



**SARDEGNA
RICERCHE**



**Universita' degli Studi
di Cagliari**



**Dipartimento di
Scienze Biomediche**

IBERNAT-NBL

“ Identificazione di bersagli molecolari per lo sviluppo di nuove strategie terapeutiche per il neuroblastoma ”

Progetto Cluster “Top-Down” finanziato da Sardegna Ricerche

con fondi *POR FESR 2014/2020*

ASSE PRIORITARIO I “RICERCA SCIENTIFICA, SVILUPPO TECNOLOGICO E INNOVAZIONE

Stato di avanzamento del progetto: 1° semestre



UNIONE EUROPEA

Fondo europeo di sviluppo regionale



REPUBBLICA ITALIANA



**REGIONE AUTÒNOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA**





**SARDEGNA
RICERCHE**



**Universita' degli Studi
di Cagliari**



**Dipartimento di
Scienze Biomediche**

Imprese che partecipano al Cluster

Prigen (Pula, CA)

Biomedical Research (Pula, Ca)

be biotech (CA)

Technical Project Service (CA)

Microbiol (Macchiareddu, CA)

Kinetika Sardegna (Quartu S. Elena, CA)

Ardea (CA)



UNIONE EUROPEA

Fondo europeo di sviluppo regionale



REPUBBLICA ITALIANA



**REGIONE AUTÒNOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA**





**SARDEGNA
RICERCHE**



**Universita' degli Studi
di Cagliari**



**Dipartimento di
Scienze Biomediche**

PERCHE' STUDIARE IL NEUROBLASTOMA ?

- 1) e' il tumore solido extracranico piu' frequente in eta' pediatrica ed e' la prima causa di morte per malattia in eta' prescolare;**
- 2) la sopravvivenza a 5 anni delle forme ad alto rischio e' del 40-50 % e questa percentuale scende al 20 % nel caso di recidive o resistenza alla terapia;**
- 3) circa il 50-60 % dei pazienti con forme ad alto rischio sottoposti a terapia tradizionale presentano una recidiva per la quale non vi sono opzioni terapeutiche curative;**
- 4) vi e' quindi la necessita' di sviluppare nuove strategie terapeutiche dotate di maggiore efficacia e selettivita' nelle forme ricorrenti o refrattarie di neuroblastoma.**



UNIONE EUROPEA



REGIONE AUTONOMA DE SARDIGNA





**SARDEGNA
RICERCHE**



**Universita' degli Studi
di Cagliari**



**Dipartimento di
Scienze Biomediche**

Obiettivo del progetto

produrre a livello preclinico le basi razionali per lo sviluppo di un nuovo approccio farmacologico del neuroblastoma basato sull' induzione di bersagli molecolari utilizzabili come biomarcatori ed aggredibili con anticorpi coniugati a farmaci citotossici (immunotossine)



UNIONE EUROPEA

Fondo europeo di sviluppo regionale



REPUBBLICA ITALIANA



**REGIONE AUTÒNOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA**





**SARDEGNA
RICERCHE**



**Universita' degli Studi
di Cagliari**



**Dipartimento di
Scienze Biomediche**

Articolazione del progetto

:

a) indurre la sovra-espressione di bersagli molecolari specifici nelle cellule di neuroblastoma;

b) studiare una immunotossina diretta verso un bersaglio molecolare specifico di superficie e capace di indurre un effetto citotossico selettivo sulle cellule di neuroblastoma.



UNIONE EUROPEA

Fondo europeo di sviluppo regionale



REPUBBLICA ITALIANA



**REGIONE AUTÒNOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA**





**SARDEGNA
RICERCHE**

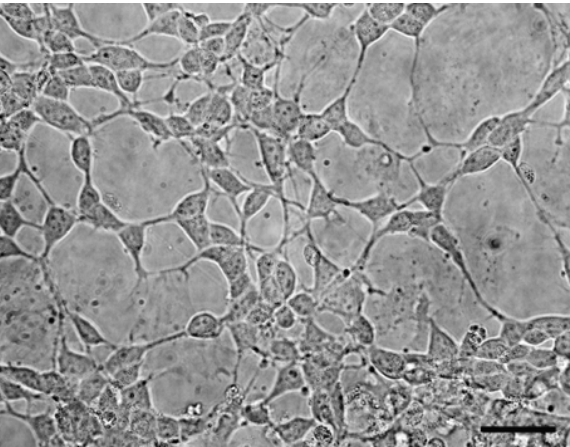


**Universita' degli Studi
di Cagliari**



**Dipartimento di
Scienze Biomediche**

Modelli cellulari di neuroblastoma umano utilizzati



Linea cellulare N-MYC status mut. Alk

LAN-1	ampl	F1174L
Kelly	ampl	F1174L
BE(2C)	ampl	
IMR-32	ampl	
NB1	ampl	ampl.
SH-SY5Y	no ampl.	F1174L



UNIONE EUROPEA

Fondo europeo di sviluppo regionale



REPUBBLICA ITALIANA



**REGIONE AUTÒNOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA**





**SARDEGNA
RICERCHE**



**Universita' degli Studi
di Cagliari**



**Dipartimento di
Scienze Biomediche**

Attività' svolte nel 1° semestre

Attività' 1: *caratterizzazione della citotossicità prodotta dall'interferone- β (IFN- β) nelle cellule di neuroblastoma umano*

Attività' 2: *studio dell'espressione di bersagli molecolari indotta da trattamenti farmacologici*



UNIONE EUROPEA

Fondo europeo di sviluppo regionale



REPUBBLICA ITALIANA



**REGIONE AUTÒNOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA**





**SARDEGNA
RICERCHE**



**Universita' degli Studi
di Cagliari**



**Dipartimento di
Scienze Biomediche**

Attività' svolte nel 1° semestre

Risultati

:

Attività' 1: Lo studio ha dimostrato che la morte per apoptosi delle cellule di neuroblastoma indotta dall' IFN- β si associa ad una marcata riduzione nell' espressione del recettore tirosin-chinasi ALK (anaplastic lymphoma kinase), un fattore che predispone allo sviluppo di neuroblastoma. Risultati simili sono stati ottenuti con altri due tipi di IFN ricombinanti umani, IFN- α 2b ed IFN- γ .



UNIONE EUROPEA

Fondo europeo di sviluppo regionale



REPUBBLICA ITALIANA



**REGIONE AUTÒNOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA**





**SARDEGNA
RICERCHE**



**Universita' degli Studi
di Cagliari**



**Dipartimento di
Scienze Biomediche**

Attivita' svolte nel 1° semestre

Conclusioni

:

Attivita' 1: Questi risultati suggeriscono che l'impiego di agenti capaci di ridurre l'espressione di ALK, come gli IFN, puo' costituire un'ulteriore opzione terapeutica nelle forme di tumore resistenti ad inibitori diretti dell'attivita' tirosin-chinasica del recettore.



UNIONE EUROPEA

Fondo europeo di sviluppo regionale



REPUBBLICA ITALIANA



**REGIONE AUTONOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA**





**SARDEGNA
RICERCHE**

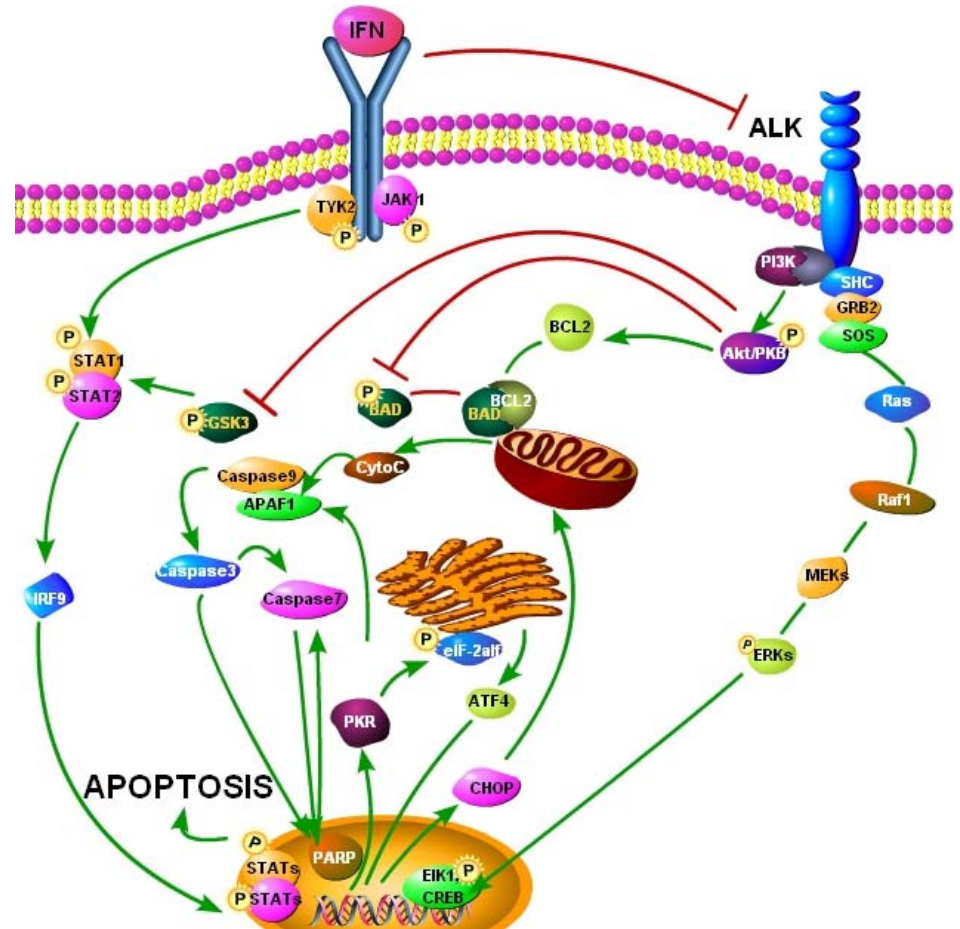


**Università' degli Studi
di Cagliari**



**Dipartimento di
Scienze Biomediche**

**Meccanismi molecolari coinvolti
nella morte delle cellule di
neuroblastoma indotta da IFN- β**



UNIONE EUROPEA



REGIONE AUTONOMA DE SARDIGNA





**SARDEGNA
RICERCHE**



**Universita' degli Studi
di Cagliari**



**Dipartimento di
Scienze Biomediche**

Attivita' svolte nel 1° semestre

Risultati

Attivita' 2: i risultati ottenuti in diverse linee cellulari di neuroblastoma hanno dimostrato che l'esposizione prolungata a farmaci inibitori delle deacetilasi degli istoni (HDAC), come l'acido valproico, la tricostatina A e l'entinostat, causa un marcato aumento nell'espressione di p75NTR, un recettore delle neurotrofine mature e delle pro-neurotrofine. Questo recettore appartiene alla famiglia dei "death receptors", e la sua sovraespressione e' nota causare morte cellulare.



UNIONE EUROPEA

Fondo europeo di sviluppo regionale



REPUBBLICA ITALIANA



**REGIONE AUTONOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA**





**SARDEGNA
RICERCHE**



**Universita' degli Studi
di Cagliari**



**Dipartimento di
Scienze Biomediche**

Attivita' svolte nel 1° semestre

Conclusioni

:

Attivita' 2: I risultati suggeriscono che l'aumento di p75NTR possa contribuire all' attivita' anti-neuroblastoma degli inibitori di HDAC. Inoltre, l'aumento di p75NTR nella membrana cellulare puo' costituire una condizione favorevole per l'attacco da parte di immunotossine.



UNIONE EUROPEA

Fondo europeo di sviluppo regionale



REPUBBLICA ITALIANA



**REGIONE AUTÒNOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA**





**SARDEGNA
RICERCHE**



**Universita' degli Studi
di Cagliari**



**Dipartimento di
Scienze Biomediche**

**Attività svolte nel 1° semestre
in collaborazione con le Imprese del Cluster**

- 1) messa a punto ed implementazione di metodiche per la formulazione di principi attivi al fine di ottimizzarne la biodisponibilità e tollerabilità (Prigen);**
- 2) valutazione dell'analisi di marcatori molecolari in modelli cellulari di carcinoma della prostata e melanoma (be.biotech);**
- 3) modalità di studio degli esosomi come possibili marcatori della risposta del neuroblastoma al trattamento farmacologico (TE.PRO.Service);**
- 4) supporto tecnico-scientifico per il possibile sviluppo di terreni di coltura per cellule di mammifero (Microbiol);**
- 5) scelta dei modelli animali per lo sviluppo di xenotrapianti (Biomedical Research).**



UNIONE EUROPEA

Fondo europeo di sviluppo regionale



REPUBBLICA ITALIANA



**REGIONE AUTONOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA**





**SARDEGNA
RICERCHE**



**Università' degli Studi
di Cagliari**



**Dipartimento di
Scienze Biomediche**

Divulgazione dei risultati

Partecipazione all' Evento UniCa & Imprese organizzato dall' Università' degli Studi di Cagliari in data 22 Giugno 2018 presso la sede CREA UniCa



UNIONE EUROPEA

Fondo europeo di sviluppo regionale



REPUBBLICA ITALIANA



**REGIONE AUTÒNOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA**





**SARDEGNA
RICERCHE**



**Università' degli Studi
di Cagliari**



**Dipartimento di
Scienze Biomediche**

Divulgazione dei risultati

Comunicazione al Congresso della
Society for Neuroscience,
Sessione: Neuro-Oncology,
San Diego, CA, USA,
4 novembre 2018

2/13/2018 Histone deacetylase inhibitors down-regulate anaplastic lymphoma kinase (ALK) and induce apoptosis in human neuroblastoma cells



(<https://www.abstractsonline.com/ppsl/#!/4649>)

Session 128 - Neuro-Oncology

**128.14 / M11 - Histone deacetylase inhibitors
down-regulate anaplastic lymphoma kinase
(ALK) and induce apoptosis in human
neuroblastoma cells**

Q Add To Itinerary

November 4, 2018, 9:00 AM - 10:00 AM

SDCC Halls B-H

Presenter at Poster

Sun, Nov 4, 2018, 9:00 AM -
10:00 AM

Grant Support

Progetto IBERNET-NEL,
finanziato sul POR
Sardegna 2014-2020

Authors

*S. DEDONI, M. C. OLIANAS, P. ONALI;
Univ. of Cagliari, Dept Biomed. Sci., Cagliari, Italy

Disclosures

S. Dedoni: None, M.C. Olianias: None, P. Onali: None.

Abstract

Anaplastic lymphoma kinase (ALK) is a tyrosine kinase receptor that has been identified as one of the relevant predisposition genes in neuroblastoma. Full-length ALK point mutations in the kinase domain, most frequently occurring at positions F1174 and R1275, are associated with constitutive kinase activity and oncogenic potential. Moreover, when combined with MYCN amplification, the F1174L mutation has been found to confer higher tumor aggressiveness. Histone deacetylase inhibitors (HDACi) are key regulators of epigenetic mechanisms and are emerging as a new class of anti-cancer agents causing cell cycle arrest and death in tumoral cells. In the present study we examined the effects of different HDACi on the expression of ALK and cell survival in different neuroblastoma cell lines. We found that in human neuroblastoma SH-SY5Y cells, a cell line containing the F1174L ALK mutation, prolonged exposure (24-72hrs) to MS-275, a class I HDACi, caused a concentration dependent suppression of ALK protein levels. Exposure to MS-275 also induced a marked impairment of cell survival causing apoptosis as demonstrated by the increase of caspase activation and of poly(ADP ribose) polymerase cleavage. Time course experiments indicated that the ALK down-regulation preceded the onset of apoptosis. MS-275 induced similar effects on ALK expression and cell survival in the neuroblastoma cell lines LAN-1 and Kelly, which contain the F1174L ALK mutation and MYCN-amplification. Other HDACi, such as romidepsin, ichthastatin A, MC1568 and tubacin were also effective in inhibiting ALK expression and causing apoptotic cell death in the neuroblastoma cell lines investigated, thus supporting the involvement of an epigenetic mechanism. The present study suggests that down-regulation of ALK may constitute a critical event which contributes to the pro-apoptotic action of HDACi in neuroblastoma cells bearing or not MYCN amplification.

Abstract Citation



UNIONE EUROPEA

Fondo europeo di sviluppo regionale



REPUBBLICA ITALIANA



REGIONE AUTONOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA

