



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA
DIPARTIMENTO DI
SCIENZE MEDICHE E CHIRURGICHE

Modulo richiesta assegno

TUTOR	Tatiana Gianni	
Fascia VRA	(compilazione a cura della Giunta)	<i>Punti</i>
<u>PRODUZIONE SCIENTIFICA ASSEGNISTI NELL'ULTIMO QUADRIENNIO</u>		<i>Punti</i>
Nome e n° mesi assegnista 1	Federico Parenti, 12 mesi + un rinnovo in corso di 12 mesi	
Max. 4 lavori in extenso su riviste indicizzate PubMed	Towards a Precision Medicine Approach and In Situ Vaccination against Prostate Cancer by PSMA-Retargeted oHSV. Vannini A, <u>Parenti F</u> , Bressanin D, Barboni C, Zaghini A, Campadelli-Fiume G, Gianni T. Viruses. 2021 Oct 16;13(10):2085. doi: 10.3390/v13102085.	
	Genotype of Immunologically Hot or Cold Tumors Determines the Antitumor Immune Response and Efficacy by Fully Virulent Retargeted oHSV. Gianni T, Leoni V, Sanapo M, <u>Parenti F</u> , Bressanin D, Barboni C, Zaghini A, Campadelli-Fiume G, Vannini A. Viruses. 2021 Sep 1;13(9):1747. doi: 10.3390/v13091747.	
Nome e n° mesi assegnista 2	Mara Sanapo, 24 mesi	
Max. 4 lavori in extenso su riviste indicizzate PubMed	Genotype of Immunologically Hot or Cold Tumors Determines the Antitumor Immune Response and Efficacy by Fully Virulent Retargeted oHSV. Gianni T, Leoni V, <u>Sanapo M</u> , Parenti F, Bressanin D, Barboni C, Zaghini A, Campadelli-Fiume G, Vannini A. Viruses. 2021 Sep 1;13(9):1747. doi: 10.3390/v13091747.	
	Immunotherapeutic Efficacy of Retargeted oHSVs Designed for Propagation in an Ad Hoc Cell Line. Vannini A, Leoni V, <u>Sanapo M</u> , Gianni T, Giordani G, Gatta V, Barboni C, Zaghini A, Campadelli-Fiume G. Cancers (Basel). 2021 Jan 12;13(2):266. doi: 10.3390/cancers13020266.	

Settore Personale | Ufficio Personale Non Strutturato

c/o Policlinico di Sant'Orsola, via Massarenti 9 – Pad. 11 | 40138 Bologna | Italia | sam.nonstrutturati@unibo.it



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA
DIPARTIMENTO DI
SCIENZE MEDICHE E CHIRURGICHE

	<p>αvβ3-integrin regulates PD-L1 expression and is involved in cancer immune evasion.</p> <p>Vannini A, Leoni V, Barboni C, <u>Sanapo M</u>, Zaghini A, Malatesta P, Campadelli-Fiume G, Gianni T.</p> <p>Proc Natl Acad Sci U S A. 2019 Oct 1;116(40):20141-20150. doi: 10.1073/pnas.1901931116. Epub 2019</p>
Nome e n° mesi assegnista 3	Valerio Leoni, 24 mesi
Max. 4 lavori in extenso su riviste indicizzate PubMed	<p>Targeted Delivery of IL-12 Adjuvants Immunotherapy by Oncolytic Viruses.</p> <p>Vannini A, <u>Leoni V</u>, Campadelli-Fiume G.</p> <p>Adv Exp Med Biol. 2021; 1290:67-80. doi: 10.1007/978-3-030-55617-4_4.</p>
	<p>αvβ3-integrin regulates PD-L1 expression and is involved in cancer immune evasion.</p> <p>Vannini A, <u>Leoni V</u>, Barboni C, Sanapo M, Zaghini A, Malatesta P, Campadelli-Fiume G, Gianni T.</p> <p>Proc Natl Acad Sci U S A. 2019 Oct 1;116(40):20141-20150. doi: 10.1073/pnas.1901931116. Epub 2019</p>
	<p>oHSV Genome Editing by Means of galk Recombineering.</p> <p>Menotti L, <u>Leoni V</u>, Gatta V, Petrovic B, Vannini A, Pepe S, Gianni T, Campadelli-Fiume G.</p> <p>Methods Mol Biol. 2020; 2060:131-151. doi: 10.1007/978-1-4939-9814-2_7.</p>
Nome e n° mesi assegnista 4	Andrea Vannini- 24 mesi- incarico di lavoro autonomo non occasionale
Max. 4 lavori in extenso su riviste indicizzate PubMed	<p>Towards a Precision Medicine Approach and In Situ Vaccination against Prostate Cancer by PSMA-Retargeted oHSV.</p> <p><u>Vannini A</u>, Parenti F, Bressanin D, Barboni C, Zaghini A, Campadelli-Fiume G, Gianni T.</p> <p>Viruses. 2021 Oct 16;13(10):2085. doi: 10.3390/v13102085.</p>



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA
DIPARTIMENTO DI
SCIENZE MEDICHE E CHIRURGICHE

	Genotype of Immunologically Hot or Cold Tumors Determines the Antitumor Immune Response and Efficacy by Fully Virulent Retargeted oHSV. Gianni T, Leoni V, Sanapo M, Parenti F, Bressanin D, Barboni C, Zaghini A, Campadelli-Fiume G, <u>Vannini A</u> . Viruses. 2021 Sep 1;13(9):1747. doi: 10.3390/v13091747.
	Immunotherapeutic Efficacy of Retargeted oHSVs Designed for Propagation in an Ad Hoc Cell Line. <u>Vannini A</u> , Leoni V, Sanapo M, Gianni T, Giordani G, Gatta V, Barboni C, Zaghini A, Campadelli-Fiume G. Cancers (Basel). 2021 Jan 12;13(2):266. doi: 10.3390/cancers13020266.
	αvβ3-integrin regulates PD-L1 expression and is involved in cancer immune evasion. <u>Vannini A</u> , Leoni V, Barboni C, Sanapo M, Zaghini A, Malatesta P, Campadelli-Fiume G, Gianni T. Proc Natl Acad Sci U S A. 2019 Oct 1;116(40):20141-20150. doi: 10.1073/pnas.1901931116. Epub 2019

Commissione proposta 3 commissari + 1 supplente	Gianni Tatiana
	Zaghini Anna
	Campadelli-Fiume Gabriella
	Vannini Andrea

TITOLO DEL PROGETTO			
ASSEGNO FINANZIATO DA PROGETTO COMPETITIVO (barrare la casella corrispondente)	<input checked="" type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	Punti
SE IL FINANZIAMENTO È COMPETITIVO L'ENTE FINANZIATORE	ERC: 7PQERCONCO		
PROGETTO/ATTIVITÀ A SCOPO COMMERCIALE (es. sperimentazione profit)	<input type="checkbox"/> SI	<input checked="" type="checkbox"/> NO	



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA
DIPARTIMENTO DI
SCIENZE MEDICHE E CHIRURGICHE

CARATTERISTICHE DEL PROGETTO <i>(biomedico/osservazionale/clinico-interventistico/multidisciplinare)</i>	multidisciplinare	
STATO DI APPROVAZIONE DEL PROGETTO DA PARTE DEL COMITATO ETICO <i>(se necessario per il tipo di studio barrare o evidenziare la casella corrispondente)</i>	<input type="checkbox"/> Ottenuto	<input type="checkbox"/> Da ottenere
DESCRIZIONE DEL PROGETTO <i>(max 800 parole)</i>	Punti	
Stato dell'Arte e Razionale <p>Gli agenti immunoterapici migliorano l'esito dei pazienti affetti da diversi tipi di tumori, ma richiedono ancora l'implementazione di approcci combinatori per estendere l'efficacia a una percentuale maggiore di pazienti. La maggior parte di questi approcci ha lo scopo di convertire l'ambiente immunosoppressivo del tumore in uno più efficiente dal punto di vista immunologico. I vaccini antitumorali intesi come vaccini a base proteica e i vaccini genetici hanno avuto un successo limitato a causa della scarsa immunogenicità. I vaccini contro il cancro a cellule intere superano queste limitazioni sfruttando le stesse cellule tumorali come fonte di <i>mutanomi</i> interi dei pazienti. Molte strategie sono state sfruttate per rendere le cellule tumorali immunogeniche. I virus oncolitici sono agenti immunoterapeutici del cancro in grado di infettare e uccidere le cellule tumorali in modo immunologicamente competente e di suscitare immunità adattativa antitumorale. Tra le strategie per rendere un herpes virus un virus oncolitico specifico per le cellule cancerose, il retargeting del tropismo naturale è sicuramente la più stringente. Per entrare nella cellula, il virus dell'herpes simplex umano (HSV) utilizza sia le glicoproteine di fusione virale gH/gL/gB che la glicoproteina virale D (gD), responsabile del tropismo cellulare/tissutale. gD, nel virus ricombinante utilizzato in questo progetto, è stata precedentemente ingegnerizzata con un anticorpo a catena singola specifico per HER2 umano (huHER2) in modo da generare un HSV oncolitico (reHSV) mirato a huHER2 (reHSV-HER2); questo reHSV-HER2 esprime anche IL-12 murino. reHSV-HER2 ha dimostrato di uccidere efficacemente le cellule tumorali sia in modelli in vitro che in vivo e di indurre una risposta immunitaria antitumorale locale e sistemica, che induce la regressione del tumore in maniera immuno-mediata. In questo progetto saranno prese in considerazione nuove applicazioni per reHSV-HER2 per fornire la prova concettuale che i vaccini costituiti da cellule tumorali ingegnerizzate infettate con reHSV-HER2 proteggono dalla crescita del tumore in modo antigene gnostico che agnostico.</p>		
Obiettivi <p>L'obiettivo di questa proposta è progettare un vaccino antitumorale adatto al trattamento sistemico dei tumori metastatici, o di tumori inaccessibili, in assenza di qualsiasi somministrazione intratumorale diretta. L'idea è quella di cambiare il paradigma nell'uso di reHSV e sfruttarli per rendere immunogenici i vaccini contro il cancro a cellule intere e non.</p>		
Metodologia (descrizione del campione, principali tecniche utilizzate, aspetti biostatistici, fattibilità...) <p>La proposta prevede l'infezione <i>ex vivo</i> di cellule tumorali ingegnerizzate con reHSV-HER2, e la somministrazione dell'IECV (Infected Engineered Cell Vaccine) in un compartimento anatomico come il peritoneo, distante dal tumore. Le cellule tumorali sono ingegnerizzate con il gene suicida della timidina chinasi di HSV e vengono uccise con la somministrazione di aciclovir (ACV), per motivi di sicurezza. Da notare che l'ACV in vivo ucciderà contemporaneamente sia le cellule tumorali ingegnerizzate che il reHSV-HER2, come ulteriore misura di sicurezza. Verranno esaminati gli effetti di cicli di trattamento IECV su tumori distali esprimenti sia il HER2 che non. I cicli di trattamento saranno inoltre combinati con gli Immune Checkpoint Inhibitor (ICI). Le risposte immunitarie sistemiche saranno misurate sia negli splenociti come produzione di IFNγ che nei sieri prelevati al sacrificio. Inoltre attraverso specifiche analisi al FACS verrà analizzato lo stato</p>		

Settore Personale | Ufficio Personale Non Strutturato

c/o Policlinico di Sant'Orsola, via Massarenti 9 – Pad. 11 | 40138 Bologna | Italia | sam.nonstrutturati@unibo.it



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA
DIPARTIMENTO DI
SCIENZE MEDICHE E CHIRURGICHE

immunogenico del tumore. Il laboratorio proponente il progetto ha una consolidata esperienza pluriennale nel campo del retargeting del herpes oncolitico, ciò consente di padroneggiare le tecnologie necessarie per eseguire il lavoro proposto. La sperimentazione sugli animali è svolta presso la struttura del Dipartimento di Medicina Veterinaria, sotto la supervisione e responsabilità della Prof.ssa Anna Zaghini. I Protocolli per gli esperimenti descritti sono stati approvati dal Ministero della Salute, protocolli 86/2017-PR e 63/2021-PR alla Prof.ssa Anna Zaghini.

Risultati attesi

Si ci aspetta che cicli ripetuti di IECV e ACV (+/- ICI) provocheranno un adattamento della risposta antitumorale indirizzata sia a huHER2 sia agli antigeni tumorali agnostici. La risposta antitumorale adattativa inibirà la crescita di tumori distali mediante un meccanismo immunoterapeutico puro, cioè in assenza di qualsiasi tumore direttamente trattamento.

DESCRIZIONE DELLE ATTIVITÀ DELL'ASSEGNISTA

(per i **nuovi** assegni: max 400 parole; competenze richieste, scansione temporale della formazione, scansione temporale dell'attività, obiettivi primari e secondari)

(per i **rinnovi**: max 600 parole – da integrare con la relazione dell'assegnista; formazione raggiunta, attività effettuata, obiettivi raggiunti/competenze acquisite, formazione ancora da acquisire (se pertinente), scansione temporale dell'attività durante il rinnovo)

Punti

L'assegnista si occuperà del lavoro di laboratorio richiesto per mantenere ed espandere le colonie murine di C57Bl/6 WT e BALB/c huHER2. Più nello specifico, si occuperà dell'allevamento, dell'accoppiamento, dello svezzamento, della marcatura e genotipizzazione dei nuovi nati. Saranno stabiliti modelli sottocutanei tumorali utilizzando diverse dosi di cellule cancerose singeniche esprimenti huHER2. I topi saranno monitorati dopo l'induzione tumorale per valutare e misurare lo sviluppo della massa. La somministrazione delle cellule tumorali vaccinali sarà fatta intraperitonealmente. Il prelievo e la preparazione degli organi e del siero alla fine dell'esperimento saranno eseguiti per analizzare il tumore e la risposta immunitaria tumore-specifica. Parte dell'attività di ricerca verrà svolta sotto la supervisione della Prof.ssa Anna Zaghini (DIMEVET).

SE RINNOVO, SI RICORDA DI ALLEGARE ANCHE LA RELAZIONE DELL'ASSEGNISTA CON LA SUA PRODUZIONE SCIENTIFICA.

Scheda attività assistenziale (se prevista)

ATTIVITÀ ASSISTENZIALI DELL'ASSEGNISTA/ N. ORE SETTIMANA

Settore Personale | Ufficio Personale Non Strutturato

c/o Policlinico di Sant'Orsola, via Massarenti 9 – Pad. 11 | 40138 Bologna | Italia | sam.nonstrutturati@unibo.it



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA
DIPARTIMENTO DI
SCIENZE MEDICHE E CHIRURGICHE

AZIENDA SANITARIA PRESSO CUI SI SVOLGERÀ L'ATTIVITÀ

Si ricorda che, come previsto dagli Accordi sull'impiego nell'attività assistenziale dei Titolari di assegni di ricerca, sottoscritti tra l'Università di Bologna e le Aziende Ospedaliere di riferimento, una volta stipulato il contratto con il vincitore della selezione, il tutor deve consegnare alla Direzione Medica Ospedaliera la relativa modulistica, nella quale andranno riportate le attività qui segnalate.

Tutor: Dott.ssa Tatiana Gianni (DIMEC)

TITOLO DEL PROGETTO

A novel approach to antigen-agnostic and -gnostic cancer vaccination aided by a viral vector

ABSTRACT DEL PROGETTO

Immunotherapeutic agents ameliorate the outcome of patients affected by several type of cancers, but still require the implementation of combinational approaches to extend the efficacy to a larger percentage of patients. Most of these approaches have the aim to convert the immunosuppressive milieu of tumor into a more immunological proficient one. Cancer vaccines intended as protein-based vaccines and genetic vaccines met limited success due to poorly immunogenicity of low number of tumor antigens administered to patients. Whole cell cancer vaccines overcome these limitations by exploiting tumor cells themselves as a source of whole mutanome of patients. Many strategies have been exploited to make tumor cells immunogenic. Oncolytic viruses are cancer immune-therapeutics able to infect and kill cancer cells in immunologically proficient way and to elicit antitumor adaptive immunity. Among strategies to make an oncolytic herpes virus restricted to cancer cells, tropism retargeting allows to get a tight tumor stringency. To enter cell, human herpes simplex virus (HSV) uses both viral fusion glycoproteins gH/gL/gB and viral glycoprotein gD that is responsible for cell/tissue tropism. Glycoprotein D, in the recombinant virus, has been previously engineered with a single chain antibody specific for human HER2 (huHER2) in a way to generate oncolytic HSV (reHSV) retargeted to huHER2 (reHSV-HER2); also the reHSV-HER2 expresses murine IL-12. This reHSV has been shown to efficiently kill cancer cells both in vitro and in vivo models and to induce a local and systemic antitumour immune response, which induces immune-mediated tumour regression. New applications for reHSV-HER2 will be considered to provide proof of concept evidence that vaccines made of engineered cancer cells infected with reHSV-HER2 protect from tumor growth in antigen-agnostic and agnostic manner. The aim of the present project is to implement a whole cell cancer vaccine immunologically adjuvanted by a retargeted oncolytic virus to generate therapeutic gnostic and agnostic cancer vaccine. Cancer cells will be infected ex vivo with reHSV-HER2 and employed as a source of whole cancer mutanome by intraperitoneal vaccination. Prophylactic and therapeutic setting will be assessed in immunocompetent mice along with the humoral and T-cell mediated antitumor immunity will be determined by FACS staining and ELISA assays. Allogenic cancer vaccine will also be explored to determine if and how efficiently, an oncolytic virus could be translated to the clinical use as an off-the shelf approach against tumor antigens.

PIANO DELLE ATTIVITÀ DELL'ASSEGNISTA

The research fellow will carry out all the laboratory work required to maintain and expand the C57Bl/6 WT and BALB/c huHER2 colonies. More specifically, he/she will help in the general husbandry to maintain the colony, will plan and follow the breeding, will wean and mark the pups, will genotype the mice. A subcutaneous tumour models will be established using different doses of syngeneic cancer cell lines transgenically expressing huHER2. Mice will be monitored after the tumour induction and the tumour mass will be measured. Administration of the cell cancer vaccine will be performed intraperitoneally. Harvesting and preparation of organs and serum will be carried out at the end of the experiment to proceed with analysis of the tumour and the tumour-specific immune response. Part of the research activity will be carried out under the supervision of Prof.ssa Anna Zaghini (DIMEVET).

L'assegnista si occuperà del lavoro di laboratorio richiesto per mantenere ed espandere le colonie murine di C57Bl/6 WT e BALB/c huHER2. Più nello specifico, si occuperà dell'allevamento, dell'accoppiamento, dello svezzamento, della marcatura e genotipizzazione dei nuovi nati. Saranno stabiliti modelli sottocutanei tumorali utilizzando diverse dosi di cellule cancerose singeniche esprimenti huHER2. I topi saranno monitorati dopo l'induzione tumorale per valutare e misurare lo sviluppo della massa. La somministrazione delle cellule tumorali vaccinali sarà fatta intraperitonealmente. Il prelievo e la preparazione degli organi e del siero alla fine dell'esperimento saranno eseguiti per analizzare il tumore e la risposta immunitaria tumore-specifica. Parte dell'attività di ricerca verrà svolta sotto la supervisione della Prof.ssa Anna Zaghini (DIMEVET).