*Modulo richiesta borsa*

|  |  |
| --- | --- |
| **TUTOR** | **Prof.ssa Francesca Fornari** |

|  |
| --- |
| **TITOLO DEL PROGETTO** |
| **Studio del ruolo dell’asse miR-30e-3p/CXCL3 nella risposta all’immunoterapia**  |
| **DESCRIZIONE DEL PROGETTO**  |  |
| **Stato dell’Arte e Razionale**L’epatocarcinoma (HCC) rappresenta il principale tumore primario del fegato e la terza causa di mortalità per tumore nel mondo. L’HCC insorge nell’80% dei casi su fegato cirrotico ed i principali fattori di rischio sono le infezioni causate dai virus dell’epatite B e C (HBV e HCV), l’abuso di alcool e la steatosi epatica associata sindrome metabolica (MAFLD). A causa della diffusione sempre maggiore dell’obesità a livello globale, la MAFLD rappresenta il fattore eziologico in più rapida crescita nei paesi sviluppati e in via di sviluppo. L’elevata mortalità di questo tumore è associata a diversi fattori tra cui: una diagnosi spesso tardiva, la presenza di recidiva epatica nel 70% dei casi sottoposti a chirurgia e la mancanza di biomarcatori circolanti in grado di stratificare i pazienti verso la migliore strategia terapeutica. L’avvento dell’immunoterapia ha rappresentato un punto di svolta per la gestione di pazienti con HCC in stadio avanzato, portando ad una risposta terapeutica prolungata nel tempo in un maggior numero di pazienti. I pazienti non elegibili al trattamento con gli inibitori dei checkpoint immunitari sono attualmente sottoposti al trattamento con i farmaci a bersaglio molecolare sorafenib e lenvatinib. Ad oggi, non esistono biomarcatori circolanti in grado di indirizzare i pazienti verso la migliore opzione terapeutica o sequenza di trattamenti più efficace o di individuare precocemente l’insorgenza di resistenza al trattamento. La decisione si basa unicamente sul profilo clinico, radiologico e biochimico del paziente. Nonostante diversi studi in modelli sperimentali e in coorti di pazienti con HCC abbiano riportato la minor efficacia dell’immunoterapia in pazienti con HCC associato a sindrome metabolica piuttosto che a eziologia virale, attualmente il tipo di eziologia non rappresenta un parametro inserito all’interno del processo decisionale riguardante la strategia terapeutica. I microRNA (miRNA) sono piccoli RNA endogeni la cui espressione aberrante è stata riscontrata in numerose patologie, inclusi i tumori. Il coinvolgimento di miRNA HCC-specifici nella progressione tumorale e nella resistenza farmacologica è stato ampiamente dimostrato dal nostro gruppo di ricerca. Il miR-30e-3p è considerato un gene soppressore del tumore in quanto sotto-espresso nel tessuto tumorale, è coinvolto nella progressione del tumore tramite meccanismi che dipendono dallo stato mutazionale di TP53 ed è coinvolto nella risposta al sorafenib. In particolare, abbiamo precedentemente dimostrato che, se analizzato in corso di trattamento, il miR-30e-3p circolante è in grado di predire precocemente l’insorgenza di resistenza al trattamento.La chemochina CXCL3 è secreta sia dalle cellule tumorali che da diverse cellule del sistema immunitario, tra cui i macrofagi, ed è coinvolta nel reclutamento dei neutrofili nel microambiente tumorale grazie all’interazione con il recettore CXCR2. L’inibizione di questo recettore, in modelli in vivo di HCC, ha mostrato un effetto sinergico con inibitori dei checkpoint immunitari. Il nostro gruppo di ricerca ha dimostrato che CXCL3 è un gene bersaglio del miR-30e-3p.In questo contesto, il presente progetto si pone come obiettivi la caratterizzazione dell’asse miR-30e-3p/CXCL3 nella regolazione del microambiente tumorale e la valutazione di miR-30e-3p e CXCL3 come candidati predittivi della risposta all’immunoterapia.**Obiettivi**Gli obiettivi specifici di questo progetto sono:1. Caratterizzare l’asse miR-30e-3p/CXCL3 attraverso lo studio dei meccanismi di regolazione trascrizionale della chemochina CXCL3.
2. Valutazione dell’interazione tra cellule tumorali e cellule del sistema immunitario.
3. Valutazione di alcuni marcatori immunofenotipici in una coorte di pazienti con HCC associato a diversa eziologia e in un modello animale di HCC su topo.
4. Valutazione del valore predittivo di miR-30e-3p e CXCL3 come biomarcatori circolanti di risposta all’immunoterapia.

**Risultati attesi**Questo progetto di ricerca consentirà di valutare il ruolo dell’asse miR-30e-3p/CXCL3 nella modulazione del microambiente tumorale sia tramite saggi di co-cultura che analisi *ex vivo* in pazienti e modelli animali con HCC. Permetterà inoltre di identificare i meccanismi trascrizionali che portano all’attivazione di CXCL3 e di identificare il sottotipo cellulare maggiormente coinvolto nella secrezione di questa chemochina. Infine, consentirà di valutare il valore predittivo di miR-30e-3p e CXCL3 analizzati in prelievi seriali provenienti da pazienti con HCC sottoposti a immunoterapia. |
| **DESCRIZIONE DELLE ATTIVITÀ DEL BORSISTA**  |  |
| L’assegnatario/a di borsa di ricerca si occuperà di caratterizzare l’asse miR-30e-3p/CXCL3 tramite saggi in vitro, saggi di co-culture e caratterizzazione dell’espressione espressione genica e del fenotipo immunitario. Nello specifico verranno studiati tramite Real-Time PCR i possibili meccanismi di attivazione trascrizionale del gene CXCL3 in seguito a stimolazione con chemochine. Verrà valutata la produzione di CXCL3 da parte di due linee di monociti/macrofagi (THP-1 e KG-1) sia in monocoltura che in co-coltura con linee cellulari di HCC, l’analisi avverrà tramite Real-Time PCR, Western blot, saggi ELISA e citofluorimetro. Verranno utilizzate linee cellulari di HCC in cui è stato silenziato o sovra-espresso il miR-30e-3p. Inoltre, verrà valutato il fenotipo M1 o M2 dei macrofagi in seguito a differenziamento mediante trattamento con esteri del forbolo. L’asse miR-30e-3p/CXCL3 e marcatori immunofenotipici verranno valutati in una coorte di pazienti con HCC con diversa eziologia (es. virali verso metabolici) e in un modello di HCC ortotopico su topo. Infine, verrà valutato il potenziale di miR-30e-3p e CXCL3 come possibili marcatori circolanti di risposta all’immunoterapia. Verranno eseguiti saggi ELISA, Real-Time PCR e digital droplet PCR nel siero di pazienti con epatocarcinoma sottoposti a trattamenti sistemici con immunoterapia.Le attività verranno svolte presso il centro di ricerca universitario CRBA (<https://centri.unibo.it/crba/it>) che rappresenta un ambiente multidisciplinare e con tecnologie all’avanguardia particolarmente adatto per la formazione di giovani ricercatori. Il borsista sarà supervisionato/a dal tutor e potrà collaborare con altri dottorandi del gruppo di ricerca. |