**TITOLO:**

IMMUNOTOSSINE CONTENENTI PROTEINE VEGETALI PER LA TERAPIA SPERIMENTALE DI SARCOMI

**PROPONENTE:**

Dottoressa Letizia Polito

DIMES -Dipartimento di Medicina Specialistica, Diagnostica e sperimentale

Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

**OGGETTO DELLA RICERCA**

**Background**

Sarcomi: I sarcomi dei tessuti molli sono tumori mesenchimali rari e a prognosi severa che originano dalle strutture connettivali e muscolari[[1]](#endnote-1). Rappresentano circa l’1% delle neoplasie dell’adulto, con più di 50 diversi istotipi, classificati su base morfologica[[2]](#endnote-2),[[3]](#endnote-3). La complessità dell’approccio al paziente è pertanto orientata alla personalizzazione della cura. L’approccio terapeutico standard è rappresentato da resezione chirurgica, spesso con amputazione della porzione coinvolta. Radioterapia e chemioterapia hanno un ruolo ancillare alla chirurgia e possono essere previste sia in fase pre- che post-operatoria[[4]](#endnote-4). Tuttavia un numero molto elevato di pazienti va incontro a recidive e, tra gli operati, il 50% circa dei pazienti è destinato a manifestare metastasi polmonari[[5]](#endnote-5). Le limitate risposte osservate con la chemioterapia e con la radioterapia giustificano la ricerca di terapie alternative, come l’immunoterapia. L’immunoterapia con anticorpi o altri carrier molecolari ha dato finora risultati incoraggianti soprattutto nella terapia di tumori ematologici[[6]](#endnote-6), ma recentemente diversi trials clinici stanno avendo come target anche tumori solidi[[7]](#endnote-7). I tumori solidi, sia per la presenza di giunzioni intracellulari serrate sia per la scarsa vascolarizzazione, si sono dimostrati finora più difficilmente trattabili mediante immunoterapia con anticorpi.

Immunotossine: Gli anticorpi, e gli altri carrier molecolari, pur possedendo una elevata specificità nei confronti del recettore bersaglio, mancano di citotossicità specifica, ma questa può essere aumentata mediante coniugazione a molecole dotate di citotossicità, come tossine, enzimi, farmaci, etc., ottenendo così molecole ibride chiamate immunotossine, o immunoconiugati[[8]](#endnote-8).

Le immunotossine, in genere contenenti tossine vegetali o batteriche, sono state impiegate in numerosissimi studi preclinici e in diversi trial clinici, sia somministrate singolarmente che in associazione con chemioterapici convenzionali. Il settore in cui l’applicazione clinica delle immunotossine ha avuto maggiore successo è quello dei tumori ematologici, specialmente nei casi di malattia minima residua o di neoplasie refrattarie alle terapie convenzionali[[9]](#endnote-9),[[10]](#endnote-10).

RIP: Tra le tossine vegetali le più utilizzate per la costruzione di immunotossine sono le ribosome-inactivating proteins (RIP), proteine dotate di attività enzimatica polinucleotide:adenosina glicosidasica, mediante la quale sono in grado di staccare una o più adenine da differenti substrati nucleotidici, quali rRNA, RNA virali, DNA e poli(A). Queste proteine appartengono strutturalmente a due classi: RIP di tipo 1, a singola catena dotata di attività enzimatica, e RIP di tipo 2, costituite da una catena A ad attività enzimatica legata mediante un ponte disolfuro ad una catena B con attività lectinica, che conferisce loro la capacità di legarsi a recettori della superficie cellulare[[11]](#endnote-11). Alcune RIP di tipo 2 sono estremamente tossiche, la più conosciuta tra queste è la ricina[[12]](#endnote-12). Le RIP di tipo 1, mancando della catena B, sono molto meno tossiche, ma la loro tossicità può essere aumentata notevolmente se coniugate a una molecola che ne faciliti l’endocitosi.

Numerose ricerche scientifiche si stanno indirizzando con sempre maggiore attenzione allo studio delle cellule staminali tumorali per le loro implicazioni nei processi di metastatizzazione. In particolare, è stato ipotizzato che lo sviluppo del tumore così come la sua radio- e chemio-resistenza nonché lo sviluppo di metastasi, sia in gran parte dipendente dalla presenza nella massa neoplastica di diverse sottopopolazioni di cellule staminali tumorali [[13]](#endnote-13).

**Progetto**

La ricerca sarà volta alla costruzione di immunotossine specifiche per antigeni espressi da diversi sarcomi. In particolar modo, verranno selezionate le molecole più adeguate all’impiego come carrier e componente tossica, riservando particolare attenzione a stabilità, citotossicità e proprietà antigeniche.

L’efficacia antitumorale dei coniugati sarà valutata sia su linee cellulari bersaglio in colture bidimensionali (2D) o tridimensionali (3D) dette tumorsfere, mentre la citotossicità aspecifica verrà valutata su cellule non target. L’efficacia antitumorale sarà valutata dopo trattamento con singole immunotossine, con “cocktail” di immunotossine con differente specificità, ed eventualmente in combinazione con farmaci chemioterapici, scelti tra quelli utilizzati in terapia. Questi esperimenti permetteranno la selezione delle più efficaci immunotossine e delle migliori combinazioni sulla base dell’attività citotossica e forniranno indicazioni sulle condizioni terapeutiche ottimali.

L’effetto delle RIP verrà valutato sia su linee cellulari ben differenziate sia su blasti tumorali, allo scopo di cercare una eventuale correlazione tra il grado di differenziamento tumorale e la risposta al trattamento con RIP.

1. Yang J, Ren Z, Du X, Hao M, Zhou W. The role of mesenchymal stem/progenitor cells in sarcoma: update and dispute. Stem Cell Investig. 2014 Oct 27;1:18. [↑](#endnote-ref-1)
2. Fletcher CD, Bridge JA, Hogendoorn P, et al. eds. WHO Classification of Tumours of Soft Tissue and Bone. 1 ed. Lyon: IARC; 2013. [↑](#endnote-ref-2)
3. Comandone A, Boglione A and AIRTUM Working Group. Sarcomi dei tessuti molli in “I numeri del cancro in Italia”, 2018, Intermedia Editore, Brescia, Italy, pp. 191-198 [↑](#endnote-ref-3)
4. PDQ Adult Treatment Editorial Board. Adult Soft Tissue Sarcoma Treatment (PDQ®): Patient Version. 2019 Jul 10. PDQ Cancer Information Summaries [Internet]. Bethesda (MD): National Cancer Institute (US); 2002-. Available from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK65773/ PubMed PMID: 26389216. [↑](#endnote-ref-4)
5. In GK, Hu JS, Tseng WW. Treatment of advanced, metastatic soft tissue sarcoma: latest evidence and clinical considerations. Ther Adv Med Oncol. 2017 Aug;9(8):533-550. [↑](#endnote-ref-5)
6. Dillman RO. Cancer immunotherapy. Cancer Biother Radiopharm. 2011 Feb;26(1):1-64. doi: 10.1089/cbr.2010.0902. [↑](#endnote-ref-6)
7. https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=Sarcoma&term=immunotherapy&cntry=&state=&city=&dist= [↑](#endnote-ref-7)
8. Polito L, Djemil A, Bortolotti M. Plant Toxin-Based Immunotoxins for Cancer Therapy: A Short Overview. Biomedicines. 2016 Jun 1;4(2). pii: E12. doi: 10.3390/biomedicines4020012. [↑](#endnote-ref-8)
9. Bolognesi A, Polito L. Immunotoxins and other conjugates: pre-clinical studies. Mini Rev Med Chem. 2004 Jun;4(5):563-83. [↑](#endnote-ref-9)
10. Polito L, Bortolotti M, Pedrazzi M, Bolognesi A. Immunotoxins and other conjugates containing saporin-s6 for cancer therapy. Toxins (Basel). 2011 Jun;3(6):697-720. doi: 10.3390/toxins3060697. [↑](#endnote-ref-10)
11. Bolognesi A, Bortolotti M, Maiello S, Battelli MG, Polito L. Ribosome-Inactivating Proteins from Plants: A Historical Overview. Molecules. 2016 Nov 26;21(12). pii: E1627. [↑](#endnote-ref-11)
12. . Polito L, Bortolotti M, Battelli MG, Calafato G, Bolognesi A. Ricin: An Ancient Story for a Timeless Plant Toxin. Toxins (Basel). 2019 Jun 6;11(6). pii: E324. doi: 10.3390/toxins11060324. [↑](#endnote-ref-12)
13. Najafi M, Mortezaee K, Majidpoor J. Cancer stem cell (CSC) resistance drivers. Life Sci. 2019 Aug 17;234:116781. doi: 10.1016/j.lfs.2019.116781. [↑](#endnote-ref-13)