

PROGRAMMA DI RICERCA

Studio dell'accoppiamento metabolico tra cellule di carcinoma prostatico e cellule osteogeniche nel microambiente della metastasi ossea.

(Study of the metabolic coupling between prostate cancer cells and osteogenic cells in the microenvironment of bone metastasis)

Tutor: Prof. Sofia Avnet (DIBINEM, Alma Mater Studiorum Università di Bologna)

Premessa: L'attività di ricerca sarà svolta presso l'Istituto Ortopedico Rizzoli IRCCS (IOR, Bologna) e nell'ambito del progetto "Citrate-mediated metabolic coupling: a target for advanced PROstate cancer in BONE (PROBONE)" AIRC IG 2021 - III annualità (PI Sofia Avnet)

Descrizione breve attività di ricerca (limite 1000 caratteri)

Il cancro alla prostata (PCa) ha un profilo metabolico unico che ruota attorno al citrato. Le cellule di PCa producono citrato attraverso il loro metabolismo e hanno un'elevata attività glicolitica, secernendo lattato e dimostrando una predilezione per il tessuto osseo. Tuttavia, il profilo metabolico del PCa all'interno dell'osso è sconosciuto. L'osso e la prostata condividono una concentrazione molto elevata di citrato. Nell'osso, il citrato è sia intrappolato nella matrice mineralizzata sia attivamente secreto dalle cellule osteogeniche. Questo studio mira a determinare se le cellule tumorali del PCa metastatico stabiliscano una simbiosi metabolica con le cellule osteogeniche, utilizzando il lattato rilasciato e l'accesso al citrato immagazzinato nell'osso. Per raggiungere questo obiettivo, verrà sviluppato un modello di osso su chip arricchito di citrato e idrossiapatite e cellule osteogeniche. Questi modelli saranno anche utilizzati per convalidare nuovi approcci terapeutici.

Prostate cancer (PCa) has a unique metabolic profile centered around citrate. PCa cells produce citrate through their metabolism and exhibit high glycolytic activity, secreting lactate and showing a preference for bone tissue. However, the metabolic profile of PCa within the bone is unknown. Both bone and the prostate share a very high concentration of citrate. In bone, citrate is both trapped in the mineralized matrix and actively secreted by osteogenic cells. This study aims to determine whether metastatic PCa tumor cells establish a metabolic symbiosis with osteogenic cells, utilizing the released lactate and accessing the stored citrate in the bone. To achieve this goal, a citrate and hydroxyapatite-enriched bone-on-a-chip model will be developed, along with osteogenic cells. These models will also be used to validate new therapeutic approaches.

Introduzione

Il cancro alla prostata (PCa) è il secondo tumore più comune nei maschi dei paesi occidentali. Il trattamento include l'asportazione chirurgica del tumore primario con o senza radioterapia, seguita da chemioterapia e/o terapia di deprivazione androgenica (ADT) come adiuvanti. L'ADT riduce le dimensioni del tumore e i livelli di antigene prostatico specifico (PSA) nel sangue ed è efficace nei pazienti con malattia locale o regionale, con un tasso di sopravvivenza a 5 anni fino al 100%. Tuttavia, circa il 20-30% dei pazienti sperimenta una recidiva dopo i primi 5 anni, sviluppando una forma metastatica resistente alla castrazione con alta morbilità e mortalità, e una sopravvivenza a 5 anni inferiore al 30%. Durante la fase resistente alla castrazione, il recettore degli androgeni (AR) viene riattivato attraverso l'amplificazione o mutazione genica o tramite l'attivazione di altre vie di segnalazione. Le metastasi ossee sono il sito più comune, con l'80-90% dei pazienti resistenti alla castrazione che sviluppa metastasi ossee. Le metastasi ossee causano dolore, ipercalcemia e compressione del midollo spinale, influenzando la morbilità del PCa. Inoltre, l'ADT a lungo termine aumenta il rischio di fragilità ossea e fratture. Le cellule del PCa mostrano una forte tendenza a

metastatizzare alle ossa. Le metastasi ossee del PCa producono lesioni radiodense e interagiscono con osteoclasti, osteoblasti e osteociti, le cellule ossee più comuni. Il PCa influenza l'omeostasi ossea attraverso fattori paracrini che favoriscono la proliferazione e la differenziazione degli osteoblasti. Una volta che le cellule tumorali si stabiliscono in altri organi, si adattano a diversi ambienti metabolici e sviluppano interazioni metaboliche con le cellule del microambiente ospite. Il microambiente della ghiandola prostatica e delle ossa condividono metaboliti cruciali come il citrato e lo zinco. Le cellule tumorali del PCa potrebbero utilizzare il citrato prodotto dagli osteoblasti per il loro metabolismo energetico durante la metastasi alle ossa. Le cellule tumorali del PCa possono interagire con le cellule ossee attraverso fattori di crescita e citochine e stimolare la proliferazione e la differenziazione degli osteoblasti, oppure che stimolano l'attività degli osteoclasti, causando riassorbimento osseo e lesioni osteolitiche. Tuttavia, sebbene il PCa sia stato caratterizzato dal punto di vista metabolico a causa delle sue caratteristiche estremamente uniche, il comportamento metabolico del PCa nelle ossa è stato in gran parte trascurato. Inoltre, la stragrande maggioranza degli studi in vitro sulle cellule tumorali si è basata su una biologia piatta, senza considerare adeguatamente il contributo sostanziale del tessuto connettivo associato al tumore in strutture tridimensionali e le caratteristiche peculiari del microambiente tumorale, inclusa la presenza di metaboliti altamente concentrati nella matrice extracellulare.

Obiettivo dello studio

In questo progetto, con l'obiettivo finale di identificare nuovi bersagli terapeutici che possano ostacolare la progressione del PCa nelle ossa, intendiamo, da un lato, affrontare il ruolo del metabolismo del citrato nel midollo osseo del PCa e, dall'altro, sfruttare l'uso di modelli di organ-on-a-chip della malattia per studi meccanicistici e screening di farmaci, un passo preliminare e fondamentale per la successiva validazione in vivo. Gli obiettivi del progetto sono 1) investigare l'associazione tra l'espressione di trasportatori di citrato nelle cellule del PCa e la progressione del midollo osseo mediante l'analisi di cellule tumorali di PCa con una forte predisposizione a formare metastasi ossee, rispetto alle linee cellulari di PCa che non ce l'hanno; 2) effettuare uno screening preliminare sul modello di organ-on-a-chip di un pannello di farmaci mirati ai bersagli metabolici identificati.

Piano delle attività

Laboratorio dove saranno eseguite le prove: L'attività dell'assegnista di ricerca sarà svolta presso l'Istituto Ortopedico Rizzoli IRCCS (IOR Bologna), presso la SC di Scienze e Tecnologie Biomediche e Nanobioteconologie (Responsabile Nicola Baldini).

Materiale e Metodo

L'assegnista di ricerca si occuperà di:

- Creazione di un modello microfluidico 3D con idrogel e cellule ossee e tumorali di PCa da varie linee cellulari.
- Analisi molecolare dei modelli tridimensionali di co-cultura e caratterizzazione metabolica attraverso diversi saggi: western blot capillare JC1, immunofluorescenza di enzimi coinvolti nei diversi pathway metabolici analizzati tramite imaging avanzato (confocale a doppio fotone).
- Test dell'effetto dei supernatanti su vitalità e metabolismo delle cellule tumorali, e viceversa sulle cellule osteogeniche.
- Valutazione effetti dei supernatanti sulla chemioresistenza a farmaci antitumorali.

PROGRAMMA DI FORMAZIONE

La formazione del titolare dell'assegno sarà integrata da:

- 1) Formazione su colture cellulari 3D in dispositivi di microfluidica;
- 2) Formazione sull'esecuzione di saggi di vitalità cellulare;

- 3) Formazione sull'esecuzione di saggi di analisi del metabolismo cellulare;
- 4) Formazione sull'esecuzione di saggi di biologia molecolare come western blot capillare, RT-PCR, e immunofluorescenza, e analisi al confocale.
- 5) Analisi statistica dei dati, con uso di tecniche uni- e multivariate.

Al termine del periodo di ricerca, il titolare avrà acquisito competenze di alto livello sullo studio delle microambiente e dei meccanismi paracrini nel contesto del microambiente tumorale e sullo sviluppo di modelli tumorali tridimensionali.

Partecipazione a seminari e corsi

- Meeting interni di laboratorio e Journal Clubs;
- Eventuali seminari ed eventi scientifici nazionali ed internazionali.