



ALMA MATER STUDIORUM - UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

Modulo richiesta borsa

TUTOR	Prof.ssa Francesca Fornari
--------------	-----------------------------------

TITOLO DEL PROGETTO	
Identificazione di biomarcatori circolanti di risposta all'immunoterapia e a trattamenti sistemici in pazienti con epatocarcinoma e colangiocarcinoma	
DESCRIZIONE DEL PROGETTO	
Stato dell'Arte e Razionale <p>L'epatocarcinoma (HCC) e il colangiocarcinoma (CC) rappresentano i principali tumori primari del fegato. In particolare, l'HCC rappresenta la terza causa di mortalità per tumore nel mondo, mentre il CC è un tumore raro ma a prognosi particolarmente infausta. 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 questi tumori 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. Per quanto riguarda i pazienti con CC, il trattamento di prima linea risulta essere la chemioterapia, ma negli ultimi anni sono stati approvati sia farmaci a bersaglio molecolare (IDH1/IDH2 inibitori, FGFR2 inibitore) che l'immunoterapia in combinazione con la chemioterapia.</p> <p>Ad oggi, non esistono biomarcatori circolanti in grado di indirizzare i pazienti con HCC o CC 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. Per il CC risulta di fondamentale importanza l'identificazione di mutazioni driver per l'identificazione di sottogruppi di pazienti che possono beneficiare della 'targeted therapy'.</p> <p>I microRNA (miRNA) sono piccoli RNA endogeni la cui espressione aberrante è coinvolta nella patogenesi di diversi tipi di tumore. Il coinvolgimento di miRNA tumore-specifici nella progressione tumorale e nella resistenza farmacologica è stato ampiamente dimostrato dal nostro gruppo di ricerca. Inoltre, abbiamo descritto il promettente ruolo di diversi microRNA come biomarcatori circolanti di risposta al sorafenib e al lenvatinib in modelli preclinici di HCC e in coorti di pazienti in stadio avanzato.</p>	



ALMA MATER STUDIORUM - UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

In questo contesto, il presente progetto si pone come obiettivi l'identificazione di nuovi miRNA circolanti nella risposta all'immunoterapia in pazienti con HCC tramite un'analisi di 'discovery' mediante RNA sequencing e la validazione in due coorti di pazienti con HCC trattati con immunoterapia di cui abbiamo a disposizione prelievi raccolti a diversi tempi rispetto all'inizio del trattamento. Valutazione del valore predittivo di alcuni miR circolanti nella risposta alla terapia in pazienti con CC sottoposti a trattamenti sistemici. I miRNA CC-specifici verranno selezionati sulla base di un'analisi approfondita della letteratura scientifica.

Obiettivi

Gli obiettivi specifici di questo progetto sono:

- 1) Analisi di discovery di biomarcatori circolanti di risposta all'immunoterapia mediante RNA sequencing in due coorti di pazienti con HCC in stadio avanzato (analisi pretrattamento e analisi in corso di follow-up a tre mesi dal trattamento)
- 2) Analisi di validazione dei più promettenti miRNA circolanti identificati nella fase di discovery nelle due coorti di pazienti con HCC sottoposti a immunoterapia
- 3) Analisi di miRNA circolanti CC-specifici in risposta ai trattamenti sistemici
- 4) Analisi di miR circolanti identificati nelle coorti di pazienti in linee cellulari di HCC e cellule del sistema immunitario (monociti e linfociti) al fine di pianificare esperimenti di co-cultura per studiare il crosstalk tra tumore e microambiente tumorale

Risultati attesi

Questo progetto di ricerca consentirà di identificare nuovi biomarcatori circolanti di risposta all'immunoterapia in pazienti con epatocarcinoma e di risposta alle terapie sistemiche in pazienti con colangiocarcinoma. La presenza di prelievi seriali consentirà di identificare sia biomarcatori circolanti che potrebbero essere utili per la stratificazione dei pazienti con HCC alle diverse terapie di prima linea (immunoterapia e terapia a bersaglio molecolare) che biomarcatori di risposta precoce o escape del tumore che consentiranno ai pazienti di passare precocemente a trattamenti di seconda linea. Per i pazienti con CC, ci attendiamo di confermare i dati di letteratura e identificare biomarcatori circolanti per la stratificazione dei pazienti e l'individuazione precoce di resistenza. Infine, è auspicabile l'identificazione di meccanismi di crosstalk tra diversi tipi cellulari per comprendere i meccanismi coinvolti nella modulazione del microambiente tumorale.

DESCRIZIONE DELLE ATTIVITÀ DEL BORSISTA

L'assegnatario/a di borsa di ricerca si occuperà di preparare i campioni di RNA estratti da campioni di siero provenienti dalle due coorti di pazienti con HCC per il miRNA sequencing. Inoltre, estrarrà gli RNA da siero sia da pazienti con HCC che pazienti con CC per la analisi di validazione dei dati provenienti dalla fase di discovery (HCC) o dalla letteratura (CC). Le analisi di validazione verranno eseguite tramite Real-Time PCR e digital PCR. I miRNA più promettenti verranno analizzati in una coorte di pazienti chirurgici per indagare il ruolo di questi biomarcatori nell'aggressività del tumore. Nelle linee cellulari sia di HCC che del sistema immunitario verranno analizzati i livelli intracellulari ed extracellulari (sierici ed esosomiali) dei miRNA più promettenti al fine di ideare esperimenti di co-cultura per analizzare l'influenza delle cellule tumorali sulla modificazione del fenotipo delle cellule del sistema immunitario. Ad esempio, verrà valutato il fenotipo M1 o M2 dei macrofagi in seguito a differenziamento mediante trattamento con esteri del forbole.



ALMA MATER STUDIORUM - UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

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.