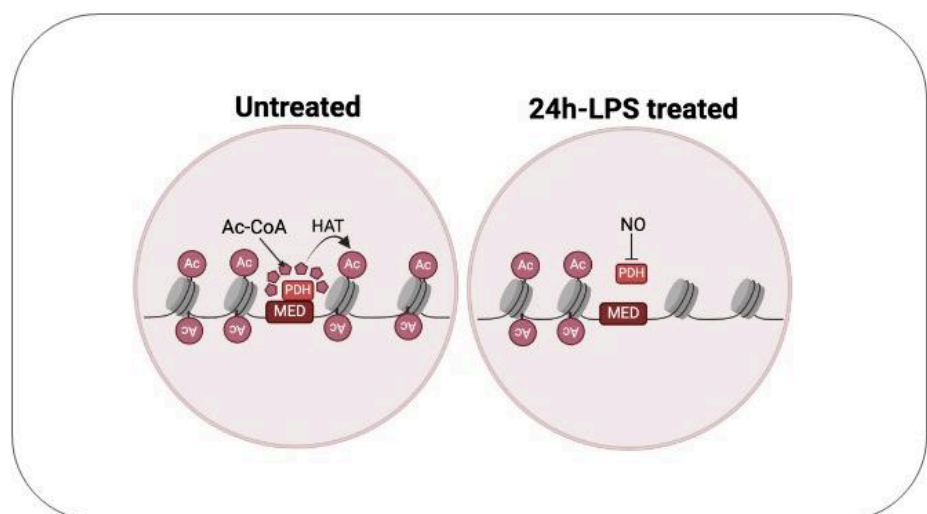
Acetyl-CoA (Acetyl-coenzyme A) and SAM (Sadenosyl-methionine) are molecules produced through the cell's metabolism and are employed by the cell for the chemical/epigenetic modification -acetylation and methylation, respectively- of many proteins, including histones, thus modulating gene expression. The transient, localized –rather than general– increase of acetyl-CoA and SAM at specific DNA sites, in close proximity to the proteins involved in epigenetic modifications, may be responsible for histone modification

and, as a consequence, the precisely regulated control of gene expression.

How are these factors all brought together, cooperatively working to regulate gene expression?

In a recent paper by Russo, Gualdrini et al., the authors, supervised by Gioacchino Natoli and Serena Ghisletti, in collaboration with Simona

*“preclinical studies indicate the antitumor efficacy of a therapeutic approach targeting at the same time, cancer cell metabolism and epigenetics, strongly suggesting that these two mechanisms are tightly linked, affect each other, and collaborate for cell functioning, thus providing a molecular explanation of the therapeutic effects observed in preclinical models”*



Created with BioRender.com by Marta Russo

Rodighiero, Tiziana Bonaldi, Nico Mitro, Alessandro Cuomo and their collaborators, demonstrated that a protein complex with a critical role in transcriptional regulation, “Mediator” binds specific DNA regions regulating gene expression (namely enhancers and promoters), directly interacting with acetyl-CoA-producing proteins, thus allowing for acetyl-CoA production at those specific sites where epigenetic modifiers are, in turn modulating histone modifications and gene expression.

By bringing together acetyl-CoA-producing and acetyl-CoA-using enzymes, Mediator creates a “molecular platform” that allows for the high, yet localized, increase of acetyl-CoA wherever needed and whenever

*“the protein complex named Mediator binds specific regions of the DNA regulating gene expression and directly interacts with acetyl-CoA-generating proteins. By bringing together acetyl-coA -producing and acetyl-coA-using proteins, Mediator creates a “molecular platform” enabling high, yet localized, increase of aceyl-CoA whenever needed, wherever requested, for a rapid response to specific conditions.”*

required for a rapid response to specific conditions; for instance, when an inflammatory response needs to be terminated.

Therefore, this study highlights the key role of the protein complex Mediator in the interplay between metabolism and epigenetics and lays the foundations for further studies aimed at defining all the molecular actors involved in this interaction, which may offer novel therapeutic targets to precisely interfere with these processes, whenever altered.

By exploiting three different technical approaches, the authors showed that, in the nucleus, the Mediator complex interacted with the acetyl-CoA-producing enzymes and with the DNA.

The acetyl-CoA-producing enzymes binding to Mediator promoted their activity and, indeed, when the Mediator protein complex was disrupted, the activity of acetyl-CoA-producing enzymes was significantly impaired. Macrophage activation, induced by the stimulation with LPS molecule, triggered the increase of NO (nitric oxide, a key molecule in cell oxidation and macrophage activation) and acetyl-CoA-producing enzyme activity resulted to be inhibited; conversely, the inhibition of NO production rescued acetyl-CoA production. Molecularly, LPS-induced generation of NO impaired

acetylation of histone 3 (H3K27ac) at specific sites of the DNA, where Mediator brought together acetyl-CoA-producing and CoA-using enzymes (the histone acetyltransferases), to tightly

modulate gene expression (the overall acetylation levels, indeed, were not affected). This, in turn, strongly impacted on cell processes downstream, such as metabolism and gene expression (genes of the mitochondrial respiratory chain and genes of the inflammatory response resulted to be particularly affected).

The acute LPS-induced increase of CoA deposition at specific DNA sites was similarly affected by the inhibition of NO production and by the disruption of the Mediator complex, indicating that Mediator plays a key role in bringing the



Marta Russo

acetyl-CoA-producing enzyme at the right place, at the right time, to provide acetyl-CoA needed for epigenetic modifications and the ensuing control of gene expression in response to given

stimuli. Additional molecular mechanisms may contribute to fine-regulating this interaction and the downstream processes.

**Reference.** Acetyl-CoA production by Mediator-bound 2-ketoacid dehydrogenases boosts de novo histone acetylation and is regulated by nitric oxide. *Marta Russo, Francesco Gualdrini, Veronica Vallelonga, Elena Prosperini, Roberta Noberini, Silvia Pedretti, Carolina Borriero, Pierluigi Di Chiaro, Sara Polletti, Gabriele Imperato, Mattia Marena, Chiara Ghirardi, Fabio Bedin, Alessandro Cuomo, Simona Rodighiero, Tiziana Bonaldi, Nico Mitro, Serena Ghisletti, Gioacchino Natoli.* *Molecular cell* 2024. doi: 10.1016/j.molcel.2023.12.033.

What's new from IEO Researchers?

## Faecalibacterium prausnitzii - a gut bacterium influencing tumor recurrence in advanced melanoma patients.

Previous studies (in the context of the MIND-DC trial) showed that in melanoma patients the vaccination with dendritic cells was an immunotherapy approach safe and capable of inducing a tumor-specific immune response, triggering the expansion of tumor antigen-specific T cells. However, these biological effects did not result in actual patient benefits (Kalijn F Bol et al., Nature Communications 2024. PMID: 38395969), as they were not able to increase patient survival, suggesting that other factors are likely to play a key role.

In a paper by Carolina Alves Costa Silva, Gianmarco Piccinno –researcher in Nicola Segata's group–, Déborah Suissa, Mélanie Bourgin, Gerty Schreibelt, recently published in Nature

Communications, in the frame of an international collaboration,

the authors, including Nicola Segata –Group Leader of the Department of Experimental Oncology of IEO and professor at the University of Trento–, show that the clinical outcome of advanced melanoma patients is associated with alterations in patient gut microbiota and metabolism; specifically, low levels of *Faecalibacterium*

*prausnitzii* in the gut and high levels of fatty acids in the blood correlate with worse prognosis, namely lower recurrence-free survival.

The authors observed that *F. prausnitzii* abundance anticorrelated with the levels of fatty acids, carboxylic acids, acylcarnitines in the blood. Moreover, microbiome (specifically, *F. prausnitzii* abundance) and blood metabolome together predicted tumor recurrence (independently from dendritic cell vaccination).

*F. prausnitzii* is a gut bacterium linked to the correct functioning of the healthy gut. It has been shown to have anti-inflammatory effects and is related to metabolism and immune system; for instance, *F. prausnitzii* has been previously shown to be directly involved in the release of anti-inflammatory molecules by dendritic cells. In addition, *F. prausnitzii* has been shown to have an effect on the activity of the immune system and the tumor microenvironment reprogramming upon immune checkpoint inhibitor treatment. Some of the effects linked to the presence of *F. prausnitzii* may be related to its metabolites, through the

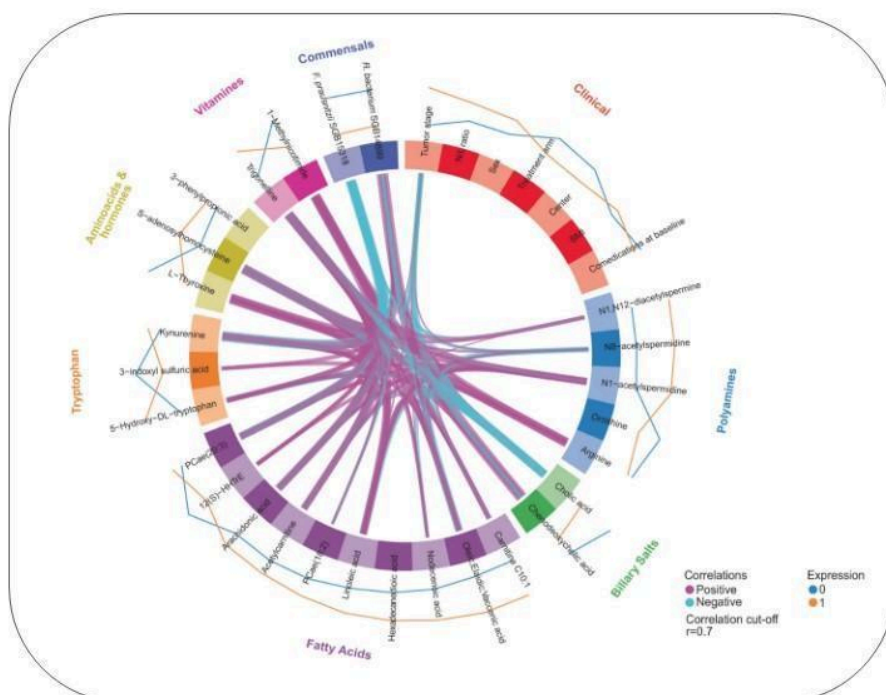


Figure from Alves Costa Silva, C., Piccinno, G., Suissa, D. et al. Nat Commun 2024. \*

regulation of lipid metabolism, in turn affecting immune cells, ultimately likely impacting on melanoma aggressiveness.

Importantly, the results of this study highlight that patients with stage III melanoma with bad prognosis likely have alterations of gut microbiome composition and lipid metabolism already at diagnosis, which in turn may have an impact on the immune activity of dendritic cells, resulting in worse patient prognosis,

indicating the importance of evaluating microbiome status and metabolome for patient stratification and selection of the best treatment approach.

Overall, this study supports the hypothesis that systemic alterations in the host-microbiome interaction may be clinically relevant, with potential impact on disease recurrence.

*“low levels of *Faecalibacterium prausnitzii* in the gut and high levels of fatty acids in the blood correlate with worse prognosis, namely lower recurrence-free survival”*

The authors analyzed gut microbiome composition (by metagenomics) and blood metabolome (by serum metabolomics) in patients enrolled in the MIND-DC clinical trial; dendritic cells-vaccinated or in the placebo group, before or after vaccination, and evaluated associations of specific gut microbiota species and blood metabolites with patient prognosis (namely, recurrence or no recurrence at 2-year follow up).

Metagenomic analyses revealed that while the treatment had a minimal impact on the microbiome composition, *F. prausnitzii* abundance correlated with better prognosis; namely, no recurrence at 2 years. Metabolomic analyses highlighted alterations in the levels of some metabolites, such as fatty acids and aminoacids involved in inflammation, oxidative stress, glucose regulation. In particular, higher fatty acid abundance correlated with worse prognosis. By correlating the results of gut microbiome analyses and metabolomic analyses the authors observed that, already *before* therapy, the level of fatty acids-related metabolic pathways associated with recurrence. Detailed

analyses revealed that, from a “gut microbiome point of view”, the high abundance *F. prausnitzii* before dendritic cell vaccination was clinically relevant, as it could be used as a predictor of prognosis. From a “metabolome point of view”, aminoacids, fatty acids, polyamines and acylcarnitines, tryptophan metabolism and vitamin B3 were also prognostic.

Interestingly, among dendritic cells-vaccinated patients, those with higher abundance of *F. prausnitzii* and low levels of acylcarnitines had a longer recurrence-free survival.

Of note, their metagenomics and metabolomics results, by highlighting differences already *before* treatment (in particular, higher *F. prausnitzii* abundance), indicate the existence of a bias, despite randomization, in the two patient cohorts of the MIND-DC trial –which may explain clinical trial failure– and point to the importance of taking into consideration microbiome/metabolome in future dendritic cell vaccination studies. Moreover, their results support the association of the gut microbiota with therapy outcome, which is worthy of further investigation.

**Reference.** Influence of microbiota-associated metabolic reprogramming on clinical outcome in patients with melanoma from the randomized adjuvant dendritic cell-based MIND-DC trial. *Carolina Alves Costa Silva, Gianmarco Piccinno, Déborah Suissa, Mélanie Bourgin, Gerty Schreibelt, Sylvère Durand, Roxanne Birebent, Marine Fidelle, Cissé Sow, Fanny Aprahamian, Paolo Manghi, Michal Punčochář, Francesco Asnicar, Federica Pinto, Federica Armanini, Safae Terrisse, Bertrand Routy, Damien Drubay, Alexander M. M. Eggermont, Guido Kroemer, Nicola Segata, Laurence Zitvogel, Lisa Derosa, Kalijn F. Bol & I. Jolanda M. de Vries.* Nature communications, 2024. doi: 10.1038/s41467-024-45357-1.

Figure from *Alves Costa Silva, C., Piccinno, G., Suissa, D. et al., an open access [article](#) under the [CC BY](#) license.*

What's new from IEO Researchers?

# The gut microbiota - marker and target to enhance immunotherapy efficacy in advanced melanoma patients.

Despite the undoubted success of immune checkpoint blockers (ICB)-based immunotherapy, only some patients respond to treatment. The gut microbiome has been previously shown to be crucially involved in therapy response and, indeed, microbiome-based clinical trials are ongoing aiming at deepening our understanding of the effects of gut microbiota manipulation.

An answer to these questions would offer to clinicians a better control of disease evolution and therapy outcome, thus allowing to “personalize the treatment”, namely to select the best treatment approach and identify patients more likely to benefit from immunotherapy. To this aim, in a paper recently published in Nature Medicine, in the frame of an international collaboration, the authors, including Nicola Segata and Luigi Nezi –both Group Leaders at the department of experimental oncology of IEO– and Sabrina Tamburini –IEO researcher–, characterized (by shotgun metagenomics and ensuing analysis through the exploitation of the MetaPhlan4 computational tool) the gut microbiome of 175 advanced melanoma patients undergoing ICB-based immunotherapy. Through

**“Are there microbiota species that can be used as biomarkers to predict therapy efficacy? Does the microbiome change during ICB treatment? If so, how?”**

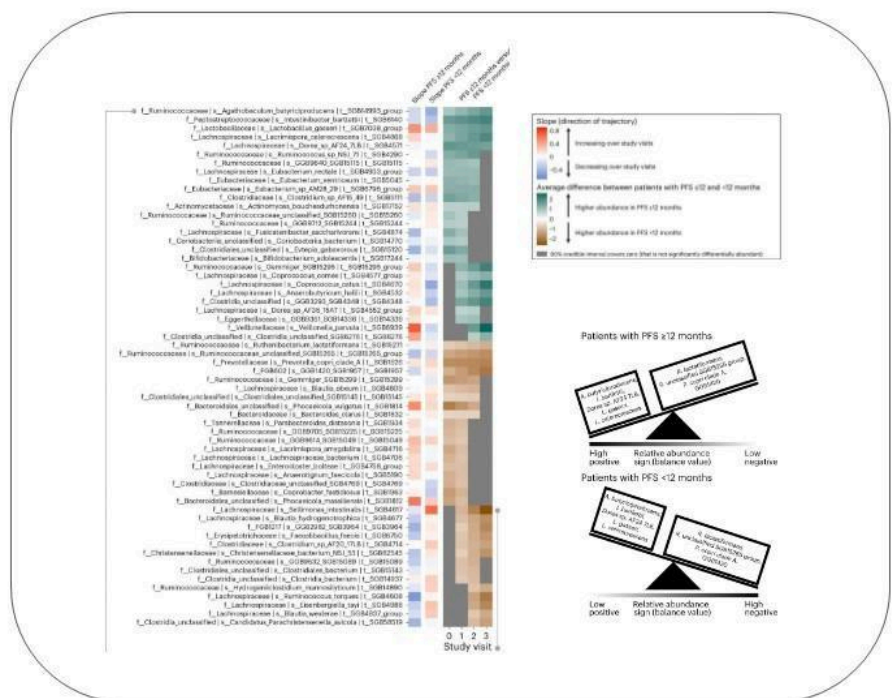


Figure from Björk, Bolte et al., Nat Med 2024.\*

these analyses they defined all changes of the microbiome –in terms of microbial species abundance– from baseline –namely, before treatment– and for the whole treatment duration, over a 12-week period, identifying the species whose relative abundance is able to predict therapy response and revealing how the microbiome changes after therapy.

The authors found that, in good responders, the gut microbiota was already enriched, before therapy, in species involved in the synthesis of short chain fatty acids (SCFA) and was characterized by the upregulation of microbial metabolic pathways involved in SCFA synthesis, suggesting that microbiota-derived SCFA may



increase the clinical outcome of ICB-based treated patients.

Conversely, in poor responders, the authors observed an upregulation of microbial metabolic pathways involved in vitamin K synthesis, which are known to be enriched in chronic inflammatory and cardiovascular diseases and have been previously linked to the abundance of two species that can be dietarily modified, suggesting that, firstly, vitamin k could represent an early marker of non-response to ICB treatment, which can be also modified through dietary intervention in order to ultimately enhance ICB-base therapy efficacy.

Furthermore, detailed analyses of microbiome changes after therapy revealed an increase, in good responders, in the abundance of species associated with SCFA synthesis. Conversely, in patients whose response to treatment was limited, after ICB treatment the gut microbiome resulted to be enriched in species previously correlated with therapy resistance and more aggressive tumors.

Therefore, their results indicate that gut microbiota composition should be taken into consideration not only for patient prognosis, but also to select the best treatment approach, and overall to modulate microbiome composition with therapeutic scope. Importantly, they demonstrated that treatment differently modifies microbiome composition in the two patient groups (namely good responders vs poor

*“By profiling the gut microbiome of advanced melanoma patients undergoing ICB-based immunotherapy, they defined the microbiome changes -in terms of microbial species abundance- from baseline -namely, before treatment- and for the whole treatment duration, identifying the species whose relative abundance is able to predict therapy response and revealing how the microbiome changes after therapy.”*

responders), indicating that the dynamic microbiome behavior should be considered when designing studies aimed at improving clinical outcome through the active modulation of the microbiome and that considering the abundance of given species before treatment may not be sufficient. Interestingly, their analyses identified several species likely actively contributing to clinical outcome, which can be easily manipulated through dietary interventions.

Several studies have been pointing to the key role of the microbiota in health and disease, as well as in therapy outcome. Cancer is certainly one of them. On one side, several preclinical and clinical results -including those reported in this paper- highlight that the microbiota is deeply affected by different clinical conditions (such as antibiotics or drug use); on the other side, several clinical trials have shown the remarkable beneficial effects of fecal microbiota transplantation, underlining the *active* role of the microbiota in restoring healthy, physiological conditions and in potentiating patient response to immunotherapy.

Although the underlying mechanisms are still poorly known, and subject of intense investigation, the observed effects are undeniable. Disentangling the complex microbiota ecosystem and identifying the single species involved -either affected or responsible for the observed effects- is certainly the first step towards the full understanding of the whole process.

*“On one side, several preclinical and clinical results -including those reported in this paper- highlight that the microbiota is deeply affected by different clinical conditions; on the other side, several clinical trials have shown the remarkable beneficial effects of fecal microbiota transplantation, underlining the active role of the microbiota in restoring healthy, physiological conditions and in potentiating patient response to immunotherapy”*

**Reference.** Longitudinal gut microbiome changes in immune checkpoint blockade-treated advanced melanoma. Johannes R Björk#, Laura A Bolte#, Andrew Maltez Thomas, Karla A Lee, Niccolo Rossi, Thijs T Wind, Lotte M Smit, Federica Armanini, Francesco Asnicar, Aitor Blanco-Miguez, Ruth Board, Neus Calbet-Llopart, Lisa Derosa, Nathalie Dhomen, Kelly Brooks, Mark Harland, Mark Harries, Paul Lorigan, Paolo Manghi, Richard Marais, Julia Newton-Bishop, Luigi Nezi, Federica Pinto, Miriam Potrony, Susana Puig, Patricio Serra-Bellver, Heather M Shaw, Sabrina Tamburini, Sara Valpione, Levi Waldron, Laurence Zitvogel, Moreno Zolfo, Elisabeth G E de Vries, Paul Nathan, Rudolf S N Fehrmann, Tim D Spector, Véronique

*Bataille, Nicola Segata, Geke A P Hospers, Rinse K Weersma.* Nat Med 2024. doi:  
10.1038/s41591-024-02803-3.

\*Figure from *Björk, Bolte et al.*, an open access [article](#) under the [CC BY](#) license.

What's new from IEO Researchers?

# Microstyle: a IEO-DEO clinical study to explore whether lifestyle changes affect gut microbiome composition, radiotherapy toxicity and efficacy.

The non-surgical treatment option for prostate cancer consists of radiotherapy. However, despite the use of the advanced Intensity-Modulated radiotherapy, treatment-associated toxicity remains, including gastrointestinal tract discomfort and weight loss, affecting quality of life. The nutritional status of prostate cancer patients can be affected depending on patients characteristics, co-morbidity and advanced age. Previous studies indicate a bidirectional interaction between gut microbiota and radiotherapy, which can be exploited to predict toxicity and quality of life. Radiotherapy may influence gut microbiota composition, depleting “beneficial” species; moreover, greater microbiota diversity before treatment, in terms of microbial species of the gut, can be associated with acute and late toxicities.

Based on available scientific evidence, IEO researchers and clinicians coordinated by Sara Gandini –PI of the Department of Experimental Oncology of IEO–, Giulia Marvaso –co-PI of the study and researcher of the Radiotherapy Division headed by Barbara Alicja Jereczek– and Patrizia Gnagnarella –IEO Researcher– have designed a clinical study –Microstyle–, which has been funded by the Italian Ministry of Health,

obtaining a grant in the frame of Ricerca Finalizzata, aiming at evaluating whether lifestyle changes, based on advice on nutrition and physical activity, have an effect on gut microbiota and radiotherapy-related toxicity, ultimately influencing prostate cancer patients’ quality of life; in other words, **does a specific diet combined with regular exercise influence radiotherapy-related toxicity and efficacy by changing the gut microbiome?**

Microstyle is a multicenter study. The patient enrollment phase, conducted in two centers in Milan (IEO) and Naples (Cancer Institute, “Fondazione G. Pascale”), is concluded. Firstly, researchers will assess whether dietary interventions can affect radiotherapy efficacy and toxicity in non-metastatic prostate cancer patients, by inducing changes in the microbiome,

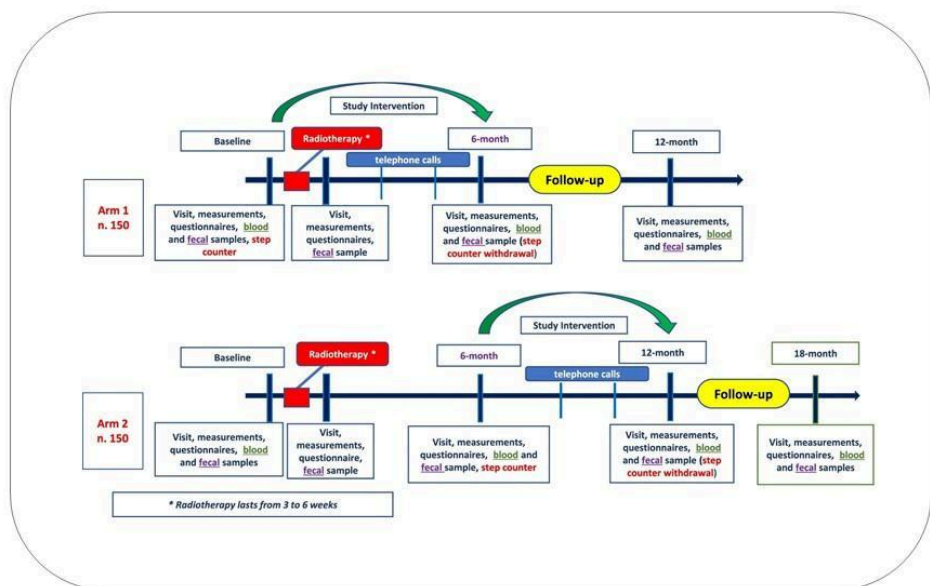


Figure from Gnagnarella, Marvaso et al., BMC Cancer 2022.\*

in terms of alpha diversity (namely, *number* of taxa in a given sample) and beta diversity (namely, differences, in terms of *type* of taxa, among samples). Furthermore, they will explore the underlying biomolecular mechanisms, by assessing the presence and concentration of metabolic and inflammatory biomarkers in the blood. The recruited patients have been randomized in two groups: One group starts the intervention (namely, dietary intervention and regular physical activity) during radiotherapy, and continues adhering to it for a 6 month-period. This group is followed up for an additional 6 months. The second group of patients initiate a lifestyle change six months after receiving radiotherapy and is followed up for an additional six months. This design allows to analyze the effects of lifestyle changes in patients that, after treatment, have recreated their microbiome in comparison to those who did not, and at the same time enables to investigate the association with radiotherapy side effects and quality of life. The innovative design of the Microstyle clinical trial foresees dietary intervention and physical activity based on national intervention guidelines, as well as counseling –with a motivational, empathic listening approach–, to both increase treatment efficacy and ameliorate treatment-associated side effects, ultimately improving patient quality of life.

Do physical activity and dietary intervention change gut microbiota composition in radiotherapy-treated prostate cancer patients? Do physical activity and dietary intervention boost immune system activity in radiotherapy-treated prostate cancer patients? Do physical activity and dietary intervention affect the inflammatory profile –namely, decreasing the number of inflammatory molecules in the blood–, in turn creating a less pro-tumoral environment? The Microstyle clinical trial will help to answer these questions and clarify the potential role of the gut microbiome as the “joining link” among diet, immune system

*“The Microstyle clinical trial will help to clarify the potential role of the gut microbiome as the “joining link” among diet, immune system activity, radiotherapy toxicity and efficacy, revealing -with molecular resolution- how these factors interact and likely affect each other, and evaluating the potential of the microbiota as a target of interventions aimed to improve patient quality of life and ultimately response to treatment”*

activity, radiotherapy toxicity and efficacy, revealing –with molecular resolution– how these factors interact and likely affect each other, and evaluating the potential of the microbiota as a target of interventions aimed to improve patient quality of life and ultimately response to treatment.

**Referenza.** Life style and interaction with microbiota in prostate cancer patients undergoing radiotherapy: study protocol for a randomized controlled trial. *Patrizia Gnagnarella#, Giulia Marvaso#, Barbara Alicja Jereczek-Fossa, Ottavio de Cobelli, Maria Claudia Simoncini, Luiz Felipe Nevola Teixeira, Annarita Sabbatini, Gabriella Pravettoni, Harriet Johansson, Luigi Nezi, Paolo Muto, Valentina Borzillo, Egidio Celentano, Anna Crispo, Monica Pinto, Ernesta Cavalcanti, Sara Gandini; MicroStyle Collaborative Group.* BMC Cancer 2022. doi: 10.1186/s12885-022-09521-4.

\*Figure from Gnagnarella, Marvaso et al., an open access [article](#) under the [CC BY](#) license.

What's new from IEO Researchers?

## A tight interaction between fundamental and clinical research for the characterization of head and neck cancer.

The INTERCEPTOR project was funded in 2022 in the context of the European Cooperation in Science and Technology (COST) call, with the



*Susanna Chiocca*

ultimate goal of designing personalized preventive and care approaches for patients with oral cavity disorders at high risk of evolving into a malignant disease. COST supports

interdisciplinary research networks to bring together professionals and foster the exchange of expertise.

INTERCEPTOR is coordinated by Pierre Saintigny –clinician at the Centre Léon Bérard in Lyon–, and Susanna Chiocca –Director of the “Viruses and cancer” unit at the department of experimental oncology of IEO– is IEO Principal investigator and part of the Management Committee.

One of the main issues in the clinical management of patients with oral disorders that could evolve into malignant lesions is the extreme heterogeneity, which requires an accurate clinico-pathological evaluation and often patient monitoring over long periods. In order to ensure the proper therapeutic approach to all patients, being at the same time effective yet avoiding unnecessary overtreatment, in turn resulting in improved quality of life, the identification of

molecular or histological validated biomarkers of disease is mandatory. In this regard, in the frame of this project, relying on a tight collaboration between the dept of experimental oncology (DEO), through the “Viruses and Cancer” unit headed by Susanna Chiocca, and IEO hospital, through the Head and Neck Program headed by Mohssen Ansarin, researchers aim at defining standardized procedures for specimen collection, as well as performing an accurate molecular characterization of oral disorders, to find novel validated biomarkers of disease.

The fruitful collaboration between Susanna Chiocca at the DEO and Mohssen Ansarin at IEO started in 2011, strongly encouraged by Fausto Chiesa, former director of the IEO Otolaryngology - Head and Neck Surgery division, with the creation of the

[HPV-AHEAD](#) (“Role of human papillomavirus infection and other co-factors in the etiology of head and neck cancer in Europe and India”) consortium. Within this consortium, DEO and IEO scientists conducted the largest and most comprehensive study assessing the role of human papillomavirus (HPV) infection –which is one of the main risk factors for HNC– in head and neck cancer (HNC) onset and evolution in Italy, with implications for the clinical management of these patients (see DEO newsletter 019).



*Mohssen Ansarin*

*“relying on a tight collaboration between the dept of experimental oncology, through the “Viruses and Cancer” unit headed by Susanna Chiocca, and IEO hospital, through the Head and Neck Program headed by Mohssen Ansarin, researchers aim at defining standardized procedures for specimen collection, as well as performing an accurate molecular characterization of oral disorders, to find novel validated biomarkers of disease.”*

Later on, Susanna Chiocca and Mohssen Ansarin strengthened their collaboration and, in the context of the [HEADLAcE](#) (Biomarkers of Head and Neck Cancer in Latin America and Europe) consortium, received funding for the molecular and clinical characterization of HNC samples, to

provide useful tools to be used in a clinical setting. Despite being rather different, both from a clinical and molecular point of view, with different prognosis and response to therapy, HPV-positive and HPV-negative HNC patients are treated with the same approach. By bringing together teams from different European and South American countries, the HEADLAcE consortium highlighted the prevalence of HPV infection in different subtypes of HNC (namely, oropharyngeal vs oral cavity and laryngeal cancers) and in different geographical regions.

Through the tight collaboration among lab researchers and clinicians, and the seamless exchange of expertise, in the frame of large international networks, the in-depth molecular characterization of HNC will allow, in the near future, for a better patient care.

*What's new from IEO Researchers?*

## Finding novel biomarkers for a personalized treatment of ovarian cancer: the OVA-PDM project.

PARP inhibitors (blocking the cell system involved in the repair of single strand DNA breaks) have been shown to be effective for the treatment of patients carrying cancers characterized by deficiency in the machinery responsible for DNA damage repair (homologous recombination deficiency -HRD- specifically responsible for the repair of DNA double strand breaks), by further exacerbating a stress condition of a cell associated with the accrual of unrepaired DNA damage. However, while patients with a deficient DNA damage repair system are expected to respond to PARP inhibitors, previous studies have shown that on one side, also patients with a functional DNA damage repair system respond to PARP inhibitors and, on the other side, several patients with an impaired DNA damage repair system do not. Therefore, in order to properly personalize the therapeutic approach, novel and more efficient biomarkers of response to treatment are needed, enabling to identify patients who will benefit from PARP inhibitors-based treatment while avoiding toxicity in those who will not.

In the frame of an international collaboration, Ugo Cavallaro will coordinate a project aimed at the identification of novel biomarkers of response to PARP inhibitors in ovarian cancer patients, by employing patients-derived *in vitro* cancer models.

In line with one of the main features of IEO research, integrating mechanism-oriented, translational and clinical research into a feedforward loop in which biological studies are designed to answer clinical questions and novel therapeutic approaches are rooted in biomolecular mechanisms of disease, the OVA-PDM project will exploit cutting edge technological approaches to identify novel predictive biomarkers of response to ultimately



*Ugo Cavallaro*

enable a more efficient management of ovarian cancer patients, allowing for the selection of the most appropriate treatment option.

The project will rely on the synergy among the research group of Ugo Cavallaro -with solid expertise in ovarian cancer models-, the IEO Gynecology Program headed by Nicoletta Colombo -offering access to surgical samples as well as clinical expertise-, and the Applied Research Unit for Cognitive and Psychological Science led by Gabriella Pravettoni -for the development of personalized patient information resources. The team will thus be in the position to evaluate the implications of the novel predictive models based on the identified

biomarkers. Through the collaboration with research groups in Spain, Germany and Denmark, this will allow for the identification of novel biomarkers of response to treatment and, potentially, novel therapeutic targets.

Ugo Cavallaro and his team will exploit protocols already set up and validated in his lab to isolate and grow ovarian cancer cells and omental cells from patient-derived tissue. These culture models enable to preserve both the intrinsic tumor heterogeneity of cancer cells as well as the interaction with -and the

effect of- the tumor microenvironment. Analysis of gene expression and protein phosphorylation profile of ovarian cancer patient-derived primary organotypic cultures will enable to identify the molecular pathways distinguishing responders from non-responders. Candidate biomarkers identified with this approach will be validated both preclinically, through a functional approach, and clinically, by employing data from existing patient cohorts.

“This work -explains Ugo Cavallaro- originates from a collaboration started a few years ago with the group of Ernst Lengyel, an oncological gynecologist of the University of Chicago, who first set up the methodology for the organotypic model. In that case, the model employed cancer

*“these culture models enable to preserve both the intrinsic tumor heterogeneity of cancer cells as well as the interaction with -and the effect of- the tumor microenvironment”*

cell lines, thus having a suboptimal clinical relevance. To overcome that issue, we took advantage of the productive collaboration built over the years between our group and the clinical staff of the IEO Gynecology Program and the Biobank, as well as patients’ cooperation, through the informed consent for the donation of tissues

for research purposes. These interactions guarantee us also regular access to clinical samples, on which we capitalized to build organotypic models completely patients-derived, and thus more closely resembling

the actual disease context as compared to the former models. Already in the study before the OVA-PDM project, this approach gave us the possibility to identify the molecular mechanisms underlying ovarian cancer progression (and potential therapeutic targets) that did not emerge from the analysis exploiting the less sophisticated and representative models. This is -concludes Cavallaro- a clear example of how the integration between basic research and clinical activity, together with patient involvement, can lead to significant progress not only in terms of knowledge advances but especially in light of a future improved prognosis and quality of life of people affected by severe diseases such as ovarian cancer.”



*What's new from IEO Researchers?*

# “Patient avatar” to predict response to treatment - the clinical/translational IOLANTHE study.

While a high percentage of ovarian cancer patients (about 80%) respond to the standard therapeutic approach, many of them relapse. Relapse is ascribed to subpopulations of cancer cells within the tumor mass capable of surviving treatment –deploying both cell-intrinsic and microenvironment-related mechanisms– and then fueling cancer re-growth at the end of therapy. These cells are called cancer stem cells.



*Chiara Battistini*

In the frame of a phase IIIB-IV, prospective, multicenter clinical trial –involving several Italian Institutions including Istituto Mario Negri, Sapienza University, Humanitas Research Hospital and IEO–, aimed at confirming the efficacy of the PARP inhibitor olaparib in combination with the anti-angiogenic drug bevacizumab as a maintenance treatment of ovarian cancer patients with DNA damage repair deficiency (HRD), Ugo Cavallaro –PI at the dept of exp oncology of IEO– will lead a translational study to test the employment of ovarian cancer patients-derived ex vivo cultures as “avatars” to identify patients responding to the combined olaparib+bevacizumab therapy, as well as to compare the response to therapy of cancer stem cell subpopulation as compared to the other non-stem cancer cells.

Resulting from the collaboration among clinicians and lab researchers, the IOLANTHE study will include a clinical component and two parallel translational studies. IEO will be actively involved

in both clinical –in collaboration with the Gynecology Program headed by Nicoletta Colombo– and translational –through the group headed by Ugo Cavallaro at the department of experimental oncology– research. Of note, IOLANTHE is an initiative of YMaGiNe (Young MaNGO Gynecologic Network), a network of young investigators belonging to the Italian ovarian cancer group MaNGO (Mario Negri Gynecological Oncology). In fact, within IEO, the study will be carried out by Silvia Derio for the clinical part and by Chiara Battistini (in Cavallaro’s group) for the translational research activities.

In HRD tumors (such as ovarian cancer with BRCA1/2 mutations), olaparib represents a valid therapeutic option. Olaparib is a PARP –key factor of the DNA repair system– inhibitor; in HRD cells where, due to specific mutations, damaged DNA cannot be properly repaired, olaparib treatment leads to DNA damage accrual, which becomes lethal, leading to cancer cell death. The IOLANTHE clinical study is aimed at confirming, in a real-world setting (namely with no pre-selection of the patient cohort), the efficacy of olaparib+bevacizumab in the treatment of ovarian cancer, defining the specific clinical and demographic features of the best responder patient population.

One of the two translational studies, carried out at Humanitas Research Hospital, will test the possibility of using next generation sequencing



*Silvia Derio*

approaches on liquid biopsies in a clinical setting for patient prognosis and tumor progression monitoring.

In parallel, Ugo Cavallaro's group will exploit "avatars" to test treatment efficacy.

Avatars are a virtual representation of a person, generated on the basis of the main features describing and defining a given person. Nowadays we are used to see avatars in internet, to represent a user in the virtual world. Patients-derived ovarian cancer cultures, faithfully recapitulating patient's tumor features –namely tumor heterogeneity as well as tumor microenvironment traits–, are "avatars" of the

***"This study will enable to validate the approach based on the use of ovarian cancer cultures –the avatars– to predict patient response to a given therapy through the employment of an easy-to-use assay, exploitable in a clinical setting."***

patient's tumor: In the frame of the IOLANTHE study, patient-derived ovarian cancer cultures ("organotypic models") will be established

according to protocols set up and validated in Cavallaro's lab. The response of "avatar" models to treatment with olaparib and bevacizumab will be compared to the response of patients undergoing the same

treatment. This study will enable to validate the approach based on the use of ovarian cancer cultures –the avatars– to predict patient response to a given therapy through the employment of an easy-to-use assay, exploitable in a clinical setting.

What's new from IEO Researchers?

# Intratumoral immune cells as prognostic biomarkers: A further step towards precision immune-oncology.

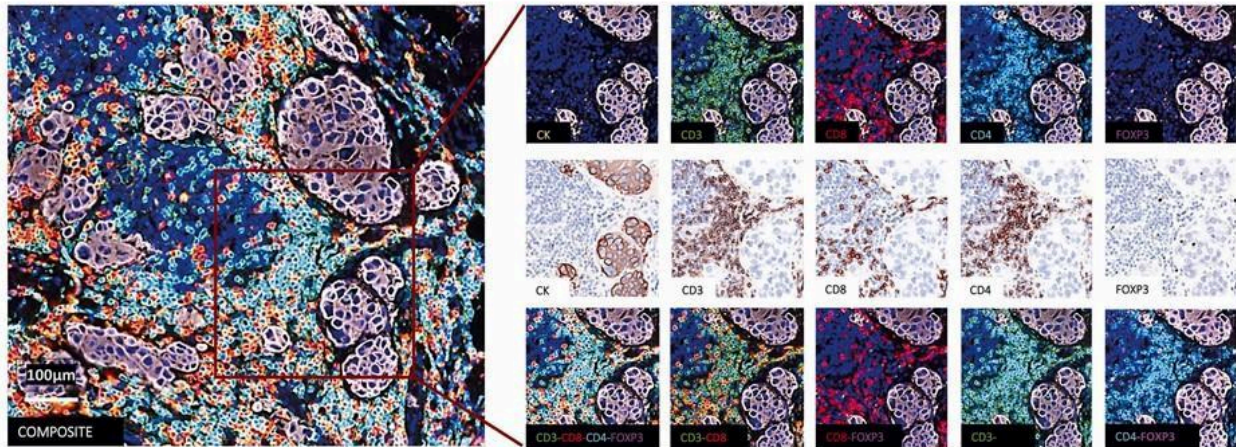


Figure from S Rusakiewicz et al., *Eur J Cancer* 2024.\*

Triple-negative breast cancer (TNBC) is the most aggressive breast cancer subtype and is defined by the simultaneous lack of expression of ER, PgR and HER2 proteins. This tumor subtype is characterized by the high abundance of immune cells -the so-called “tumor-infiltrating lymphocytes, TILs- and high expression of PDL1 protein (a common target of antibody-based immunotherapy). Therefore, TNBC is considered an ideal candidate for immunotherapy which, by modulating the immune system, proved to be highly effective in the treatment of several tumor types.

In the frame of the IBCSG 22-00 clinical trial, in an article recently published in the *European Journal of Cancer*, thanks to a collaboration among IEO, Harvard and Lausanne University, the authors characterized, with a spatial resolution, the immune cells inside the tumor mass, identifying specific immune cell subtypes having prognostic value, specifically associated with decreased “distant recurrence-free survival”, namely a reduced risk of metastatic spreading to other organs.

Biomarkers are a fundamental aspect of precision oncology and, therefore, the biomarker research field is rapidly expanding. The identification of factors enabling disease diagnosis, monitoring or prognosis, guiding treatment choices, are urgently needed. Although several reports suggest the association between immune cell abundance inside the tumor mass and patient prognosis, the evaluation of their presence is not included in the routine diagnostic path, despite being a rather inexpensive biomarker. This study further supports the systematic inclusion of the evaluation of intratumoral immune cell abundance in the clinical routine, to guide clinicians in selecting the most suited therapeutic approach, thus allowing for a further step towards the realization of precision medicine in oncology.

Furthermore, these data suggest that low doses of Cyclophosphamide, by selectively interfering with specific T cell subpopulations in the tumor mass, may result in a better immune-mediated control of tumor progression.

The IBCSG 22-00 clinical trial was a study aimed at evaluating efficacy of the combined administration of Cyclophosphamide –an agent acting by suppressing immune system activity- and Methotrexate -an antimetabolite drug, also reducing immune system activity– as metronomic therapy -namely lower doses but for longer duration- as maintenance adjuvant treatment after surgery, in addition to chemotherapy. The IBCSG study already showed that patients receiving adjuvant metronomic Cyclophosphamide and Methotrexate, who had high abundance of lymphocytes inside the tumor mass, experienced greater tumor mass reduction. In this paper, the authors performed an additional analysis, by exploiting a multiplex immunofluorescence approach, which enabled to label at the same time six different protein markers inside the primary tumor section, thus allowing for the identification of different immune cells.

By analyzing 204 primary tumor sections, firstly, they observed, in line with previous results, that an overall high abundance of infiltrating immune cells inside the tumor mass was associated with greater Distant Recurrence-Free Interval (DRFI) in the whole patient population but especially, independently from the treatment, in LN-positive patients (meaning those 127 patients that, at lymph node examination, revealed the presence of cancer cells in the lymph nodes, indicating tumor spreading beyond the primary mass). Moreover, although additional analyses in larger patient cohorts are needed, their results suggest that cyclophosphamide and methotrexate

treatment contributes to increase the number of intratumor immune cells in LN-negative patients (namely those 77 patients that, at lymph node examination, *did not* reveal the presence of cancer cells in lymph nodes).

More detailed analysis of the specific T cell subpopulations involved showed that, in particular, high abundance of T regulatory cells (both intra-epithelial and stromal, labeled by CD4 and FoxP3) was associated with longer DRFI in LN-positive patients. The data also highlighted the key role of CD8 T cell presence: Only in CD8 cells-positive tumors, the abundance of T regulatory cells was *de facto* prognostic. Importantly, when CD8 cells were more abundant than T regulatory cells, in LN-positive patients, cyclophosphamide-methotrexate treatment

*“Biomarkers are a fundamental aspect of precision oncology and, therefore, the biomarker research field is rapidly expanding. The identification of factors enabling disease diagnosis, monitoring or prognosis, guiding treatment choices, are urgently needed. This study further supports the systematic inclusion of the evaluation of intratumoral immune cell abundance in the clinical routine, to guide clinicians in selecting the most suited therapeutic approach, thus allowing for a further step towards the realization of precision medicine in oncology”*

resulted to be deleterious, strongly indicating that evaluation of CD8 and regulatory T cell abundance should be considered in the treatment choice.

Furthermore, the authors propose that certain treatments, such as cyclophosphamide, could inhibit and selectively reduce T regulatory cell activity –which are pro-tumoral–; as a consequence, the higher abundance of cytotoxic cells would indirectly result in more efficient tumor killing, suggesting that the use of low doses of Cyclophosphamide may be exploited for a more effective immune-mediated tumor cell clearance.

**Reference.** Multiplexed high-throughput immune cell imaging in patients with high-risk triple negative early breast cancer: Analysis from the International Breast Cancer Study Group (IBCSG) Trial 22-00. S Rusakiewicz, S Tyekucheva, S Tissot-Renaud, K Chaba, M Imbimbo, F Benedetti, R Kammler, J Hornfeld, E Munzone, L Gianni, B Thurlimann, I Láng, G Pruneri, K P Gray, M R Regan, S Loi, M Colleoni, G Viale, L Kandalaft, G Coukos, Giuseppe Curigliano. Eur J Cancer 2024. doi: 10.1016/j.ejca.2024.113535.

\*Figure from [S Rusakiewicz et al., Eur J Cancer 2024.](#)

What's new from IEO Researchers?

# By investigating the molecular mechanisms, a potential early marker and therapeutic target in liver cancer: ARID1.

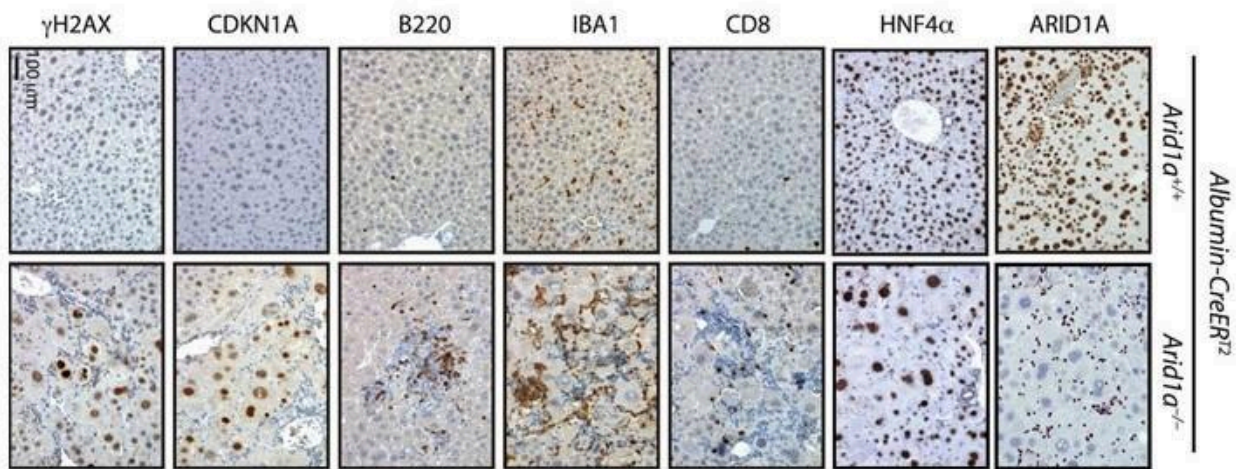


Figure from D'Ambrosio, Bressan, Ferracci et al., Sci Adv 2024.\*

ARID1 is a gene coding for a protein (a subunit of the protein complex SWI/SNF) whose role is to modify chromatin. ARID1 is frequently mutated in cancer; ARID1 loss is found, for instance, in gastric, ovarian, uterine, bladder, colon, and liver cancer.

Mechanistically, how are ARID1 mutations involved in tumorigenesis?

In a recent paper by D'Ambrosio, Bressan, Ferracci et al., in the frame of a collaboration between the team of Diego Pasini –Group Leader at the Department of Experimental Oncology of IEO– and Fulvio Chiacchiera –former researcher in Pasini's team at IEO and currently Group Leader at the University of Trento– who coordinated the study, the authors investigated, in preclinical in vivo models, the early ARID1 loss-related events leading to malignant transformation.

While not ruling out an effect due to the known role of ARID1 –namely, related to ARID1 interaction with regulatory elements such as enhancers and promoters and the modulation of gene expression–, researchers unveiled a role of ARID1 in tumorigenesis, linked to DNA damage accumulation and genomic instability,

*“the authors showed a novel role of ARID1 in preserving DNA integrity. While not sufficient per se to induce tumor onset, ARID1 loss, the accumulation of DNA damage and the resulting genome instability favor the formation of additional mutations that cooperate with ARID1 loss resulting in tumor onset, and sensitizing at the same time cells to the treatment with ATR inhibitors”*

interferon type I response activation, and chronic inflammation. The authors also observed ARID1 mutations in chronically inflamed non-tumoral –possibly pro-tumoral– patient tissues, suggesting, on one side, that this mutation can confer selective advantage to cells in an inflammatory context –usually

accompanying tumorigenesis— enabling them to survive and, following a “second hit” (namely, a second mutation), contributes to the malignant transformation. On the other side, ARID1 could represent an “early marker” associated with high risk of tumor onset.

Finally, the researchers show that ARID1-lacking cells are sensitive to the treatment with ATR inhibitors, suggesting the potential use of these compounds for the treatment of ARID1A mutant liver tumors, paving the way to clinical studies specifically aimed at exploring the potential of this targeted treatment.

“This work –highlights Diego Pasini– has started in IEO a few years ago, when Fulvio was researcher in my team. When he moved to the University of Trento as an independent researcher, we maintained a close collaboration and the project has been recently finalized. Once again, a ‘proof’ of IEO’s commitment in the professional development of successful scientists, who find their place in the national and international landscape”.

The authors analyzed the effects of ARID1 loss specifically in the liver: Inducible ARID1 knockout mice were more prone to develop either insult-induced or spontaneous liver tumors as compared to the control animals. From a molecular point of view, the gene expression profile of ARID1-lacking liver cells was different: A number of genes were differentially expressed, including negative regulators of cell cycle –which were upregulated–, indicating that, by interfering with cell cycle progression (specifically, G2 to M transition), ARID1 loss favored cancer onset. In-depth analyses showed that ARID1 loss resulted in the upregulation of interferon response genes and liver inflammation, increased recruitment of immune cells such as T cells and macrophages, and increased DNA damage. ARID1 loss-induced DNA damage in turn led to micronuclei accumulation and increased genomic instability. Arid1-elicited genomic instability promoted the acquisition of additional mutations contributing to tumorigenesis and commonly found in human liver cancers. Among the mutations found in ARID1-lacking cells, CTNNB1 mutations were frequently found together with ARID1 mutations, both in their murine samples and in patient datasets, where they were associated with worse prognosis, and cooperated with ARID1 loss in promoting highly aggressive, metastatic hepatic tumors.

Finally, as genomic instability is known to sensitize cells to ATR inhibitors, the authors evaluated the effect of these compounds in 3D cultures: ARID1-lacking organoids showed

#### ATR inhibitors in a clinical context.

ATR is commonly recruited at the level of single strand DNA breaks; it senses DNA damage and activates the cell signaling leading to cell cycle arrest to enable damage repair. ATR inhibition inhibits this protective mechanism, leading to damaged DNA-associated stress, improper cell cycle progression despite DNA damage, and ultimately eliciting cell death. Therefore, several small molecules specifically and potently inhibiting ATR activity, either in monotherapy or as part of combination therapy, are currently in clinical development. So far, the most promising clinical results have been collected in patients with recurrent ovarian cancer with DNA damage response-related gene alteration (such as BRCA1/2 or RAD51C), the majority of whom were resistant to PARP inhibitors and platinum-based chemotherapy. However, further optimization of the toxicity profile of the currently available drugs as well as the therapy schedule, combined treatment, along with the identification of biomarkers and a more comprehensive understanding of the underlying biomolecular mechanisms, arising from a cooperative preclinical and clinical research, are being investigated, to achieve a more effective ATR-based patient treatment.

reduced viability upon treatment with ATR inhibitors.

In conclusion, the authors showed a novel role of ARID1 in preserving DNA integrity. While not sufficient per se to induce tumor onset, ARID1 loss, the accumulation of DNA damage and the resulting genome instability favor the formation of additional mutations that cooperate with ARID1 loss resulting in tumor onset, and sensitizing at the same time cells to the treatment with ATR inhibitors.

**Reference.** Increased genomic instability and reshaping of tissue microenvironment underlie oncogenic properties of Arid1a mutations. *Alessandro D'Ambrosio, Davide Bressan, Elisa Ferracci, Francesco Carbone, Patrizia Mulè, Federico Rossi, Caterina Barbieri, Elisa Sorrenti, Gaia Fiaccadori, Thomas Detone, Elena Vezzoli, Salvatore Bianchi, Chiara Sartori, Simona Corso, Akihisa Fukuda, Giovanni Bertalot, Andrea Falqui, Mattia Barbareschi, Alessandro Romanel, Diego Pasini, Fulvio Chiacchiera.* Sci Adv 2024. doi: 10.1126/sciadv.adh4435.

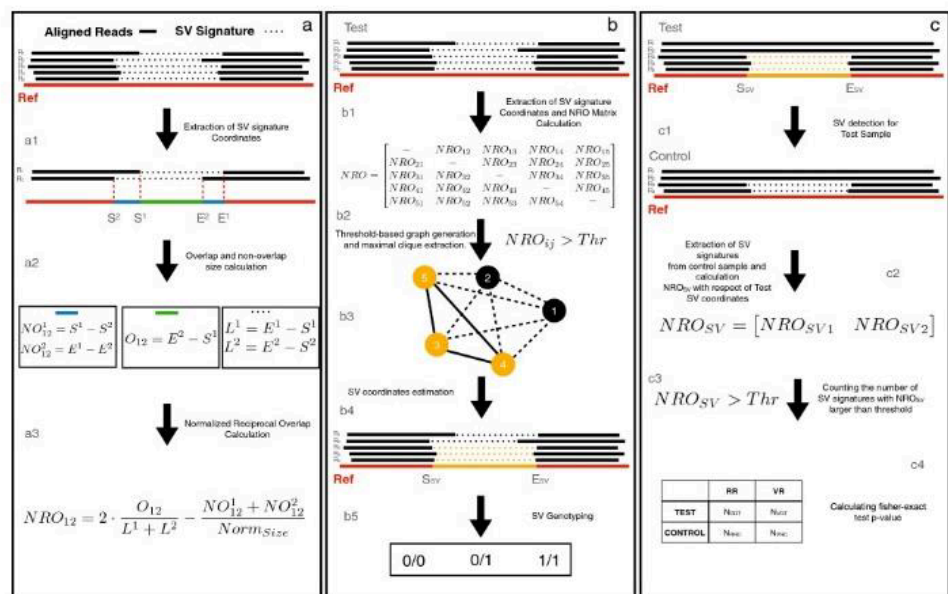
\*Figure from D'Ambrosio, Bressan, Ferracci, et al., an open access [article](#) under the [CC BY-NC](#) license.

What's new from IEO Researchers?

# GASOLINE: A novel computational tool for the identification of structural variants in genome sequencing data.

Alterations of a cell genome cause pathological states. Deletions or insertions of large portions of a chromosome, translocations of entire pieces of a chromosome, are called structural variants (SVs), deeply alter key cell processes and can induce cancer. Detecting such alterations is thus key to being able to treat the disease. For instance, the translocation involving chromosome 15 and 17, leading to the fusion of *PML* and *RARA* genes, is the cause of a leukemia subtype (acute promyelocytic leukemia, APL) and the identification of this chromosome abnormality has enabled to study disease mechanisms and define a therapy that, in the great majority of patients (nowadays over 90%), leads to eradication of the disease. APL-inducing chromosome translocation is only one example; several chromosome translocations have been identified and studied, thus enabling the targeting by molecular therapies, and many more are being discovered and investigated. State of the art technologies -like

***"Alterations of a cell genome cause pathological states. Deletions or insertions of large portions of a chromosome, translocations of entire pieces of a chromosome, are called structural variants, deeply alter key cell processes and can induce cancer. Detecting such alterations is thus key to being able to treat the disease."***



GASOLINE workflow. Figure from Magi et al., Scientific reports 2023. \*

Oxford Nanopore enable the sequencing of long DNA molecules, which significantly improve the ability to reliably identify such large alterations, thus representing a useful tool to detect SVs from genome sequencing data. However, despite the significant technological advances, the currently available analytical tools are not sufficiently accurate in detecting long SVs (e.g. longer than 50 bp, in the 50-1000 bp range), and no tools exist to specifically detect somatic SVs, through comparative analyses of paired tumoral and normal samples of the same patient. To overcome limitations of the current pipelines for analysis of long read data, in a recent paper by Magi et al., the authors, coordinated by Pier Giuseppe Pelicci –Director of



Research of IEO and professor at the University of Milan– describe the development of GASOLINE, a computational tool for a more accurate, high-resolution detection of SVs from long read sequencing data. In particular, GASOLINE is the first existing computational tool for the detection of both somatic (namely, acquired by cancer cells, possibly involved in the tumorigenic process) and germline (namely, hereditary variants, possibly linked to cancer risk) SVs by comparison of test and matched normal samples.

Briefly, GASOLINE detects SVs on the basis of a parameter they developed, the “NRO” (normalized reciprocal overlap), which enables to identify both small and large SVs with the same

accuracy, distinguishing actual SVs from possible imprecise alignment. By exploiting NRO, GASOLINE can detect both somatic and germline SVs, with great accuracy and sensitivity, outperforming existing tools. In particular, GASOLINE proved to be superior in identifying small SVs and resulted in increased precision with no significant decrease in sensitivity (namely, detection of true SVs), enabling the identification of SVs that were missed by the previous tools.

GASOLINE represents a novel useful tool for the identification of somatic alterations in cancer. GASOLINE is freely available here: <https://sourceforge.net/projects/gasoline/>.

*“GASOLINE represents a novel useful tool for the identification of somatic alterations in cancer.”*

**Reference.** GASOLINE: detecting germline and somatic structural variants from long-reads data. *Alberto Magi, Gianluca Mattei, Alessandra Mingrino, Chiara Caprioli, Chiara Ronchini, Gianmaria Frigè, Roberto Semeraro, Marta Baragli, Davide Bolognini, Emanuela Colombo, Luca Mazzarella, PierGiuseppe Pelicci.* Scientific reports 2023. doi: 10.1038/s41598-023-48285-0.

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

*What's new from IEO Researchers?*

## Artificial intelligence to predict disease aggressiveness in prostate cancer patients.

To avoid patient over- or under-treatment, novel tools enabling to correctly estimate cancer aggressiveness are needed. In this regard, radiomics holds a great potential. Radiomics exploit the high number of diagnostic images -such as images collected through MRI (*Magnetic Resonance Imaging*) exams- to find quantitative biomarkers -namely, features in the images- to be exploited for prognostic scopes. Artificial Intelligence, with Machine Learning (ML) approaches -and more specifically deep learning-, have been successfully employed to handle the high numbers of images and variables (namely, the features extracted from images).

In a recent paper by Giulia Marvaso, Lars Johannes Isaksson et al., the authors, coordinated by Giuseppe Petralia e Barbara Alicja Jereczek-Fossa –Director of IEO Division of Radiotherapy and full professor of Oncological Radiotherapy at the University of Milan– tested the advantages of a ML-based model exploiting clinical, radiological and radiomics features for prostate cancer non-invasive prognosis, by leveraging the largest existing prostate cancer patient dataset, comprising 949 patients.

The researchers considered a number of clinical, radiological, radiomic variables of the enrolled patients, and selected those with the greatest predictive power, namely the strongest impact on the ML model capability of predicting disease aggressiveness. The four models included either *i.* clinical variables only; *ii.* Clinical and radiological



*Giulia Marvaso, Lars Johannes Isaksson, Giuseppe Petralia, Barbara Alicja Jereczek-Fossa.*

variables; *iii.* Clinical and radiomic variables; *iv.* Clinical, radiological and radiomic variables all together. By comparing the efficiency of the four models, they found that the one considering only the clinical variables had the worst performance, while the one including all the clinical, radiological and radiomic variables was the best, indicating that all the three types of variables considered were de facto informative. Interestingly, including the radiomic variables increased performance efficiency of the model –mainly in the high risk group patients– indicating

*“exploiting mpMRI images of a cohort of 949 prostate cancer patients, the authors developed a ML-based model capable of combining clinical, radiological and radiomic parameters, outperforming the current clinical estimates in predicting prostate cancer patients' disease aggressiveness, thus providing a tool to help clinicians in improving accuracy of disease predictions before starting any therapy approach”*

that it provided indeed complementary information. Finally, the model validation showed that their best model (namely the one considering clinical, radiological and radiomic variables) was more efficient than the current

clinical estimates, being less prone to underestimate cancer aggressiveness. In conclusion, exploiting mpMRI images of a cohort of 949 prostate cancer patients, the authors developed a ML-based model capable of combining clinical, radiological and radiomic parameters, outperforming the current clinical estimates in predicting prostate cancer patients' disease aggressiveness, thus providing a tool to help clinicians in improving accuracy of disease predictions before starting any therapy approach.

**Reference.** Can we predict pathology without surgery? Weighing the added value of multiparametric MRI and whole prostate radiomics in integrative machine learning models. *Giulia Marvaso, Lars Johannes Isaksson, Mattia Zaffaroni, Maria Giulia Vincini, Paul Eugene Summers, Matteo Pepa, Giulia Corrao, Giovanni Carlo Mazzola, Marco Rotondi, Federico Mastroleo, Sara Raimondi, Sarah Alessi, Paola Pricolo, Stefano Luzzago, Francesco Alessandro Mistretta, Matteo Ferro, Federica Cattani, Francesco Ceci, Gennaro Musi, Ottavio De Cobelli, Marta Cremonesi, Sara Gandini, Davide La Torre, Roberto Orecchia, Giuseppe Petralia, Barbara Alicja Jereczek-Fossa.* Eur Radiol 2024. doi: 10.1007/s00330-024-10699-3.

*What's new from IEO Researchers?*

## Vaccines and new therapies against melanoma.

Melanoma treatment has remarkably evolved in the past years, thanks to innovative therapies offering hopes of cure also in advanced disease stages. Such advances radically changed patients' perspectives; they can now consider their disease always treatable and, in an increasing number of cases, cured. In particular, immunotherapy has revolutionized the pharmacological approach. In parallel to the new treatments that have already entered clinical practice, experimental studies offer novel treatment options, with over 70 immunotherapeutics under investigation and about 200 active clinical trials in Italy. Among these, therapeutic vaccines have been receiving increasing attention, with mRNA-based vaccines administered in combination with pembrolizumab. Notably, anti-cancer vaccines are not actual vaccines –whose goal is to prevent the disease– but they are highly personalized treatments, based on patients' tumor molecular profile and aimed at instructing T cells to recognize and attack melanoma cells. Melanoma vaccines can be administered only in the context of clinical trials, and the decision about whether enrolling a patient into these trials is the physician's responsibility. Currently, a therapy combining mRNA-based vaccine and pembrolizumab is being investigated as adjuvant post-surgery treatment for advanced melanoma. This phase III study involves international clinical centers, including IEO, and aims at demonstrating treatment efficacy in reducing the risk of recurrence and increasing survival, on the basis of the promising results already collected in previous studies. For patients who cannot receive the vaccine, other therapeutic options exist, such as pembrolizumab, which offers, by itself, a 50% chance of cure. Researchers are actively working to further improve these results, with different therapeutic mRNA-based vaccines and new applications for immunotherapy drugs. It is important to turn to highly specialized cancer centers, because the most effective therapy can



*Paola Queirolo*

be found in cancer centers actively involved in research, such as IEO.

You can read here the whole interview to Dr Queirolo [here](#) (Italian only).

What's new from IEO Researchers?

## ACCLAIM study, IEO is the first enrolling center in Italy.

STUDIO ACCLAIM, IEO PRIMO CENTRO ARRUOLATORE IN ITALIA



IEO  
Istituto Europeo  
di Oncologia

 IEO  
Istituto Europeo  
di Oncologia

Our institute has been selected by the *Società di Oncologia Interventistica* (SIO) as enrolling center for the ACCLAIM clinical study, which will be recruiting patients diagnosed with colorectal liver metastases. ACCLAIM is an international, prospective, multi-center study aiming at assessing microwave ablation as the best therapeutic approach for colorectal liver metastases with sufficient ablative margin.

IEO is the first center in Italy obtaining the “green light” by the SIO.

Dr Franco Orsi and Dr Paolo Della Vigna will be IEO PI and co-PI, respectively for this study. ACCLAIM will last three years, will involve 275 individuals, treated in 10 care centers in the US and Europe.

Read more here (Italian only): [www.ieo.it/studioacclaim](http://www.ieo.it/studioacclaim).

What's new from IEO Researchers?

# Repurposing anti-cancer LSD1 inhibitors against covid-19.

Severity of Covid-19 disease is tightly linked to the profile of inflammatory molecules secreted by the immune system: Prevalence of proinflammatory molecules (IL6, TNF $\alpha$ , IL1) is linked to severe disease, while the abundance of antiviral (IFN-I) molecules is associated with a more rapid recovery from infection. Initiation of immune response following viral infection is modulated by a number of different mechanisms; for instance, chromatin modifiers -namely proteins that, through the chemical modification of DNA and DNA-associated proteins, modify gene expression- appear to play a key role. Among them, LSD1 protein (aka KDM1A) can be pharmacologically

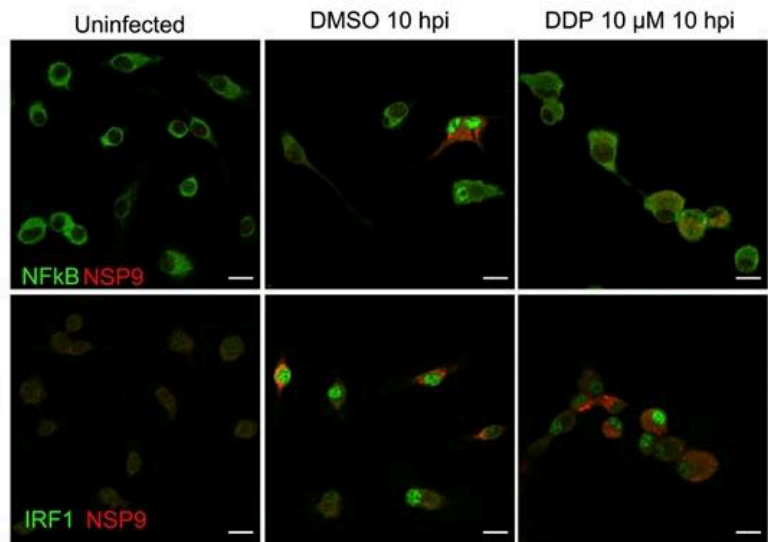


Figure from Mazzarella et al., Science Signaling 2023.\*

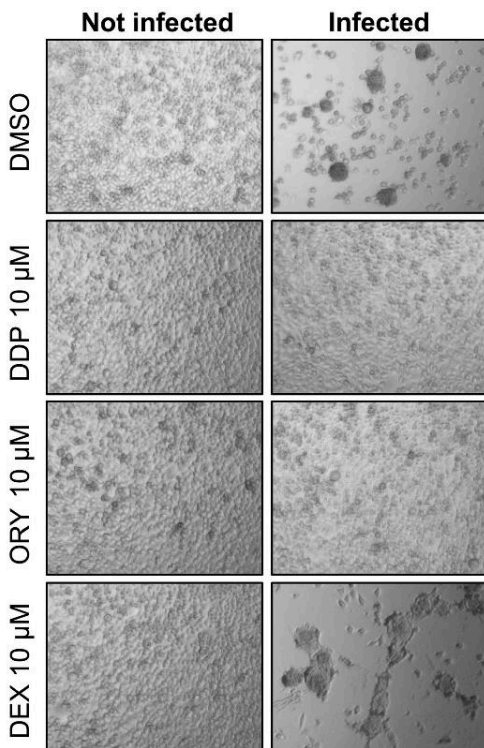


Figure from Mazzarella et al., Science Signaling 2023.\*

targeted, and several LSD1-inhibiting compounds, currently in pre-clinical and clinical investigation as anticancer agents, could thus be repurposed.

In a recent paper by Luca Mazzarella -Group leader at the dept of experimental oncology of IEO- and colleagues, researchers coordinated by Prof Pier Giuseppe Pelicci and Prof Saverio Minucci, showed that LSD1 inhibition affects the production of pro-inflammatory and antiviral molecules; in particular, by decreasing the generation of pro-inflammatory molecules and promoting the generation of antiviral molecules, proposing LSD1 inhibitors as useful compounds to limit the inflammation accompanying severe covid-19 disease while contributing to reduce the viral load and fight infection, pointing to the potential repurposing of an antitumor drug for Covid-19 treatment.

The use of an antitumor drug against covid-19 disease might have seemed unlikely; however, the investigation and understanding of the molecular mechanisms underlying the two diseases and at the basis of the activity of this drug may enable future clinical study aimed at the definition of a novel antiviral treatment, providing a new tool against the disease, through the repurposing of a drug already in advanced preclinical and clinical stage.

*“By decreasing the generation of pro-inflammatory molecules and promoting the generation of antiviral molecules, LSD1 inhibitors may be useful compounds to limit the inflammation accompanying severe covid-19 disease, while contributing to reduce the viral load and fight infection, pointing to the potential repurposing of an anticancer drug for Covid-19 treatment”*

First, the authors set up an in vitro co-culture (fibroblasts and macrophages) model enabling to evaluate separately cell toxicity (both on fibroblast and lung epithelial cells lines) due to inflammatory cytokines released by macrophages from the antiviral activity inhibiting virus replication. By exploiting this in vitro system, they found that LSD1 inhibition exerted different effects on the two processes: LSD1 inhibitor abrogated the massive generation of cytotoxic cytokines released by macrophages, while increasing the antiviral activity, resulting in the nearly complete clearing of the virus. Results obtained with LSD1 inhibitors were confirmed by genetic deletion of LSD1. Mechanistically, the differential response to LSD1 inhibition was due to the decrease of infection-elicited activation of NF-kB and the down-regulation of the genes related to cytokine release (extrinsic toxicity) by LSD1 inhibitors. Indeed, upon infection, NF-kB was activated and translocated to the nucleus; the effect was reverted upon LSD1 inhibition. To assess the potential biomedical translation of their findings, they compared LSD1 inhibitor (specifically, they used two different molecules, one of them currently in



Luca Mazzarella

development for hematological malignancies) with dexamethasone, the current standard treatment to limit the inflammation associated to Covid-19, which acts by targeting (and reducing) both extrinsic and intrinsic antiviral activity. They found that all the three compounds prevented the death of infected cells, although higher concentrations of dexamethasone were required as compared to LSD1 inhibitors. Concerning antiviral activity, LSD1 inhibitors enhanced both extrinsic and intrinsic antiviral activity, resulting in reduced viral load, whereas the concentration of dexamethasone needed to induce the antiviral activity also abolished the protective effect towards infected cells. Finally, further supporting the clinical translation of their findings, the results were confirmed in in vivo murine models and in in vitro human models of covid-19. These results thus indicate the higher efficiency of LSD1 inhibition against covid-19 as compared to the current standard therapies, and the potential of repurposing anticancer drugs for the treatment of covid-19 disease.

**Reference.** Inhibition of the lysine demethylase LSD1 modulates the balance between inflammatory and antiviral responses against coronaviruses. *Luca Mazzearella, Fabio Santoro, Roberto Ravasio, Valeria Fumagalli, Paul E. Massa, Simona Rodighiero, Elena Gavilán, Mauro Romanenghi, Bruno A. Duso, Emanuele Bonetti, Lara Manganaro, Rani Pallavi, Deborah Trastulli, Isabella Pallavicini, Claudia Gentile, Silvia Monzani, Tommaso Leonardi, Sebastiano Pasqualato, Gabriele Buttinelli, Angela Di Martino, Giorgio Fedele, Ilaria Schiavoni, Paola Stefanelli, Giuseppe Meroni, Raffaele de Francesco, Christian Steinkuhler, Gianluca Fossati, Matteo Iannacone, Saverio Minucci, Pier Giuseppe Pelicci.* *Science Signaling* 2023. doi: 10.1126/scisignal.ade0326.

\* Figure from Mazzearella et al., *Science Signaling* 2023. doi: 10.1126/scisignal.ade0326.



*What's new from IEO Researchers?*

## Colorectal cancer: Avoiding surgery is possible.



On April 19th, IEO hosted the regional meeting of the Italian society of surgery (Società italiana di Chirurgia, SIC) focused on the latest advances in the field of integrated colorectal cancer therapy. In Italy, the incidence of colorectal cancer is about 50.500 new cases every year.

During the event, experts in the field discussed the latest innovations in colorectal cancer treatment, highlighting how, thanks to therapeutic advances, about 30% of the patients nowadays can avoid surgery. “We maximized patient response to the combined pharmacological and radiotherapy-based approach before surgery” stated Uberto Fumagalli Romario (IEO Gastrointestinal tract surgery and Neuroendocrine tumors Division), Maria Giulia Zampino (IEO Gastrointestinal medical oncology and neuroendocrine Tumors Division), and Luigi Boni (General and mini-invasive surgery, Fondazione IRCCS Ca’ Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Università degli Studi di Milano).

“Through the NoCut study, IEO also showed the possibility to avoid surgery. The study demonstrated complete disease remission in 38% of treated patients. The results of the study will be published soon” remarked Maria Giulia Zampino.

The collaboration among surgeons, oncologists, radiotherapists, along with diagnostic innovation, is crucial for an optimal patient management. Uberto Fumagalli Romario highlighted the importance of turning to specialized cancer centers for timely, advanced treatment, as an early diagnosis remains the most powerful tool. Prof Luigi Boni concluded “We are witnessing remarkable progress, with increasingly personalized therapies and less invasive surgical approaches”. For this reason, a constant update as well as a multidisciplinary approach are crucial, paving the way to new approaches to colorectal cancer treatment.

Read the press release [here](#) (Italian only).

*What's new from IEO Researchers?*

## Breast cancer: The risk adapted approach can improve patient treatment.



It has been recently published in the journal of the American Society of Clinical Oncology –the *Journal of Clinical Oncology* – the opinion of some of the major internationally renowned oncologists about the need of better modulating breast tumor pharmacological treatments. The work focuses on treatment optimization in breast cancer patients who, after pre-surgical therapy, show a complete pathological response, which

means a complete tumor eradication from breast tissue and lymph nodes. This is the result of a teamwork, led by Prof Giuseppe Curigliano, Director of the Division for the development of new drugs for innovative therapies, together with Dr Carmine Valenza and Dr Dario Trapani. Read the press release [here](#) (italian only).

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

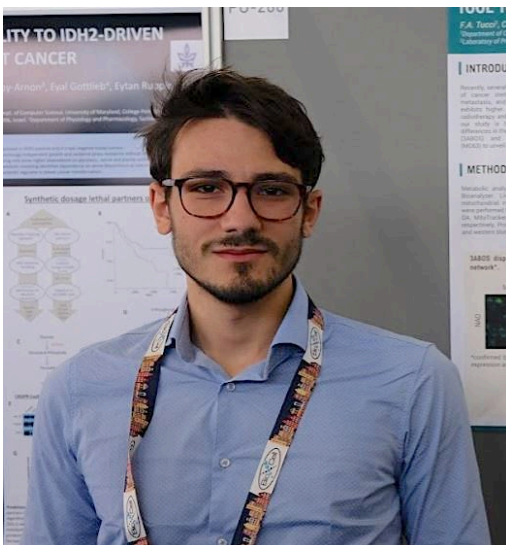
## *Marica Ippolito, Post doc, Santaguida Group.*



Since my early years, I have been fascinated by the intricate mechanisms of life, a passion that led me to pursue studies in Biological Sciences at the University of Federico II in Naples. My personal and professional life underwent a drastic change when I moved to Milan to continue my studies at the University of Bicocca, culminating in an internship in proteomics at the IEO and achieving a master's degree in 2018. During my internship, I had the opportunity to become acquainted with both the scientific aspect and the human component of the IEO campus, which led me to undertake a PhD at the SEMM-IEO in Professor Santaguida's laboratory of genomic integrity. During my PhD, I dedicated myself to the study of aneuploidy and the adaptive mechanisms that cells enact to mitigate the stress arising from an unbalanced number of chromosomes. Furthermore, my studies have shown how, in cancer, aneuploidy and the consequent genomic instability can promote chemoresistance. Thanks to this work, I received an AIRC fellowship and an honorable mention at the "Young Promises, Top Italian Women Scientists" award. Throughout my doctoral studies, I had the

opportunity to collaborate with numerous local and international researchers, enriching my experience and honing my skills. Proudly, I have contributed as a co-author to 9 publications in international journals. Now, I continue my research as a Post-doc, seeking to identify vulnerabilities of aneuploid cells, in the ultimate hope that they may lead to the discovery of new therapeutic targets for cancer.

## *Francesco Tucci, PhD student, Pece Group.*



I grew up in Lesina, a town of 6000 souls; music was my main passion. The cost of equipment brought me closer to electronics and computer science, in order to build myself effects and tube amplifiers. That was the first time I fell in love with science. During adolescence, I attended the "School of Sciences Agorà", where, first as a student and then as a teacher, I cultivated a passion for biomedical sciences. After high school, torn between engineering and medicine, I chose to pursue the latter discipline, to better understand the human being, the most fascinating "system" of all. After graduating, I won a scholarship from the Rotary Foundation that took me to Rotterdam, in Prof. Fodde's lab, where I studied the epigenetic control of EMT in oral cancer. Here, thanks to daily contact with some bioinformaticians, I rediscovered my passion for computer science. I came back to Italy to start my residency in pathological anatomy at the University of Milan, collaborating in parallel as a biostatistician and bioinformatician with the

"Hormone-Related Cancers and Stem Cell Pathobiology" lab of Prof. Pece at IEO. In 2022, I started the PhD in "Systems Medicine" under the guidance of Prof. Pece, aiming to use multi-omics techniques to characterize tumor heterogeneity and identify new prognostic and predictive markers in bladder and prostate cancer.

## ***Alessandra Rossi, Post doc, Derenzini Group.***



After a peculiar start at Crema's artistic high school, I continued my studies at the Faculty of Medical Biotechnology in Milan. Venturing into the realm of research, I took my initial steps as an undergraduate student in Dr. Finocchiaro's laboratory at Besta Institute, an experience that undoubtedly boosted my passion for the challenging and dynamic nature of this work, combining creativity with rigorous scientific methodology. Then, I enriched my personal and professional path thanks to an Exchange Fellowship at Yale University, followed by a SEMM PhD in Molecular Oncology in the epigenetics laboratory of Prof. Pasini at IEO. My doctoral years, during which I worked on the role of Polycomb complexes in leukemic and intestinal cells, were crucial for my maturation as a researcher and allowed me to contribute to the scientific literature through multiple publications. Driven by the desire to bridge the gap between research and clinical application, I moved to a Post Doc position in the HematOncology team at IEO, led by Prof. Derenzini. Since 2017, I've witnessed and actively participated in the

establishment and development of a laboratory that places scientific research at the direct service of the patient. The aim of my work focuses on the identification of new prognostic biomarkers and the development of innovative therapeutic strategies for lymphoma treatment based on the use of combined pharmacological therapies and NK cell-based immunotherapy approaches. This type of project has taught me a much more translational approach, providing me with great satisfaction in terms of awards, papers and funding, but, more importantly, it allows me to contribute meaningfully to advancing the care of cancer patients.

## ***Francesco Pileri, PhD Student, Natoli Group.***

I was born in Poggibonsi, a town close to Siena and grew up in Vagliagli, a village of around 200 inhabitants in the heart of Siena's Chiantishire. I love biking, books, music, and concerts, but above all, I enjoy culinary and wine tourism.

I moved to Bologna to study Biotechnology at the Collegio Superiore of the University, where I had the privilege of living a strongly interdisciplinary formative experience and participate in projects with an interdisciplinary outlook, which required me to work with students coming from other disciplines.

I firmly believe that science does not deliver results through the efforts of a single person. On the contrary, what is really pushing knowledge forward is a difficult but rewarding process in which people with different personal and scientific backgrounds collaborate synergistically. To me, being a researcher means being part of this process with enthusiasm and awareness.

I started doing research in Gioacchino Natoli's lab five years ago, first as a master's student and then as a SEMM PhD student. I always used macrophages as a model and at the moment I am trying to identify and characterise all kinases involved in their activation through CRISPR screenings. My personal interest lies in



fundamental research and the understanding of molecular mechanisms, but identifying new kinases involved in macrophage activation also means contributing to the aforementioned process by providing new potential therapeutic targets for my complementary clinical and translational colleagues.

## Simone Tamburri, Researcher, Pasini Group.



My name is Simone Tamburri, and I am currently working as a Fixed-term Researcher Type A (RTD-A) at the University of Milan, while also maintaining an affiliation with the European Institute of Oncology (IEO).

I have a deep passion for team sports, particularly football. Additionally, I have a strong affinity for music, having played the saxophone for many years. I strongly believe that science, much like sports, constantly challenges one's limits.

My research primarily focuses on various aspects of epigenetics and molecular biology, with a specific emphasis on understanding the role of histone modifications in cancer progression and the establishment of transcriptional identity. I am very attracted by understanding the molecular mechanisms beyond biological processes. In the last years I decided to investigate the topology of Complexes through the use of cross-linking mass spectrometry techniques to dissect the structural composition of the PRC1 complex, thereby providing new insights into the molecular mechanisms governing these critical signaling pathways. My professional journey has seen significant growth during my tenure as a

Postdoctoral Researcher at the European Institute of Oncology in Milan since March 2018. During this period, I have made substantial contributions to the study of Polycomb group complexes in establishing transcriptional identity, as well as characterizing the function of histone modifications, including H2AK119ub1, in mouse embryonic stem cells. Throughout my academic and professional endeavors, I have been fortunate to receive several grants, fellowships, and awards, including the prestigious My First AIRC Grant in 2021 and the CARIPLO grants.



## THE BRIEFING

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

**The POWER registry - to expand our current knowledge on Proton therapy.** To systematically collect harmonized high quality data on hypofractionated proton therapy, in the context of a 10-year prospective clinical trial, clinical information along with radiological and biological data and translational research data will be collected with the final aim of increasing existing knowledge about indications, feasibility and clinical outcome of proton therapy.

*Daniela Alterio, Maria Giulia Vincini, Stefania Volpe, Luca Bergamaschi, Mattia Zaffaroni, Sara Gandini, Giulia Peruzzotti, Federica Cattani, Cristina Garibaldi, Barbara Alicja Jereczek-Fossa\*, Roberto Orecchia\*.*  
*BMC Cancer, March 2024. [PMID: 38475762](#).*

**A review comparing photon and proton therapy.** In a systematic review, the authors compared both toxicity and efficacy of photon-based vs proton-based radiotherapy in prostate cancer patients, showing significant lower gastrointestinal side effects and better 5-year relapse-free survival in proton therapy-treated patients as compared to “standard” photon-based radiotherapy. This analysis further supports efficacy and safety of proton therapy for localized tumors, yet highlighting the need to identify tools capable of distinguishing the patient subgroups more likely to benefit from proton therapy.

*Giulia Corrao, Giulia Marvaso, Federico Mastroleo, Annalisa Biffi, Giacomo Pellegrini, Samuele Minari, Maria Giulia Vincini, Mattia Zaffaroni, Dario Zerini, Stefania Volpe, Simona Gaito, Giovanni Carlo Mazzola, Luca Bergamaschi, Federica Cattani, Giuseppe Petralia, Gennaro Musi, Francesco Ceci, Ottavio De Cobelli, Roberto Orecchia, Daniela Alterio, Barbara Alicja Jereczek-Fossa.*  
*Radiother Oncol, Mar 2024. [PMID: 38561122](#).*

**Histone post translational modifications (PTMs) in cell metabolism.** Metabolism affects histone modifications, in turn influencing gene expression. The authors demonstrated that, in specific conditions, histone PTMs are used by the cell as a source for sustaining lipid synthesis, revealing a novel additional link between chromatin and cell metabolism.

*Evelina Charidemou, Roberta Noberini, Chiara Ghirardi, Polymnia Georgiou, Panayiota Marcou, Andria Theophanous, Katerina Strati, Hector Keun, Volker Behrends, Tiziana Bonaldi, Antonis Kirmizis.*  
*EMBO J, February 2024. [PMID: 38383863](#).*

**AI in breast cancer screening.** The paper discusses the benefits of integrating the latest technological approaches, such as AI-based imaging and AI-based predictive models, in the diagnostic path, to support radiologists in breast cancer screening, ensuring accurate and rapid diagnosis, as well as equitable access, and overall improving cost-effectivity. Such advanced approaches would ultimately result in an evolved

approach to breast cancer screening able to minimize overdiagnosis/overtreatment while avoiding missed diagnoses.

*Filippo Pesapane, Anna Rotili, Sara Raimondi, Gaetano Aurilio, Matteo Lazzeroni, Luca Nicosia, Antuono Latronico, Maria Pizzamiglio, Enrico Cassano, Sara Gandini.*

*Eur J Radiol, January 2024. [PMID: 38244317](#).*

**Inhibition of TGFbeta and PD1 in patients with solid tumors: results of a phase I/IB clinical trial.** In the frame of this clinical study, researchers investigated the effect of the combined administration of monoclonal antibodies targeting PD1 (through cemiplimab) and TGFbeta (through SAR439459) in advanced solid tumors. PD1/PDL1 pathway is crucially involved in immune system clearing of cancer cells; indeed, its inhibition, by removing a “brake” to immune system activity, ultimately results in a more effective elimination of cancer cells. TGFbeta is a factor playing a critical role in tumorigenesis, whose overexpression correlates with bad prognosis of patients undergoing anti-PD1 therapy. The authors showed that the combined treatment resulted in the downregulation of TGFbeta, both in tumor tissue and in the blood, and promoted immune cell activation, confirming the peripheral effect of the combined treatment.

*Debbie Robbrecht, Jean-Jacques Grob, Oliver Bechter, Matteo Simonelli, Bernard Doger, Ivan Borbath, Marcus O Butler, Tina Cheng, Patricia Martin Romano, Elvire Pons-Tostivint, Massimo Di Nicola, Giuseppe Curigliano, Min-Hee Ryu, Alejo Rodriguez-Vida, Dirk Schadendorf, Elena Garralda, Giovanni Abbadessa, Brigitte Demers, Amele Amrate, Hong Wang, Joon Sang Lee, Robert Pomponio, Rui Wang.*

*Clinical and Translational Science, February 2024. [PMID: 38362837](#).*

**Microbiome and subgingival implants.** Through shotgun metagenomics, the authors analyzed the plaque microbiome of patients with implants-associated disease, highlighting significant differences in microbiota composition as compared to healthy subjects, and showing that treatment induces a shift of the disease-associated microbiome towards the health status.

*Davide Bazzani, Vitor Heidrich, Paolo Manghi, Aitor Blanco-Miguez, Francesco Asnicar, Federica Armanini, Sara Cavaliere, Alberto Bertelle, Federico Dell'Acqua, Ester Dellasega, Romina Waldner, Daniela Vicentini, Mattia Bolzan, Cristiano Tomasi, Nicola Segata\*, Edoardo Pasolli\*, Paolo Ghensi\*.*

*NPJ Biofilms Microbiomes, February 2024. [PMID: 38374114](#).*

**Microbial colonization of biliary stents.** By employing shotgun metagenomics, researchers have profiled the microbial communities colonizing the patients' biliary stent -applied to treat biliary obstructions, a condition accompanying pancreatic cancer-, revealing the diverse set of known and unknown microbial communities, rather different in the different patients.

*Aitor Blanco-Míguez, Sara Carloni, Cindy Cardenas, Carola Conca Dioguardi, Luca Lambroia, Giovanni Capretti, Gennaro Nappo, Alessandro Fugazza, Antonio Capogreco, Federica Armanini, Francesco Asnicar, Leonard Dubois, Davide Golzato, Paolo Manghi, Federica Pinto, Cristina Scuderi, Erminia Casari, Marco Montorsi, Andrea Anderloni, Maria Rescigno, Alessandro Repici, Alessandro Zerbi, Clelia Peano, Sabrina Tamburini, Roberto Rusconi#, Nicola Segata#.*

*NPJ Biofilms Microbiomes, March 2024. [PMID: 38555334](#).*

**Heart valve replacement and nephrectomy.** A study explored heart-related complications in patients undergoing nephrectomy, showing that heart valve replacement predicted some of adverse events associated with partial or total nephrectomy.

Carolin Siech, Andrea Baudo, Mario de Angelis, Letizia Maria Ippolita Jannello, Francesco Di Bello, Jordan A Goyal, Zhe Tian, Fred Saad, Shahrokh F Shariat, Nicola Longo, Luca Carmignani, Ottavio de Cobelli, Alberto Briganti, Marina Kosiba, Philipp Mandel, Luis A Kluth, Felix K H Chun, Pierre I Karakiewicz. *Ann Surg Oncol*, March 2024. [PMID: 38526833](#).

**A review to delve into the current employment in the clinical setting of antigen-targeted antibodies.** Antibody-drug conjugates (ADC) represent key tools in precision medicine, by enabling the selective, antigen-driven targeting of anticancer drugs to antigen-expressing tumor cells. However, clinical outcome and safety of ADC-treated patients is heterogenous. In this review, the authors provide an overview of currently approved ADCs, describing antitumor efficacy and discussing potential factors influencing safety and efficacy.

Jalissa Katrini, Laura Boldrini, Celeste Santoro, Carmine Valenza, Dario Trapani, Giuseppe Curigliano. *Molecular cancer therapeutics*, February 2024. [PMID: 38363729](#).

**Anti-inflammatory drugs for pain control in cancer patients - no link with therapy outcome.** The authors showed that the administration of anti-inflammatory drugs as pain killers in high risk patients with resected melanoma receiving adjuvant pembrolizumab immunotherapy did not correlate neither with recurrence-free survival nor with distant metastasis-free survival or adverse events.

Oliver John Kennedy, Nina Glassee, Michal Kicinski, Christian U Blank, Georgina V Long, Victoria G Atkinson, Stéphane Dalle, Andrew M Haydon, Andrey Meshcheryakov, Adnan Khattak, Matteo S Carlino, Shahneen Sandhu, James Larkin, Susana Puig, Paolo A Ascierto, Piotr Rutkowski, Dirk Schadendorf, Marye Boers-Sonderer, Anna Maria Di Giacomo, Alfonsus J M van den Eertwegh, Jean-Jacques Grob, Ralf Gutzmer, Rahima Jamal, Alexander C J van Akkooi, Sara Gandini, Emanuel Buhrer, Stefan Suci, Caroline Robert, Alexander M M Eggermont, Mario Mandala, Paul Lorigan, Sara Valpione. *Eur J Cancer*, February 2024. [PMID: 38402687](#).

**The Dietary Inflammatory Index associates diet-related inflammation with circulating protein biomarkers.** Although diet-induced metabolic alterations are known to increase the risk of obesity-diabetes- cardiovascular disease- related inflammation, a standardized way to quantitatively measure the inflammatory effect of an unhealthy diet is still missing. This study strongly indicates that the Dietary Inflammatory Index (DII) mirrors changes in the abundance of inflammatory protein markers in the blood. Elisa Mattavelli, Elisa Piperni, Francesco Asnicar, Laura Redaelli, Liliana Grigore, Fabio Pellegatta, Amir Nabinejad, Sabrina Tamburini, Nicola Segata, Alberico Luigi Catapano, Andrea Baragetti. *Diabetol Metab Syndr*, February 2024. [PMID: 38409061](#).

**Metformin treatment for breast cancer survivors.** In the context of the MetBreCS clinical trial, researchers showed that, in breast cancer survivors, metformin treatment along with the adoption of a healthy lifestyle may reduce the risk of recurrence, and is therefore recommended.

Harriet Johansson, Federica Bellerba, Debora Macis, Bjørn-Erik Bertelsen, Aliana Guerrieri-Gonzaga, Valentina Aristarco, Kristin Viste, Gunnar Mellgren, Giulia Di Cola, Jemos Costantino, Augustin Scalbert, Dorothy D Sears, Sara Gandini, Andrea DeCensi, Bernardo Bonanni. *Breast Cancer Res Treat*, January 2024. [PMID: 38279016](#).



**A meta-analysis to evaluate the potential role of vitamin B3 in chemo-prevention.** A meta-analysis underlined that no sufficient evidence exists supporting the effect of oral supplementation of vitamin B3 in reducing the number of skin cancer cells.

*Giulio Tosti, Francesca Pepe, Patrizia Gnagnarella, Flavia Silvestri, Aurora Gaeta, Paola Queirolo, Sara Gandini.*

*Nutrients, December 2023. [PMID: 38201930](#).*

**Reclassification of CDH1 germline mutations in gastric cancer.** The authors reclassified 247 CDH1 variants in gastric cancer according to the latest ClinVar definition of pathogenicity: 70% of the variants previously classified as benign/likely benign did not meet the new criteria. Conversely, all the pathogenic/likely pathogenic did.

*Giovanni Corso, Cristina Maria Trovato, Salvatore Petitto, Antonia Girardi, Alessandra Margherita De Scalzi, Beatrice Bianchi, Francesca Magnoni, Antonio Cioffi, Viviana Galimberti, Paolo Veronesi, Giovanni Mazzarol, Patrick Maisonneuve.*

*Oncology, 2024. [PMID: 37725907](#).*

**Analysis of circulating tumor DNA for the monitoring of patients treated with CDK4/6 inhibitors.** In the context of the TREnd trial, aimed at evaluating the clinical potential of circulating tumor DNA mutational analysis, the authors showed that the presence of specific mutations (namely, in the ESR1 gene or in genes of the PI3K pathway) before treatment with the CDK4/6 inhibitor palbociclib is associated with high risk of disease progression, and revealed the presence of some acquired mutations in treated patients that may affect therapy outcome.

*Ilenia Migliaccio, Dario Romagnoli, Francesca Galardi, Francesca De Luca, Chiara Biagioni, Giuseppe Curigliano, Carmen Criscitiello, Alessandro Marco Minisini, Erica Moretti, Emanuela Risi, Cristina Guarducci, Agostina Nardone, Laura Biganzoli, Matteo Benelli, Luca Malorni.*

*JCO Precis Oncol, February 2024. [PMID: 38427931](#).*

**Antibody-drug conjugates and radiotherapy - a review.** In a recent review, the authors discuss available scientific evidence concerning potential interactions or synergies between antibody-drug conjugates and radiotherapy, tissue-specific differences, toxicity, highlighting that, however, strong data about combination-induced toxicity are still lacking.

*Stefano Natangelo, Dario Trapani, Chrysanthi Koukoutzeli, Luca Boscolo Bielo, Giulia Marvaso, Barbara Alicja Jereczek-Fossa, Giuseppe Curigliano.*

*Crit Rev Oncol Hematol, March 2024. [PMID: 38272150](#).*

**HER2 expression changes during neoadjuvant treatment.** By analyzing early stage breast cancer tissue samples before and after neoadjuvant treatment, the authors found that HER2 expression changed with treatment in 30% of the patients analyzed and the loss of HER2 expression was prognostic.

*Paolo Tarantino, Oghenechuko Ajari, Noah Graham, Julie Vincuilla, Tonia Parker, Melissa E Hughes, Nabihah Tayob, Ana C Garrido-Castro, Stefania Morganti, Tari A King, Elizabeth A Mittendorf, Giuseppe Curigliano, Nancy U Lin, Sara M Tolaney.*

*Eur J Cancer, February 2024. [PMID: 38368741](#).*

**A review to discuss HER2 heterogeneity in breast and gastrointestinal cancer.** Overexpression of HER2 is commonly found in breast cancer (20%) and gastrointestinal cancer (3%) and makes tumors sensitive to HER2-targeted treatments. Researchers discuss the impact of the intratumor spatial heterogeneity of HER2 expression within the tumor mass on the clinical outcome of HER2-targeted treatments and the need for the characterization of such heterogeneity to be exploited as a predictive biomarker to guide treatment decision making.

*Carmine Valenza, Lorenzo Guidi, Elena Battaiotto, Dario Trapani, Andrea Sartore Bianchi, Salvatore Siena, Giuseppe Curigliano.*

*Trends in cancer, February 2024. [PMID: 38008666](#).*

**PARP inhibitors in the clinical setting - a review.** Although resistance often occurs, PARP inhibitors represent the first successful example of targeted treatment in BRCA1/2 breast cancer patients. In this review, researchers summarize and discuss the available scientific evidence, recent advances, current research and potential future applications of these drugs.

*Stefania Morganti, Antonio Marra, Carmine De Angelis, Angela Toss, Luca Licata, Federica Giugliano, Beatrice Taurelli Salimbeni, Pier Paolo Maria Berton Giachetti, Angela Esposito, Antonio Giordano, Giampaolo Bianchini, Judy E Garber, Giuseppe Curigliano, Filipa Lynce, Carmen Criscitiello.*

*JAMA Oncology, March 2024. [PMID: 38512229](#).*

**High dose chemotherapy and autologous stem cell transplantation - the best treatment option in Hodgkin Lymphoma patients.** In the context of a retrospective clinical trial, involving 220 Hodgkin Lymphoma patients in 11 care centers, the authors showed that, despite the introduction of intermediate PET-based assessment of response to first line chemotherapy (which allows to adjust the treatment regimen in patients showing response to first line chemotherapy), high dose chemotherapy and autologous stem cell transplantation remains the best treatment option, associated with the highest survival rates, in refractory as well as in recurrent patients (although higher risk of autologous stem cell transplantation failure correlates with PET-positive assessment of response).

*Simonetta Viviani, Anna Vanazzi, Samuele Frassoni, Chiara Rusconi, Andrea Rossi, Alessandra Romano, Caterina Patti, Corrado Schiavotto, Roberto Sorasio, Vincenzo Marasco, Laura Lissandrini, Davide Rapezzi, Daniela Gottardi, Federica Cocito, Antonio Mulè, Salvatore Leotta, Guido Gini, Marco Sorio, Enrico Derenzini, Alessandro Rambaldi, Vincenzo Bagnardi, Corrado Tarella.*

*Leukemia & Lymphoma, April 2024. [PMID: 38164812](#).*

**Diet and breast cancer patients relapse.** In the frame of the DIANA-5 clinical trial, involving 1542 patients who were randomly assigned to either an active dietary intervention (namely a diet based on whole grain cereals, legumes, soy products, vegetables, fruit, nuts, olive oil, and fish and devoid of refined products, potatoes, sugar and desserts, red and processed meat, dairy products, and alcoholic drinks) or a control group, the authors showed that the adoption of a healthy diet did not reduce the risk of recurrence in high risk breast cancer patients.

*Franco Berrino\*, Anna Villarini\*, Giuliana Gargano, Vittorio Krogh, Sara Grioni, Manuela Bellegotti, Elisabetta Venturelli, Milena Raimondi, Adele Traina, Maurizio Zarcone, Rosalba Amodio, Maria Piera Mano, Harriet Johansson, Salvatore Panico, Maria Santucci de Magistris, Maggiorino Barbero, Cristina Gavazza, Angelica Mercandino, Elena Consolaro, Rocco Galasso, Luciana Del Riccio, Maria Chiara Bassi, Milena Simeoni, Paolo Premoli, Patrizia Pasanisi, Bernardo Bonanni\*, Eleonora Bruno\*.*

*Clin Cancer Res, March 2024. [PMID: 37847493](#).*

**SeqOne assay in the diagnostic setting.** By analyzing genomic and clinical data collected in the frame of the PAOLA-1/ENGOT-ov25 clinical trial –a phase 3 trial showing high efficacy of olaparib plus bevacizumab maintenance therapy in advanced ovarian cancer patients with homologous recombination deficiency–, the authors demonstrated that the SeqOne assay is a clinically validated procedure for the detection of homologous recombination deficiency, to select patients likely to respond to PARP inhibitors.

*Romain Boidot, Michael G B Blum, Marie-Pierre Wissler, Céline Gottin, Jiri Ruzicka, Sandy Chevrier, Tiffany M Delhomme, Jérôme Audoux, Adrien Jeanniard, Pierre-Alexandre Just, Philipp Harter, Sandro Pignata, Antonio González-Martin, Christian Marth, Johanna Mäenpää, Nicoletta Colombo, Ignace Vergote, Keiichi Fujiwara, Nicolas Duforet-Frebourg, Denis Bertrand, Nicolas Philippe, Isabelle Ray-Coquard, Eric Pujade-Lauraine; PAOLA-1/ ENGOT-ov25 Study Group.*

*Eur J Cancer, March 2024. [PMID: 38471290](#).*

**An optimized protocol to analyze the survival capability of chemotherapy-treated aneuploid cells.** The authors developed and validated a protocol for the generation of aneuploid cells and the evaluation of their ability to resist chemotherapy.

*Marica Rosaria Ippolito, Stefano Santaguida.*

*Methods Cell biology, 2024. [PMID: 38359978](#).*

**Anti-EGFR rechallenge in metastatic colorectal cancer patients – a review.** The authors discuss available data regarding the anti-EGFR blockade-based therapeutic approach in metastatic colorectal cancer patients carrying EGFR mutations that, while failing as first line treatment, in some patients induces clinical benefit after a second administration (or “rechallenge”), likely due to the loss of resistance-associated EGFR mutations emerged during anti-EGFR treatment, thus restoring treatment sensitivity. They also discuss the employment of mutational analysis of circulating tumor DNA as an effective screening tool to identify patients to be treated with a anti-EGFR rechallenge.

*Davide Ciardiello, Gianluca Mauri, Andrea Sartore-Bianchi, Salvatore Siena, Maria Giulia Zampino, Nicola Fazio, Andres Cervantes.*

*Cancer Treat Rev, March 2024. [PMID: 38237253](#).*

**Extreme hypofractionated radiotherapy plus dominant lesion-directed boost in prostate cancer patients.** In the context of the GIVE ME FIVE phase II clinical trial, enrolling 65 patients, the authors demonstrated that the treatment of prostate cancer patients with extreme hypofractionated radiotherapy (namely the delivery of the total radiation dose in shorter time periods as compared to the standard approach, with fewer, higher doses vs more numerous, lower dose radiation) along with a higher dose “boost” specifically targeting the “dominant lesion”, maintains comparable efficacy –namely overall survival and progression-free survival at 5-year followup–, is associated with low risk of severe toxicity, and slight –though not significant– improvement of patient quality of life, highlighting efficacy of this treatment approach in low/intermediate risk population.

*Giulia Marvaso\*, Giulia Corrao\*, Ilaria Repetti, Chiara Lorubbio, Federica Bellerba, Mattia Zaffaroni, Maria Giulia Vincini, Dario Zerini, Sarah Alessi, Stefano Luzzago, Francesco Alessandro Mistretta, Cristiana Fodor, Raffaella Cambria, Federica Cattani, Francesco Ceci, Gennaro Musi, Ottavio De Cobelli, Thomas Zilli, Sara Gandini, Roberto Orecchia, Giuseppe Petralia, Barbara Alicja Jereczek-Fossa.*

*World J Urol, March 2024. [PMID: 38492078](#).*

**Safety and efficacy of atezolizumab + carboplatin/etoposide in lung cancer patients.** The interim results of the phase IIIB clinical trial “MAURIS”, involving 154 patients in different Italian centers, showed that atezolizumab + carboplatin/etoposide treatment of small cell lung cancer patients is safe and effective.

*Emilio Bria, Floriana Morgillo, Marina Chiara Garassino, Fortunato Ciardiello, Andrea Ardizzoni, Alessio Stefani, Francesco Verderame, Alessandro Morabito, Antonio Chella, Giuseppe Tonini, Marina Gilli, Ester Del Signore, Rossana Berardi, Manlio Mencoboni, Alessandra Bearz, Angelo Delmonte, Marta Rita Migliorino, Cesare Gridelli, Antonio Pazzola, Manuela Iero, Filippo De Marinis.*

*Oncologist*, February 2024. [PMID: 38377176](#).

**PCSK9 levels in the blood is not a breast cancer prognostic biomarker.** Within a prospective clinical trial, blood levels of PCSK9 have been evaluated in the enrolled premenopausal women at risk of breast cancer and under treatment, failing to reveal, in a 17-year follow up, an association with breast cancer incidence.

*Massimiliano Ruscica, Chiara Macchi, Sara Gandini, Debora Macis, Aliana Guerrieri-Gonzaga, Valentina Aristarco, Davide Serrano, Matteo Lazzeroni, Alessandra Stefania Rizzuto, Aurora Gaeta, Alberto Corsini, Marcella Gulisano, Harriet Johansson, Bernardo Bonanni.*

*Cancers (Basel)*, April 2024. [PMID: 38611089](#).

**Next generation sequencing (NGS) of cancer of unknown primary.** To better profile cancers of unknown primary and thus design more effective treatment approaches, researchers analyzed NGS-collected genomic and clinical data of patients treated at IEO. The analyses revealed that a significant proportion of the tumors analyzed carried actionable mutations, strongly supporting the genomic profiling of tumors to offer additional treatment options.

*Luca Boscolo Bielo, Carmen Belli, Edoardo Crimini, Matteo Repetto, Liliana Ascione, Gloria Pellizzari, Celeste Santoro, Valeria Fuorivia, Massimo Barberis, Nicola Fusco, Elena Guerini Rocco, Giuseppe Curigliano.*

*Oncologist*, March 2024. [PMID: 38520742](#).

**Greater tumor size is associated with worse patient survival of targeted therapy-treated patients.** The analysis of 444 patients with advanced solid tumors treated with immunotherapy or targeted therapy showed that patients with greater tumor masses -before therapy- had an overall worse survival.

*Eleonora Nicolò, Paolo Tarantino, Oriana D'Ecclesiis, Gabriele Antonarelli, Luca Boscolo Bielo, Antonio Marra, Sara Gandini, Edoardo Crimini, Federica Giugliano, Paola Zagami, Chiara Corti, Dario Trapani, Stefania Morganti, Carmen Criscitiello, Marzia Locatelli, Carmen Belli, Angela Esposito, Ida Minchella, Massimo Cristofanilli, Sara M Tolaney, Giuseppe Curigliano.*

*Oncologist*, January 2024. [PMID: 37548439](#).

**A novel, more accurate predicting model for adrenocortical carcinoma.** By exploiting clinical data of over 1.000 patients, the authors developed a multivariable model -including factors such as age, surgery, T, N, M stage- outperforming the current American Joint Committee on Cancer staging system, especially in stage I and II patients.

*Letizia Maria Ippolita Jannello, Simone Morra, Lukas Scheipner, Andrea Baudo, Carolin Siech, Mario de Angelis, Nawar Touma, Zhe Tian, Jordan A Goyal, Stefano Luzzago, Francesco A Mistretta, Mattia Luca Piccinelli, Fred Saad, Felix K H Chun, Alberto Briganti, Sascha Ahyai, Luca Carmignani, Nicola Longo, Ottavio de Cobelli, Gennaro Musi, Pierre I Karakiewicz.*

*Endocr Relat Cancer*, March 2024. [PMID: 38363202](#).

**The protein domain involved in the stabilization of the inhibitor/MEK protein complex.** In a concept article, the authors examine the role of the structural features of the MEK inhibitor in stabilizing the interaction with its protein target, likely impacting on the pharmacological activity of the drug.

*Pietro Milesi, Francesca Baldelli Bombelli, Luisa Lanfrancone, Rosa M Gomila, Antonio Frontera, Pierangelo Metrangolo, Giancarlo Terraneo.*  
*Chem Asian J; March 2024. [PMID: 38501888](#).*

**Sexual activities and gut microbiota composition.** A shotgun metagenomics-based study reveals a different gut microbiome composition of men of western origin that have sex with other men, which is more similar to the gut microbiome of non-westernized populations. These results suggest that such differences should be considered in the design/interpretation of microbiota-based studies.

*Kun D Huang, Lena Amend, Eric J C Gálvez, Till-Robin Lesker, Romulo de Oliveira, Agata Bielecka, Aitor Blanco-Míguez, Mireia Valles-Colomer, Isabel Ruf, Edoardo Pasoli, Jan Buer, Nicola Segata, Stefan Esser, Till Strowig, Jan Kehrman.*  
*Cell Rep Med, March 2024. [PMID: 38366600](#).*

**An improved workflow for the metagenome sequencing-based analysis of the microbiome in food production/processing facilities.** The improved protocol and the bioinformatic pipeline enable the optimized purification procedure of microbial DNA from samples in food processing environment -where controlling microbial presence is critical for food quality and safety- and the accurate ensuing microbiome metagenomic analysis.

*Coral Barcenilla, José F Cobo-Díaz, Francesca De Filippis, Vincenzo Valentino, Raul Cabrera Rubio, Dominic O'Neil, Lisa Mahler de Sanchez, Federica Armanini, Niccolò Carlino, Aitor Blanco-Míguez, Federica Pinto, Inés Calvete-Torre, Carlos Sabater, Susana Delgado, Patricia Ruas-Madiedo, Narciso M Quijada, Monika Dzieciol, Sigurlaug Skírnisdóttir, Stephen Knobloch, Alba Puente, Mercedes López, Miguel Prieto, Viggó Thór Marteinsson, Martin Wagner, Abelardo Margolles, Nicola Segata, Paul D Cotter, Danilo Ercolini, Avelino Alvarez-Ordóñez.*  
*Nature protocols, January 2024. [PMID: 38267717](#).*

**Metabolic pathways of neuronal maturation.** Glucose-derived (through mitochondrial metabolism) glutamate contributes to the maturation of rat neurons, being needed for proper neuronal arborization, dendritic elongation, and spine formation. Glutamate administration in glutamate production-impaired (caused by the mitochondrial pyruvate transporter inhibition) differentiating neurons in the early phases or selective activation of metabotropic glutamate receptors, are capable of restoring morphological neuron defects associated with its absence. Conversely, fatty acid oxidation does not affect neuron maturation.

*Laura D'Andrea, Matteo Audano, Silvia Pedretti, Silvia Pelucchi, Ramona Stringhi, Gabriele Imperato, Giulia De Cesare, Clara Cambria, Marine H Laporte, Nicola Zamboni, Flavia Antonucci, Monica Di Luca, Nico Mitro, Elena Marcello.*  
*EMBO reports, January 2024. [PMID: 38243137](#).*

**SEVtras: A workflow for the analysis of small extracellular vesicles.** Through this algorithm, single cell RNA sequencing datasets can be exploited for the high resolution analysis of small extracellular vesicles,

offering a useful tool for deepening our understanding of the role of small extracellular vesicles in cancer biology.

*Nature methods*, February 2024. [PMID: 38049696](#).

**Liquid biopsy in Hodgkin Lymphoma.** A study in *Nature* shows, in a 366-Hodgkin Lymphoma patient cohort, through the analysis of circulating tumor DNA (ctDNA), that, due to the high shedding of ctDNA by lymphoma cells, the disease can be non-invasively profiled, overcoming potential issues associated with formalin fixed samples. Through this approach, the authors were able to identify Hodgkin Lymphoma subgroups, differently characterized on the basis of genotype, molecular features and ctDNA levels, with diagnostic, prognostic and therapeutic potential.

*Nature*, January 2024. [PMID: 38081297](#).

**CMTM6 protein - Balancing stimulation and inhibition of antitumor T cells.** The immune system activity against tumor cells depends on different, and sometimes opposite, mechanisms. PD1 -expressed on T cells- and PDL1 -expressed on tumor cells- proteins play a well known role: The interaction between these two proteins prevents T cell activation against tumor cells; therefore, inhibiting this interaction is exploited to foster the antitumor activity of T cells. CD58 protein is also involved in this regulatory mechanism, although with a different result: CD58 interaction with its ligand (CD2) on T cells promotes an antitumor T cell response. Researchers show that CMTM6 protein is crucially involved in this regulatory mechanism, interacting with and upregulating the expression of both CD58 and PDL1 protein, thus having opposite effects on T cell activation, fine tuning the antitumor T cell activity and potentially influencing the efficacy of anti-PDL1 immunotherapy.

*Cancer cell* 2023. [PMID: 37683639](#).

**A checklist for image publication and analysis.** In a review, a checklist to help scientists in the acquisition and analysis of microscopy images for publication.

*Nature methods*, February 2024. [PMID: 37710020](#).



## DIAMO IL BENVENUTO A WE WELCOME

**Acerbi Luca**, Undergraduate Student, Pece Group; **Allocca Gloria**, Post doc, Minucci Group; **Bischinioti Ioanna**, Fellow, Bonaldi Group; **Bivacqua Salvatore**, Undergraduate Student, Zebrafish Unit; **Buscemi Irene**, Technician, Cavallaro Group; **Cat Betul**, Undergraduate Student, Bonaldi Group; **Cattò Federico**, Undergraduate Student, Gandini Group; **Chiodin Alessio**, Fellow, Diagnostica Molecolare Avanzata; **Conforti Pasquale**, Post doc, Amati Group; **Corvino Giulia**, Undergraduate Student, Gandini Group; **Damo Angelos**, Post doc, Cavallaro Group; **Digiario Serena**, PhD Student, Oloker Therapeutics; **Eltayeb Elemam Mohamed Ahmed Kamal**, Post doc, PG Pelicci Group; **Esposito Vittoria**, Scientist, Diagnostica Molecolare Avanzata; **Gascoyne Duncan Miles**, Technician, Testa Group; **Ghiringhelli Alessandro**, Technician, Bonaldi Group; **Gurer Ekin Ece**, Temporary, Bonaldi Group; **Manganaro Daria**, Technician, Genomic Unit; **Miele Federica**, Temporary, Amati Group; **Monciotti Martina**, Undergraduate Student, Pasini Group; **Paganoni Sofia**, Undergraduate Student, Mitro Group; **Parisi Sofia Rosalia**, Post doc, Amati Group; **Rauso Greta**, Temporary, Mapelli Group; **Rezaei Mohammad**, Fellow, Amati Group; **Runfola Valeria**, Scientist, Scaffidi Group; **Sabino Luis Gustavo**, Post doc, Nezi Group; **Sarzi Amadè Monica**, Undergraduate Student, Natoli Group; **Sina Mohammad**, Post doc, Pelicci PG Group; **Volpi Mattia**, Temporary, Mazzarella Group.

#### Cover image (by Stefano Santaguida):

Chromosome segregation errors lead to abnormal karyotypes, a condition known as aneuploidy. Shown here is a cell undergoing cell division and experiencing chromosome mis-segregation.

#### Stefano Santaguida:

**Stefano Santaguida** is Group Leader at the Department of Experimental Oncology of IEO and Professor of Molecular Biology at the University of Milan. He performed his PhD work at IEO, where he made several contributions to the understanding of the regulation of the process of chromosome segregation. He then moved to the Massachusetts Institute of Technology (MIT) for his postdoctoral studies where he started to uncover how an unbalanced chromosome number affects the cell's proteome and provided information on the immediate consequences of aneuploidy on genome integrity. His current research aims at a molecular characterization of the pathways deregulated in aneuploid cells, with the ultimate goal of facilitating the development of therapeutic interventions targeting the aneuploid state of cancer.

#### 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, Sara Gandini, Serena Ghisletti, Patrizia Gnagnarella, Luisa Lanfrancione, Luca Mazzeola, Gioacchino Natoli, Roberta Noberini, Diego Pasini, Chiara Ronchini, Marta Russo, Nicola Segata (Department of Experimental Oncology of the European Institute of Oncology, IEO), Mohssen Ansarin, Nicoletta Colombo, Giuseppe Curigliano, Silvia Derio, Barbara Alicja Jereczek-Fossa, Giulia Marvaso (European Institute of Oncology), Emanuela Ottolina (IEO communication office), Fulvio Chiacchiera, Gianmarco Piccinno (University of Trento).

#### 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).