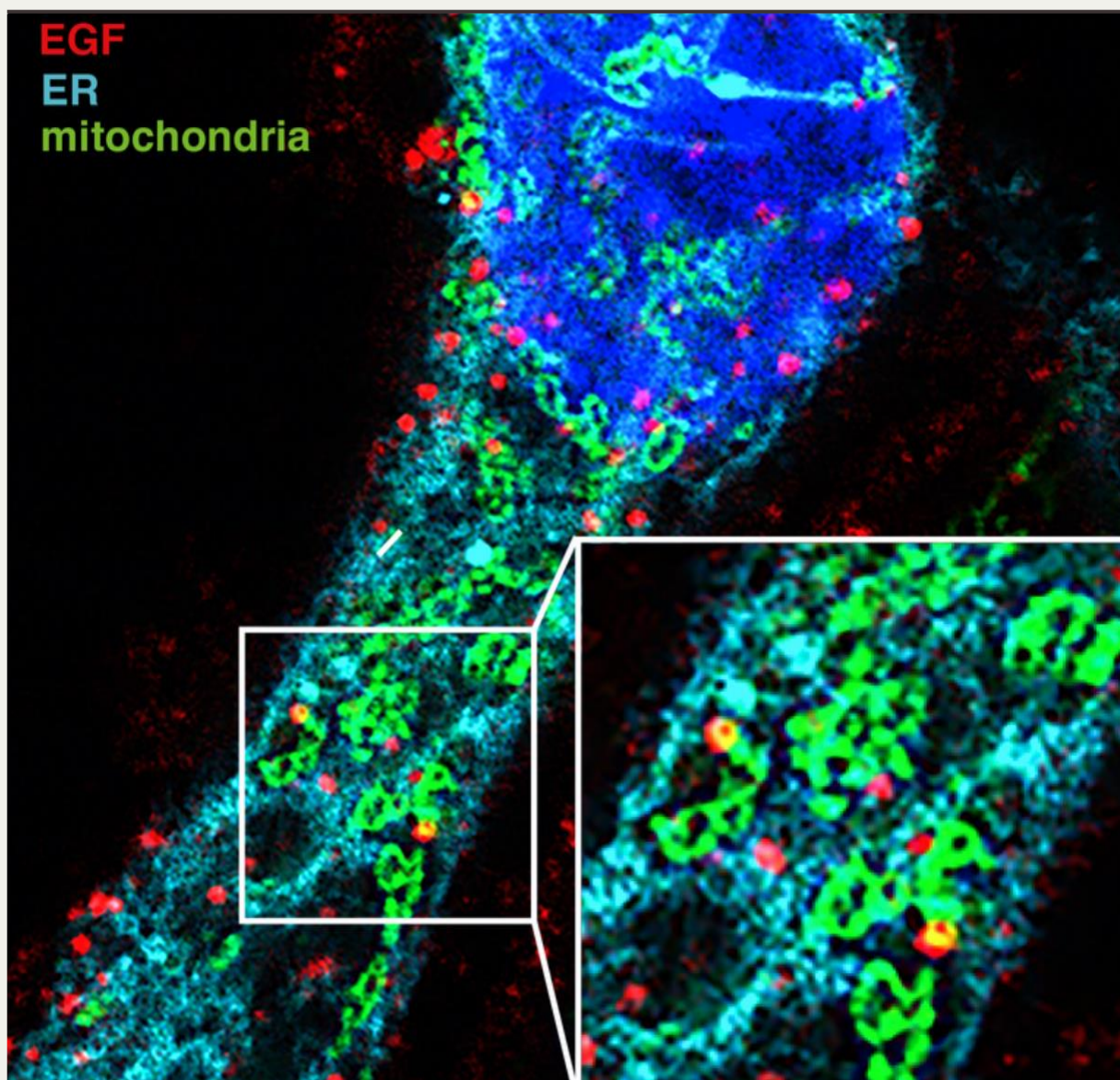


IEO RESEARCH NEWSLETTER

n. 2 February 2024



Cover image by Sara Sigmund, Deborah Salvi Mesa and Giorgia Miloro
Figure legend on the last page

IEO RESEARCH NEWSLETTER

n.2 – February 2024

WHAT'S NEW IN SCIENCE?

 L'attività antitumorale della microglia limita la progressione delle metastasi cerebrali.

pag 5

 Microglia anti-tumor activity counters brain metastases.

page 50

 I meccanismi cellulari che regolano la dormienza delle cellule tumorali e la recidiva.

pag 7

 Cell mechanisms regulating cancer cell dormancy and tumor recurrence.

page 52

WHAT'S NEW FROM IEO RESEARCHERS?

 Ignorando gli stress esterni, le cellule tumorali sopravvivono nelle condizioni ostili del microambiente tumorale e promuovono l'evoluzione del tumore.

pag 9

 By ignoring external stress, cancer cells survive in the hostile tumor microenvironment and promote cancer evolution.

page 54

 Ugo Cavallaro vince un finanziamento della fondazione OCRA per studiare i meccanismi molecolari alla base della risposta alla terapia nelle pazienti con tumore ovarico.

pag 11

 Ugo Cavallaro wins a grant from the OCRA foundation to investigate the molecular mechanisms underlying ovarian cancer patient response to therapy.

page 56

 L'infezione da parte del papillomavirus (HPV) influenza la sensibilità alla chemioterapia delle cellule del tumore testa-collo, interferendo con l'autofagia.

pag 13

 Papillomavirus (HPV) infection affects sensitivity to chemotherapy of head and neck cancer cells, by interfering with autophagy.

page 58

 **Le mutazioni di p53 alterano profondamente il metabolismo delle cellule tumorali, influenzando la crescita del tumore.**

pag 15

 **Mutations of p53 induce a deep metabolic reprogramming of cancer cells that sustains cancer growth.**

page 60

 **Machine learning in microbiologia: come usarlo?**

pag 17

 **Machine learning in microbiology: How to use it?**

page 62

 **I numerosi aspetti dell'evoluzione tumorale.**

pag 21

 **The multiple aspects of cancer evolution.**

page 65

 **I pazienti pediatrici con neuroblastoma addominale hanno una diversa composizione del microbiota intestinale.**

pag 23

 **A different gut microbiome composition in pediatric patients with neuroblastoma in the abdomen.**

page 67

 **Uno "score" per quantificare l'associazione tra eventi immunitari avversi e trattamento immunoterapico.**

pag 26

 **A score to evaluate likelihood of immunotherapy-related adverse events.**

page 70

 **Studiare l'interazione tra il virus responsabile della covid19 (SARS-CoV2) e le cellule umane per trovare i punti deboli del virus.**

pag 28

 **Investigating the interaction between covid19-inducing virus (SARS-CoV2) and human cells to find virus vulnerabilities.**

page 72

 **Pier Paolo di Fiore vince nella categoria Scienze matematiche, fisiche e naturali del Premio Nazionale di Divulgazione scientifica Giancarlo Dosi.**

pag 30

 **Pier Paolo Di Fiore wins in the "mathematical, physical and natural sciences" category of the "Giancarlo Dosi" national award for scientific communication.**

page 74

 **Non perdere il PhD meeting ABCD-SIBBM di quest'anno!**

pag 31

 **Sign up for this year joint ABCD-SIBBM PhD meeting!**

page 75

 **Corso “Minimally-invasive treatments of the thyroid & save your thyroid”.**

pag 32

 **“Minimally-invasive treatments of the thyroid & save your thyroid” course 2024.**

page 76

 **Giuseppe Curigliano e Giuseppe Viale fra gli “Highly Cited Researchers 2023”.**

pag 33

 **Giuseppe Curigliano and Giuseppe Viale among the “Highly Cited Researchers 2023”.**

page 77

 **Premio ‘Ambasciatore della città di Milano’ a Curigliano.**

pag 34

 **“Milan Ambassador” Award to Giuseppe Curigliano.**

page 78

 **Giovanni Aletti nuovo Associate Editor dell’International Journal of Gynecological Cancer.**

pag 35

 **Giovanni Aletti is the new Associate Editor of the International Journal of Gynecological Cancer.**

page 79

 **Grazie ad un finanziamento del Ministero della Salute, una rete italiana per sostenere il trasferimento tecnologico dei risultati della ricerca nel settore scienze della vita.**

pag 36

 **Funded by the Italian Ministry of Health, an Italian network to support the technology transfer of research results in life science.**

page 80

 **Inaugurazione dell’IEO Proton Center – il centro di proton-terapia dello IEO.**

pag 38

 **Opening of IEO Proton Center.**

page 81

 **Agenas (Agenzia nazionale per i servizi sanitari regionali) e Sics (Società italiana di Comunicazione Scientifica e Sanitaria) premiano il nostro Istituto per l’innovazione in Sanità digitale.**

pag 39

 **Innovation in digital health – IEO awarded by Agenas (*Agenzia nazionale per i servizi sanitari regionali*) and Sics (*Società italiana di Comunicazione Scientifica e Sanitaria*).**

page 82

 **Grazie all’investimento di un partner industriale, il nuovo trattamento immunoterapico per la T-ALL -sviluppato attraverso la piattaforma IEO iRASP- entra in una nuova fase di sviluppo preclinico.**

pag 41

 **Thanks to the investment of an industrial partner, the new immunotherapeutic for T-ALL treatment -developed through the IEO iRASP platform- enters a new phase of preclinical development.**

page 83

 **Clinical Trial Office: 1° posto nella categoria Health Literacy al concorso “Patient Engagement Award”.**

pag 43

 **Clinical trial office: 1st ranked in the Health Literacy category at the “Patient Engagement Award” contest.**

page 85

 **Premio Unamsi per la Medicina 2023.**

pag 45

 **Unamsi award 2023.**

page 87

 **Allo IEO un nuovo “pace-maker” contro il dolore.**

pag 46

 **At IEO a new “pacemaker” against pain.**

page 88

IEO MEMBERS - LET’S GET TO KNOW THEM BETTER

This month Alice Barbaglio (IEO Grant office), Mirko Doni (Research Assistant, Chiocca Lab), Claudia Iavarone (Technology Transfer Office), Simona Rodighiero (Head of the IEO Imaging Unit), Sabrina Tamburini (Group Scientist, Segata Lab), Alessandro Verrecchia (Senior Technician, Amati Lab).

pag 47 - page 89

THE BRIEFING

A glance through recent papers from IEO Researchers, and from the whole scientific community.

page 92

WE WELCOME...

page 104

What's new in science?

L'attività antitumorale della microglia limita la progressione delle metastasi cerebrali.

Nel cervello, i linfociti T e le cellule microgliali interagiscono per limitare la progressione delle metastasi: stimolata dalle cellule tumorali, la microglia attiva una risposta infiammatoria; il successivo reclutamento dei linfociti T all'interno della massa tumorale induce la piena attivazione delle cellule microgliali e la loro attività anti-tumorale.

Circa il 15-30% delle pazienti con tumore al seno in stadio avanzato presenta masse metastatiche nel cervello. Mentre la rimozione dei macrofagi associati al tumore (TAM) determina un'aumentata progressione tumorale (indicando un ruolo pro-tumorale dei TAM), il ruolo delle cellule microgliali –che rappresentano la maggioranza delle cellule immunitarie del cervello–, e di conseguenza il loro potenziale come strumento di immunoterapia, è attualmente sconosciuto.

Scoperta principale. In un articolo recentemente pubblicato sulla rivista *Nature Cell Biology*, gli autori dimostrano l'effetto anti-tumorale della microglia che, sostenendo l'attività dei linfociti T e NK, è in grado di limitare la progressione delle metastasi cerebrali. I linfociti T a loro volta promuovono l'attività della microglia, inducendo la piena attivazione delle cellule microgliali e la loro attività anti-tumorale.

Risultati. Analizzando (tramite RNAseq su singola cellula), in modelli preclinici, l'espressione genica delle cellule immunitarie all'interno delle metastasi nel cervello (ottenute tramite iniezione nel sangue di cellule di tumore al seno marcate con GFP), gli autori hanno identificato una specifica sottopopolazione microgliale presente quasi esclusivamente nel cervello metastatico. Il profilo di espressione genica di queste cellule microgliali associate alle metastasi era

“la rimozione dei macrofagi associati al tumore determina un'aumentata progressione tumorale, indicando un ruolo pro-tumorale di queste cellule”

piuttosto differente dalla microglia di controllo; mostrava infatti una up-regolazione di diversi pathway cellulari tipici della risposta pro-infiammatoria (come “il pathway secretorio” –PS–, con la produzione di citochine, “il pathway associato al processamento e presentazione dell'antigene” –AP– e il pathway di “risposta ad interferone” –IFN).

In modelli murini geneticamente modificati (ingegnerizzati tramite la rimozione del “FIRE element”, un enhancer nel locus *Csf1r*), privi di cellule microgliali (ma che conservavano macrofagi residenti nel cervello e cellule mieloidi), gli autori hanno osservato una rapida progressione delle metastasi, ad indicare che, a differenza dei TAM, la microglia, quando presente, aveva un'azione anti-tumorale.

Non solo in assenza di cellule microgliali si osservava una progressione delle metastasi, ma gli animali mostravano anche una ridotta risposta dei linfociti T alle metastasi (nello specifico, un minor numero di linfociti T all'interno della massa metastatica) e la quasi completa assenza di cellule NK, indicando che, quando presenti, le cellule microgliali sostenevano l'attività dei linfociti T e NK contro il tumore. In caso di assenza dei linfociti T, invece, le cellule microgliali non erano in grado di arrestare la crescita del tumore e le metastasi progredivano. E' interessante sottolineare che in questi animali privi di linfociti T, le cellule microgliali erano caratterizzate da una ridotta

espressione di marcatori di attivazione, suggerendo che i linfociti T fossero necessari per indurre la piena attivazione della microglia. In particolare, analizzando l'espressione genica, gli autori hanno mostrato che, in assenza di linfociti T, la microglia attivava il pathway IFN e il pathway PS, ma non attivava il pathway AP, indicando che l'attivazione di quest'ultimo dipendesse dai linfociti T.

Infine, hanno verificato che questi meccanismi descritti nella microglia murina fossero conservati nella microglia umana. Inoltre, l'up-regolazione dei programmi AP e PS nella microglia del cervello metastatico correlava con una migliore sopravvivenza del paziente, mentre una più elevata attivazione dei geni del pathway IFN era associata con una peggiore prognosi del paziente, suggerendo che la risposta infiammatoria mediata dalla microglia

“... il potenziale della microglia come eventuale target di un approccio terapeutico per arrestare la progressione metastatica nel cervello”

poteva essere benefica per i pazienti, ma evidenziando il ruolo chiave delle cellule T nel processo, dato che la mancanza dell'attivazione, indotta dai linfociti T, di specifici pathway determinava un'attivazione parziale della microglia e una peggiore prognosi dei pazienti.

Conclusioni. Questo studio suggerisce il potenziale della microglia come eventuale target di un approccio terapeutico per arrestare la progressione metastatica nel cervello, rivelando un'interazione tra linfociti T e cellule della microglia, in cui i linfociti T sostengono una piena attivazione anti-tumorale della microglia: stimolata dalle cellule tumorali, la microglia up-regola prima i pathway PS e IFN; il successivo reclutamento dei linfociti T all'interno della massa tumorale induce la piena attivazione delle cellule microgliali, con l'up regolazione del pathway AP.

Referenza. Microglia promote anti-tumour immunity and suppress breast cancer brain metastasis. Evans KT, Blake K, Longworth A, Coburn MA, Insua-Rodríguez J, McMullen TP, Nguyen QH, Ma D, Lev T, Hernandez GA, Oganyan AK, Orujyan D, Edwards RA, Pridans C, Green KN, Villalta SA, Blurton-Jones M, Lawson DA. Nature cell biology 2023. doi: 10.1038/s41556-023-01273-y.

What's new in science?

I meccanismi cellulari che regolano la dormienza delle cellule tumorali e la recidiva.

Le cellule tumorali dormienti sono caratterizzate da una specifica firma molecolare e alimentano la recidiva del tumore. In particolare, l'asse B3GALT6/HS6ST1/FGF1/FGFR2 gioca un ruolo chiave nella sopravvivenza delle cellule tumorali dormienti, che a loro volta sostengono la recidiva, rappresentando quindi un meccanismo con cui poter interferire per uccidere le cellule tumorali dormienti e quindi prevenire la recidiva.

La recidiva è causata da sottopopolazioni di cellule tumorali che riescono a sopravvivere alla terapia, probabilmente rimanendo in uno stato non proliferativo, “dormiente”, per poi ricominciare a proliferare e sostenere la crescita del tumore. Eliminando questa sottopopolazione cellulare si potrebbe quindi eradicare completamente il tumore ed evitare il rimanifestarsi della malattia. Identificare le specifiche caratteristiche delle cellule tumorali dormienti (nel tumore primario o nelle metastasi) che consentono la sopravvivenza durante il trattamento rivelerebbe quindi dei meccanismi con cui poter interferire in chiave terapeutica per uccidere le cellule tumorali dormienti ed eliminare il tumore.

Scoperta principale. In un articolo recentemente pubblicato sulla rivista *Cancer Cell*, gli autori hanno definito il ruolo chiave del pathway B3GALT6/HS6ST1/FGF1/FGFR2 nel regolare la dormienza delle cellule tumorali.

Risultati. Gli autori hanno impiegato due modelli: un modello di dormienza indotto dalla terapia e un modello di dormienza indotto dal microambiente. Nel primo modello, l'inibizione dei pathway oncogenici ricapitola ciò che accade *in vivo* negli animali trattati con terapia molecolare, con la sopravvivenza di alcune cellule tumorali, dormienti, che successivamente rientrano nel ciclo cellulare e alimentano la recidiva (pur non essendo in grado di riformare i tumori primari). L'altro modello invece è rappresentato da due linee cellulari che proliferano in maniera simile in colture bidimensionali (quindi in assenza del microambiente tumorale), ma in colture

tridimensionali o *in vivo* (ovvero in presenza del microambiente), una di esse diventa dormiente, ovvero meno proliferativa.

Le cellule dormienti erano caratterizzate da specifiche firme molecolari, molto simili nei due modelli. Indipendentemente dallo stimolo che induceva la dormienza –la terapia oppure il microambiente–, queste firme molecolari includevano geni downregolati –come i geni del ciclo cellulare– e geni upregolati –come i geni associati alla matrice extracellulare. Lo stato di dormienza era reversibile.

I geni associati alla dormienza erano upregolati anche nei tumori residui nei pazienti che erano stati sottoposti a terapia neoadiuvante (ovvero somministrata prima della resezione chirurgica del tumore primario), indipendentemente dalla durata o dal tipo di terapia –chemio o terapia endocrina. Inoltre, questa firma molecolare di dormienza delle cellule tumorali era in grado di predire la recidiva del tumore. Tra i geni della firma molecolare, gli autori hanno mostrato che B3GALT6 era fondamentale per la sopravvivenza delle cellule tumorali dormienti. L'attività di B3GALT6 è necessaria per la sintesi di specifiche molecole sulla superficie cellulare, tra cui l'eparan solfato. In seguito alla delezione di B3GALT6, si riducevano infatti i livelli di eparan solfato e aumentava la morte delle cellule dormienti, indicando quindi che, quando presente, B3GALT6

aumentava i livelli di eparan solfato e promuoveva la sopravvivenza delle cellule dormienti.

Se B3GALT6 influenza la sopravvivenza delle cellule tumorali dormienti e la dormienza delle cellule tumorali sostiene la recidiva, B3GALT6 influenza la recidiva? Quando le cellule tumorali dormienti prive di B3GALT6 venivano iniettate in modelli preclinici in vivo, l'assenza di B3GALT6 ritardava significativamente la manifestazione della recidiva, indicando il ruolo chiave di B3GALT6.

Approfondendo il meccanismo, le loro analisi hanno mostrato che le cellule tumorali dormienti erano caratterizzate dall'iperattivazione dell'asse B3GALT6/HS6ST1/FGF1/FGFR2; ovvero, durante la dormienza, i livelli più elevati di eparan solfato dovuti alla maggiore espressione di B3GALT6 promuovevano la signaling di FGF1 e la sopravvivenza delle cellule dormienti. Infatti, l'eliminazione di FGF1 o la delezione di FGFR2 riducevano la sopravvivenza delle cellule dormienti. Analogamente, la delezione di B3GALT6 diminuiva la sopravvivenza delle cellule in risposta a stimolazione con FGF1, che era a sua volta ripristinata dal trattamento con eparina (una

variante di eparan solfato). Così come la delezione di questi geni riduceva la sopravvivenza delle cellule dormienti, l'amplificazione di questi geni potenziava l'attività del pathway di FGF1, aumentava la sopravvivenza delle cellule tumorali dormienti e sosteneva la recidiva nei pazienti con tumore al seno. Inoltre, nei tumori residui dopo la

terapia neoadiuvante si osservava un aumento dell'attività del pathway di FGF1.

Conclusioni. Gli autori hanno dimostrato che le cellule tumorali dormienti si contraddistinguono per una specifica firma

molecolare caratterizzata dalla maggiore espressione di geni della matrice extracellulare e alimentano la recidiva del tumore. Hanno rivelato il ruolo chiave dell'asse B3GALT6/HS6ST1/FGF1/FGFR2 nella sopravvivenza delle cellule tumorali dormienti, che a loro volta sostengono la recidiva, rivelando dei meccanismi con cui poter interferire per uccidere le cellule tumorali dormienti e quindi prevenire la recidiva.

***“l'asse B3GALT6/HS6ST1/FGF1/FGFR2
gioca un ruolo chiave nella
sopravvivenza delle cellule tumorali
dormienti, che a loro volta sostengono la
recidiva, e rappresenta quindi un
meccanismo con cui poter interferire per
uccidere le cellule tumorali dormienti e
quindi prevenire la recidiva”***

Referenza. B3GALT6 promotes dormant breast cancer cell survival and recurrence by enabling heparan sulfate-mediated FGF signaling. Amulya Sreekumar, Michelle Lu, Biswa Choudhury, Tien-Chi Pan, Dhruv K Pant, Matthew R Lawrence-Paul, Christopher J Sterner, George K Belka, Takashi Toriumi, Brian A Benz, Matias Escobar-Aguirre, Francesco E Marino, Jeffrey D Esko, Lewis A Chodosh. Cancer Cell 2023. doi: 10.1016/j.ccell.2023.11.008.

What's new from IEO Researchers?

Ignorando gli stress esterni, le cellule tumorali sopravvivono nelle condizioni ostili del microambiente tumorale e promuovono l'evoluzione del tumore.

In un articolo recente, i ricercatori supervisionati da Paola Scaffidi –PI al dipartimento di oncologia sperimentale di IEO– descrivono la messa a punto di un protocollo per analizzare, su larga scala, gli effetti di mutazioni che causano la perdita di funzione di geni potenzialmente coinvolti nel prevenire la tumorigenesi, così da investigare in dettaglio il ruolo di questi geni sulla sopravvivenza della cellula in condizioni ostili come quelle generalmente presenti nel microambiente tumorale (come la limitata disponibilità di nutrienti, la terapia, l'acidificazione del

microambiente indotta da ipossia). Gli effetti funzionali delle mutazioni (indotte tramite CRISPR-Cas9) possono essere rilevati attraverso diversi saggi (immunofluorescenza, live cell imaging, luminescenza, saggi colorimetrici) e, grazie all'elevata sensibilità, è possibile rilevare anche gli effetti minimi sul funzionamento cellulare indotti dalle mutazioni, che potrebbero altrimenti andare persi.

Applicando questo protocollo, gli autori hanno precedentemente analizzato gli effetti delle mutazioni, frequenti nei pazienti oncologici, responsabili della perdita di funzione di oltre 300 geni coinvolti nella regolazione del profilo epigenetico della cellula tumorale, ovvero nel regolare quelle modificazioni del DNA e delle proteine responsabili della modulazione dell'espressione genica.

Il loro studio ha mostrato che spegnendo la funzione dei regolatori epigenetici, e quindi alterando il profilo epigenetico delle cellule tumorali, si interferisce con i meccanismi specifici che consentono alle cellule tumorali di rispondere agli stimoli derivanti dal microambiente. Di conseguenza le cellule acquisiscono un vantaggio in termini di crescita: queste cellule con un alterato profilo epigenetico sono incapaci di accendere i programmi di morte cellulare in risposta ai segnali derivanti da un

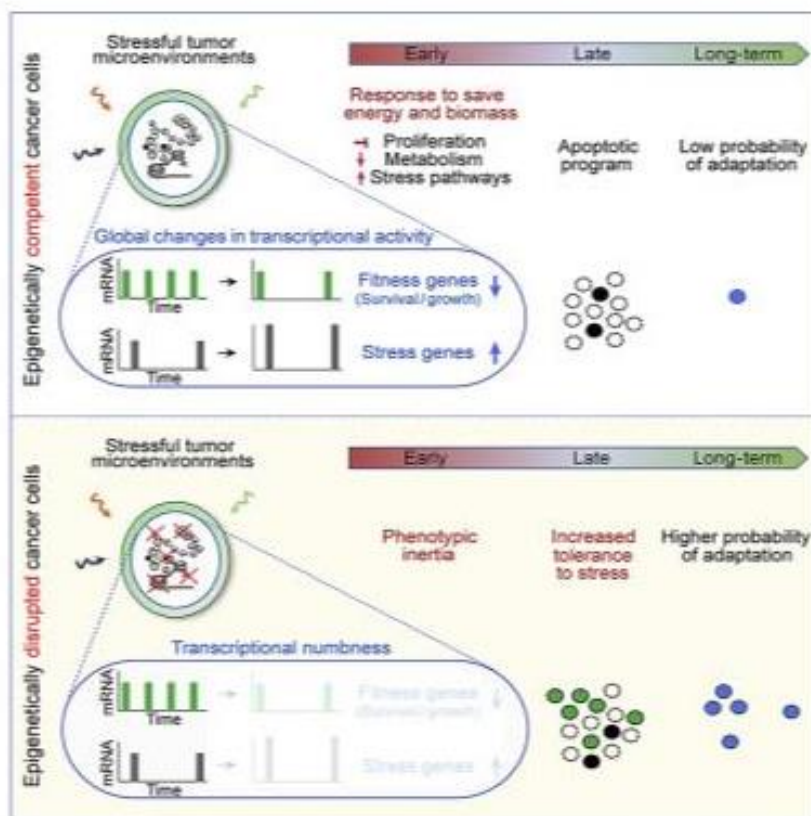


Figure from Loukas, Simeoni et al., Cancer cell 2023. *

microambiente tumorale ostile; al contrario, mantengono elevati i livelli di espressione dei geni della proliferazione, ottenendo così un vantaggio che promuove la crescita del tumore. Perdendo la

capacità di rispondere allo stress, di fatto queste cellule acquisiscono una caratteristica per loro vantaggiosa.

Referenze.

CRISPR-based large-scale modeling of loss-of-function mutations to investigate mechanisms of stress resistance in cancer. *Fabrizio Simeoni, Ioannis Loukas, Thomas Stuart Wilson, Paola Scaffidi*. STAR Protoc 2023.

Selective advantage of epigenetically disrupted cancer cells via phenotypic inertia. *Ioannis Loukas, Fabrizio Simeoni, Marta Milan, Paolo Inglese, Harshil Patel, Robert Goldstone, Philip East, Stephanie Strohbuecker, Richard Mitter, Bhavik Talsania, Wenhao Tang, Colin D H Ratcliffe, Erik Sahai, Vahid Shahrezaei, Paola Scaffidi*. Cancer Cell 2023. doi: 10.1016/j.ccell.2022.10.002

* (Figure from Loukas et al. (an open access [article](#) under the [CC BY](#) license.)

What's new from IEO Researchers?

Ugo Cavallaro vince un finanziamento della fondazione OCRA per studiare i meccanismi molecolari alla base della risposta alla terapia nelle pazienti con tumore ovarico.

Il tumore ovarico sieroso di alto grado è una malattia con un alto tasso di mortalità. Infatti, nonostante il trattamento, la disseminazione metastatica, la resistenza al trattamento e la successiva recidiva determinano una scarsa prognosi delle pazienti, sottolineando la necessità di approcci terapeutici nuovi e più efficaci.

In collaborazione con il gruppo di Alberto Cicia alla Columbia University di New York, e il team di Adekunle Odunsi all'Università di Chicago, Ugo Cavallaro, direttore dell'unità di Ricerca in Oncologia Ginecologica, ha vinto un finanziamento della *Ovarian Cancer Research Alliance* (OCRA), la più grande charity americana nel mondo a supporto della ricerca sul tumore

ovarico. Con un processo di valutazione molto selettivo, solo i progetti più innovativi e promettenti vengono finanziati.

Integrando le loro expertise, in collaborazione con Nicoletta Colombo dell'IEO, e sfruttando modelli preclinici di ultima generazione derivati da pazienti, che consentono di tenere in considerazione il ruolo del microambiente tumorale, i ricercatori analizzeranno le specifiche mutazioni che influenzano la risposta delle pazienti con tumore ovarico al trattamento con inibitori di PARP e dei checkpoint immunitari.

I ricercatori esploreranno gli effetti dei difetti nella risposta al danno al DNA –frequente nel tumore ovarico– sulla risposta delle pazienti al



Ugo Cavallaro and his team.

trattamento. In particolare, sfruttando una piattaforma da loro recentemente sviluppata e basata sulla tecnologia CRISPR, analizzeranno migliaia di mutazioni in geni coinvolti nella risposta al danno al DNA e valuteranno il loro impatto sulla capacità delle cellule tumorali di sopravvivere al trattamento con inibitori di PARP e dei checkpoint immunitari. Le mutazioni che influenzeranno la sopravvivenza delle cellule tumorali saranno ulteriormente analizzate al fine di valutarne l'impatto sulla stabilità genomica e le eventuali conseguenze sull'attivazione di una risposta immunitaria antitumorale –attraverso la generazione di neoantigeni, ovvero proteine anomale prodotte dalle cellule tumorali a causa delle alterazioni geniche introdotte e della successiva incapacità della cellula di riparare il

“sfruttando una piattaforma da loro recentemente sviluppata e basata sulla tecnologia CRISPR, analizzeranno migliaia di mutazioni in geni coinvolti nella risposta al danno al DNA e valuteranno il loro impatto sulla capacità delle cellule tumorali di sopravvivere al trattamento con inibitori di PARP e dei checkpoint immunitari”

danno al DNA. I loro risultati saranno infine validati in un contesto clinico, verificando la presenza delle mutazioni caratterizzate nelle pazienti sensibili o resistenti al trattamento combinato con Olaparib, Durvalumab e Tremelimumab (ovvero inibitori di PARP e dei checkpoint immunitari).

I meccanismi di riparo del danno al DNA sono spesso difettosi nel tumore ovarico; eppure in che modo queste alterazioni abbiano un impatto sull'efficacia della terapia ad oggi non è noto. Permettendo di capire quest'associazione, questo

studio consentirà di migliorare l'esito della terapia delle pazienti con tumore ovarico, identificando le pazienti potenzialmente in grado di rispondere alla terapia, e di disegnare dei trattamenti più efficaci e personalizzati sulla base del loro profilo genetico.

What's new from IEO Researchers?

L'infezione da parte del papillomavirus (HPV) influenza la sensibilità alla chemioterapia delle cellule del tumore testa-collo, interferendo con l'autofagia.

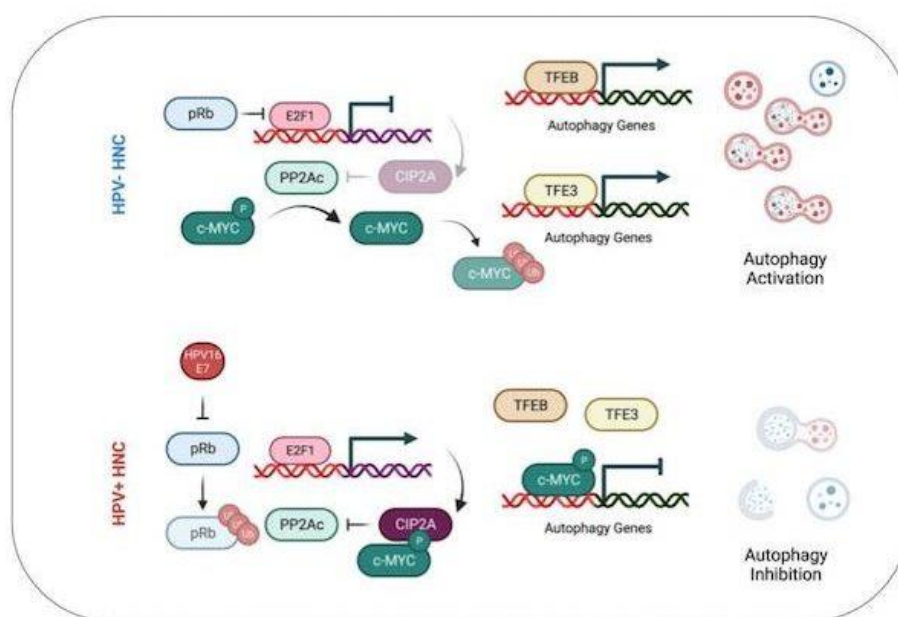


Figure from Medda et al., Cell death and disease 2023. *

I tumori testa-collo sono tumori del tratto respiratorio superiore. Il consumo di alcol, il fumo e le infezioni da HPV rappresentano i principali fattori di rischio per questo tumore. Sebbene il tumore testa-collo indotto da HPV sia diverso, dal punto di vista molecolare, dal tumore HPV-negativo, i pazienti sono trattati nello stesso modo. Eppure una maggiore comprensione delle specifiche caratteristiche molecolari e biologiche dei due sottotipi permetterebbe un trattamento più efficace dei pazienti.

In un articolo, di Alessandro Medda et al., recentemente pubblicato sulla rivista Cell death and disease, i ricercatori supervisionati da Susanna Chiocca –PI al dipartimento di Oncologia

sperimentale di IEO– hanno mostrato che l'autofagia, le proteine Myc e CIP2A sono implicati nella biologia dei tumori testa-collo indotti dall'infezione da HPV e nella sensibilità alla chemioterapia.

L'autofagia è un processo cellulare attraverso cui la cellula degrada e ricicla le componenti cellulari danneggiate. Gli autori hanno osservato un'inibizione dell'autofagia nelle cellule del tumore testa-collo positive al virus HPV. Dal punto di vista del meccanismo, le proteine E6 e E7 di HPV

modulavano –nello specifico, aumentavano– l'espressione della proteina CIP2A. L'aumentata espressione di CIP2A a sua volta determinava una maggiore fosforilazione di Myc che aumentava la stabilità

“l'autofagia, le proteine Myc e CIP2A sono implicati nella biologia dei tumori testa-collo indotti dall'infezione da HPV e nella sensibilità alla chemioterapia”

della proteina. Nelle cellule HPV-positive, infatti, il legame di Myc ai geni dell'autofagia era aumentato rispetto alle cellule HPV-negative.

Studi precedenti hanno dimostrato che Myc agisce come repressore dell'autofagia e infatti nelle cellule del tumore testa-collo HPV positive, in cui Myc era più stabile e quindi più abbondante, l'autofagia era ridotta. Al contrario, in queste cellule, il legame delle proteine TFEB e TFE3 -noti promotori dell'autofagia- era ridotto. Inoltre, essendo responsabile della stabilizzazione di Myc, l'espressione di CIP2A era inversamente correlata con l'autofagia: mentre nelle cellule tumorali HPV-positive l'autofagia era ridotta, il silenziamento di CIP2A ripristinava il funzionamento del pathway autofagico. L'espressione di CIP2A era inoltre più elevata nei

campioni di tumore testa-collo dei pazienti HPV-positivi rispetto ai campioni HPV-negativi. Qual era l'effetto della modulazione dell'autofagia da parte di HPV sulle cellule tumorali? L'autofagia è un meccanismo fondamentale nella resistenza alla chemioterapia; l'inibizione dell'autofagia aumenta infatti la sensibilità delle cellule al trattamento. Gli autori hanno mostrato che nelle

cellule del tumore testa-collo HPV-positive, ridurre l'espressione di Myc o CIP2A (che quando invece sono presenti inibiscono l'autofagia),

promuovendo l'autofagia, aumentava la resistenza delle cellule HPV-positive alla terapia (con cisplatino). L'effetto era specifico per le cellule HPV-positive, dato che dipendeva dalla regolazione dell'autofagia da parte delle proteine di HPV.

In conclusione, gli autori hanno mostrato che le proteine di HPV modulano la fisiologia delle cellule del tumore testa-collo, regolando (nello specifico, aumentando)

l'espressione di CIP2A che a sua volta aumenta (attraverso la fosforilazione) la stabilità, e quindi i livelli cellulari, di Myc. La maggiore presenza di Myc determina una maggiore repressione del pathway autofagico da parte di Myc,

aumentando di conseguenza la sensibilità delle cellule tumorali alla chemioterapia. Questi risultati potrebbero portare alla definizione di nuovi approcci terapeutici per il trattamento dei pazienti con tumore testa-collo indotti da infezione da HPV, modulando l'autofagia.



Susanna Chiocca

Referenza. c-MYC-dependent transcriptional inhibition of autophagy is implicated in cisplatin sensitivity in HPV-positive head and neck cancer. *Alessandro Medda, Micaela Compagnoni, Giorgio Spini, Simona Citro, Ottavio Croci, Stefano Campaner, Marta Tagliabue, Mohssen Ansarin, Susanna Chiocca.* Cell Death Dis 2023. doi: 10.1038/s41419-023-06248-3.

* Figure from Medda et al. (an open access [article](#) under the [CC BY](#) license.)

What's new from IEO Researchers?

Le mutazioni di p53 alterano profondamente il metabolismo delle cellule tumorali, influenzando la crescita del tumore.

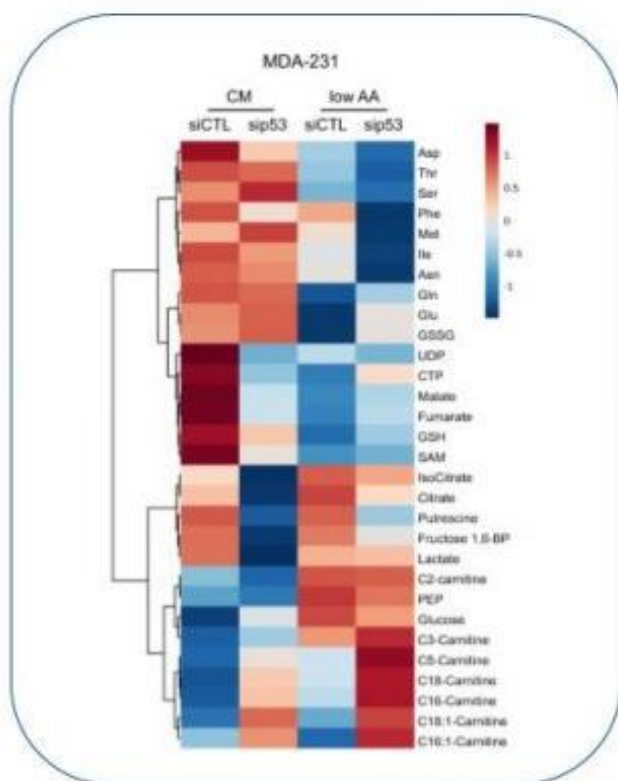


Figure from Tombari, Zannini et al., Nat Commun

p53 è il gene più frequentemente mutato nei tumori umani. Le mutazioni di p53 influenzano diversi processi cellulari, tra cui il metabolismo della cellula tumorale, aumentando di conseguenza la sopravvivenza e la capacità di proliferare delle cellule.

In un articolo recente, di Tombari, Zannini et al., i ricercatori, tra cui Nico Mitro-PI al dipartimento di oncologia sperimentale di IEO- hanno mostrato che in un microambiente tumorale caratterizzato dalla

scarsa concentrazione di aminoacidi, le cellule del tumore al seno che hanno una mutazione del gene p53 rispondono riprogrammando il loro metabolismo; ciò a sua volta promuove la crescita del tumore.

Gli autori hanno mostrato che le mutazioni di p53 influenzavano il metabolismo della cellula, aumentando la sintesi degli aminoacidi serina e glicina e l'uptake degli aminoacidi. Questo controllo del metabolismo cellulare da parte di p53 mutato avveniva attraverso una diretta regolazione dell'espressione dei geni coinvolti in questi due processi: p53 mutato –ma non p53 normale–, legava, infatti, il DNA in prossimità di questi geni e, attraverso l'interazione con Myc, promuoveva l'espressione genica. In vitro, nonostante la scarsa concentrazione di aminoacidi frequente nel microambiente tumorale, le cellule tumorali con p53 mutato proliferavano abbondantemente, mentre la proliferazione delle cellule normali era significativamente ridotta, suggerendo che le mutazioni di p53 consentivano alle cellule di sopravvivere anche in assenza di aminoacidi. Quando trapiantate in vivo, queste cellule up-regolavano pathway aminoacidici e ciò di conseguenza promuoveva la crescita del tumore. I pathway responsabili della sintesi e dell'uptake degli aminoacidi erano inoltre up-regolati nei

campioni tumorali di pazienti

“in condizioni di scarsità di aminoacidi, le cellule tumorali con p53 mutato possiedono un un vantaggio proliferativo rispetto alle cellule normali: mentre le cellule normali arrestano la proliferazione e muoiono, le cellule con p53 mutato sono in grado di riprogrammare il loro metabolismo e, in questo modo, sopravvivere”

caratterizzati da mutazioni di p53. Analisi metabolomiche delle cellule con p53 mutato, in

coltura in condizioni di scarsità di aminoacidi, hanno confermato le alterazioni del metabolismo: mentre le cellule normali up-regolavano pathway tipicamente associati con la scarsità di aminoacidi, arrestando la proliferazione cellulare, le mutazioni di p53 consentivano alle cellule di accendere o up-regolare quei pathway che consentivano di sopravvivere anche in condizioni di scarsità di aminoacidi, continuando a proliferare e sostenere la crescita del tumore. Infine, sottolineando la rilevanza clinica delle loro scoperte, l'attivazione dei pathway aminoacidici, up-regolati in seguito alla mutazione di p53, correlava con una scarsa prognosi dei pazienti con tumore al seno, e l'inibizione farmacologica degli enzimi che

facevano parte di questi pathway danneggiava la proliferazione delle cellule con p53 mutato, sia in vitro che in vivo.

Questo studio ha quindi dimostrato che, in condizioni di scarsità di aminoacidi, le cellule tumorali con p53 mutato possiedono un vantaggio proliferativo rispetto alle cellule normali: mentre le cellule normali arrestano la proliferazione e muoiono, le cellule con p53 mutato sono in grado di riprogrammare il loro metabolismo e, in questo modo, sopravvivere. Avendo però bisogno di riprogrammare il metabolismo per sopravvivere, la capacità di attivare questi pathway rappresenta un potenziale punto debole delle cellule tumorali, da poter sfruttare in chiave terapeutica.

Referenza. Mutant p53 sustains serine-glycine synthesis and essential amino acids intake promoting breast cancer growth. *Camilla Tombari*#, *Alessandro Zannini*#, *Rebecca Bertolio*, *Silvia Pedretti*, *Matteo Audano*, *Luca Triboli*, *Valeria Cancila*, *Davide Vacca*, *Manuel Caputo*, *Sara Donzelli*, *Ilenia Segatto*, *Simone Vodret*, *Silvano Piazza*, *Alessandra Rustighi*, *Fiamma Mantovani*, *Barbara Belletti*, *Gustavo Baldassarre*, *Giovanni Blandino*, *Claudio Tripodo*, *Silvio Bicchato*, *Nico Mitro*, *Giannino Del Sal*. Nat Commun 2023. doi: 10.1038/s41467-023-42458-1.

* Figure from Tombari, Zannini et al (an open access [article](#) under the [CC BY](#) license.)

What's new from IEO Researchers?

Machine learning in microbiologia: come usarlo?

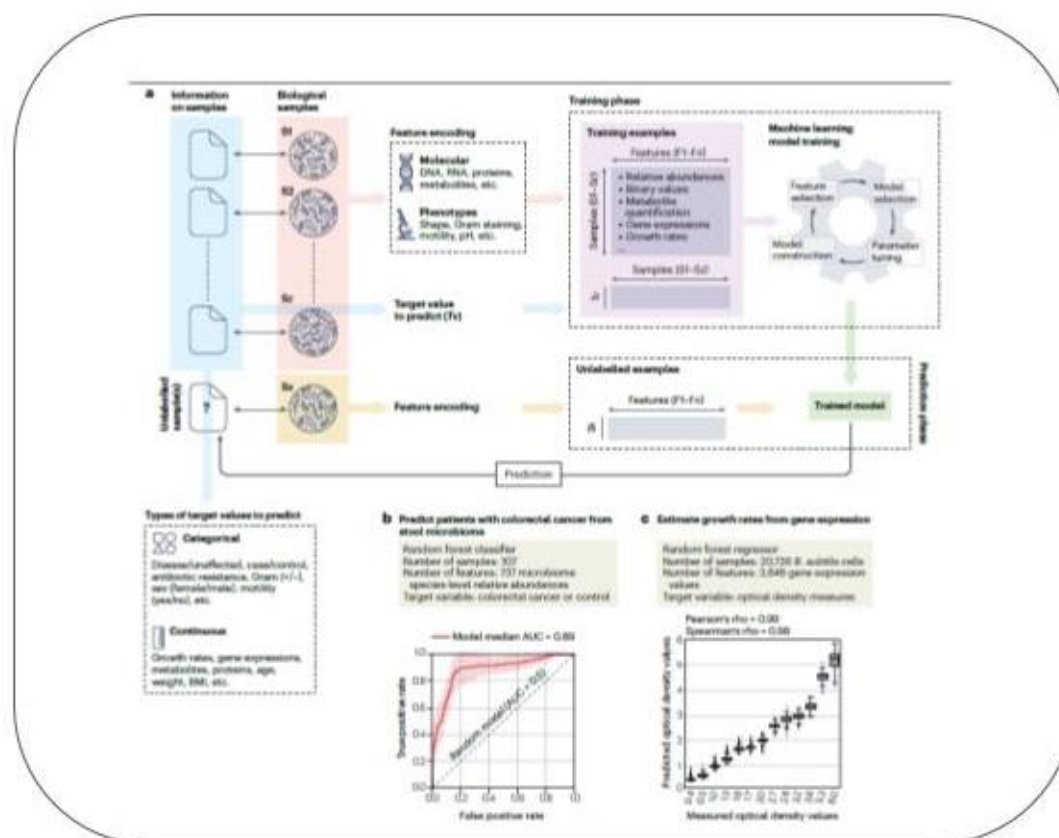


Figure from Asnicar, Thomas et al., *Nature reviews microbiology* 2023.

Gli approcci di machine learning sono sempre più utilizzati nello studio delle scienze della vita, per aiutare i ricercatori a sfruttare l'enorme quantità di dati complessi raccolti con gli esperimenti di laboratorio. Nonostante il vasto impiego di strumenti statistici e informatici nel machine learning, grazie ai [numerosi strumenti user-friendly disponibili](#), oggi la comprensione dei concetti principali è sufficiente per l'utilizzo del machine learning da parte dei ricercatori non computazionali. In una review, di Francesco Asnicar, Andrew Maltez Thomas et al., recentemente pubblicata sulla rivista *Nature Reviews Microbiology*, i ricercatori coordinati da Nicola Segata –Direttore del laboratorio di

Metagenomica Computazionale al dipartimento di oncologia sperimentale di IEO e professore ordinario all'università di Trento– offrono una panoramica chiara sui concetti principali del machine learning e gli strumenti più comunemente utilizzati nell'ambito della ricerca biomedica, sugli aspetti più importanti da considerare quando si applica il machine learning nell'analisi degli esperimenti biologici –con particolare enfasi alla microbiologia e allo studio del microbiota–, consentendo ai ricercatori di avvicinarsi al mondo della ricerca sperimentale, oggi strettamente collegata alla ricerca computazionale basata su machine learning, con un “manuale di istruzioni”.

L'utilizzo del machine learning sta aumentando rapidamente in ambito clinico e gli autori offrono diversi esempi a riguardo. In ambito oncologico il machine learning ha rivelato un'associazione tra il tumore del colon-retto e del pancreas con il microbiota intestinale, ha permesso di identificare

learning, mostrando che non è più necessario avere un solido background computazionale per capire ed applicare il machine learning e fornendo delle nozioni di base per una comunicazione e una collaborazione ottimale tra scienziati computazionali e non. Infine, suggeriscono letture ulteriori per tutti coloro interessati ad approfondire l'argomento.

Il machine learning consente di gestire dati complessi e multidimensionali (cioè, dati costituiti da un gran numero di variabili, come ad esempio le diverse varianti di un gene di interesse o un campione microbiologico contenente centinaia di specie diverse) che sarebbe altrimenti impossibile gestire, ottenuti attraverso gli approcci sperimentali che i progressi tecnologici degli ultimi decenni hanno messo a disposizione della comunità scientifica.

Gli autori descrivono i principali metodi di machine learning disponibili, riportando dettagli riguardanti gli

strumenti, le caratteristiche e le applicazioni del **supervised machine learning** –che costruisce dei modelli che associano i dati e le informazioni esistenti sui dati, per apprendere in che modo predire un risultato– e dell' **unsupervised machine learning** –attraverso cui i dati sono organizzati in gruppi (cluster) sulla base di misurazioni, senza conoscere a priori le relazioni tra i dati o il



Photos © Lucio Tonina

Nicola Segata

signature predittive del microbiota, di predire la risposta dei pazienti ad immunoterapia o il successo del trapianto di microbiota fecale, di identificare delle *signature* microbiche tumorali tessuto-specifiche con potenziale diagnostico. Il machine learning è anche ampiamente usato per l'identificazione tempestiva di agenti infettivi. Questa review discute gli strumenti disponibili e offre delle linee guida per aiutare i ricercatori non computazionali ad approcciarsi al machine

risultato—, insieme ad esempi pratici per spiegare come questi approcci vengano utilizzati in specifici contesti biologici (in particolare microbiologici) e clinici.

Elencano i metodi comunemente utilizzati per il *supervised learning* (come random forest, LASSO, naive Bayes, Support Vector Machine, DeepARG, DeepBGC, Traitair) che consentono di associare i dati sperimentali con un risultato attraverso uno specifico modello di machine learning, che può successivamente essere applicato a nuovi campioni per predire un risultato.

Discutono anche in dettaglio i metodi di *unsupervised machine learning*, come il **clustering**, per raggruppare i dati (in cluster) sulla base della somiglianza. Pur non fornendo dei modelli da applicare in futuro ad altri dati, questo metodo trova dei pattern nei dati esistenti, li organizza (in cluster) e le informazioni ottenute sui cluster possono comunque essere usate in un secondo momento per istruire dei modelli impiegando approcci di *supervised learning* (nel *partition clustering* il numero di cluster deve essere noto a priori, mentre nel *hierarchical clustering* non è necessario che il numero di cluster in cui i dati saranno organizzati sia noto a priori). Il **dimensionality reduction** è un altro approccio di *unsupervised machine learning*, per gestire dati multidimensionali, sia per una migliore visualizzazione che per ulteriori analisi. A questo scopo, *principal component analysis (PCA)*, *t-SNE*, *UMAP* sono i metodi più comuni, che permettono di rappresentare in due dimensioni le numerose variabili (o "features") misurate.

Gli autori spiegano anche i diversi approcci disponibili per la **feature selection** (ovvero la

riduzione del numero originale di features da utilizzare per costruire —ovvero “istruire”— i modelli di machine learning) o **feature extraction** (ovvero la generazione di nuove features a partire dalle features originali, che poi possono essere utilizzate insieme alle feature originali) da un set di dati, da utilizzare nell'analisi (cioè il numero di

variabili da utilizzare per il training il modello di machine learning), così come gli strumenti per stimare l'importanza delle features selezionate (ad esempio, per selezionare quelle da sottoporre a studi ulteriori).

Questa review discute inoltre gli aspetti pratici nella scelta del modello di machine learning più

adatto per il tipo di dati da analizzare e per valutare la capacità predittiva del modello —valutando accuratezza, precisione, sensibilità, specificità— che dipende ampiamente dal contesto in cui il modello è utilizzato. Ad esempio, sottolineano come in un contesto clinico-diagnostico la sensibilità di un metodo sia più critica della precisione, dato che un falso negativo è più problematico di un falso positivo. Spiegano come la performance di un modello sia misurata attraverso la “area sotto la curva ROC” e quali siano i fattori critici e gli approcci per “generalizzare” i modelli, ovvero per impiegare in un diverso contesto i modelli generati in un dato set di dati/campioni/esperimento.

Infine, includono un utile glossario, diversi esempi di applicazioni di machine learning in biologia —soprattutto in microbiologia—, aspetti critici a cui prestare attenzione quando si applicano i metodi di machine learning, così come una checklist per aiutare gli scienziati nella revisione, nella lettura e nell'interpretazione degli studi di machine learning.

“una panoramica chiara sui concetti principali del machine learning, gli strumenti più comunemente utilizzati, gli aspetti più importanti da considerare quando si applica il machine learning nell'analisi degli esperimenti biologici, consentendo ai ricercatori di avvicinarsi al mondo della ricerca sperimentale oggi strettamente collegata alla ricerca computazionale basata su machine learning, con un ‘manuale di istruzioni’ ”

Referenza. Machine learning for microbiologists. Francesco Asnicar, Andrew Maltez Thomas, Andrea Passerini, Levi Waldron & Nicola Segata. Nature reviews microbiology 2023. doi: 10.1038/s41579-023-00984-1.

**Figure from Asnicar, F., Thomas, A.M., Passerini, A. et al. Machine learning for microbiologists. Nat Rev Microbiol (2023). <https://doi.org/10.1038/s41579-023-00984-1>.*

What's new from IEO Researchers?

I numerosi aspetti dell'evoluzione tumorale.

In una review di Ciriello, Magnani et al., recentemente pubblicata sulla rivista *Cancer Discovery*, gli autori, tra cui Gioacchino Natoli e Paola Scaffidi –entrambi PI del dipartimento di oncologia sperimentale di IEO–, descrivono i recenti progressi nella comprensione dei meccanismi cellulari interni (come instabilità genetica, modificazioni dei programmi epigenetici e metabolici) ed esterni alla cellula (interazioni cellula-cellula, segnali dal microambiente tumorale, microbiota intestinale) che contribuiscono e consentono la progressione del tumore e la resistenza alla terapia, conferendo un vantaggio selettivo alle cellule tumorali.

Innanzitutto, gli autori discutono in dettaglio il ruolo delle mutazioni nella progressione/evoluzione del tumore e come le più recenti tecnologie abbiano consentito di approfondire i meccanismi alla base dell'evoluzione tumorale. Il ruolo delle mutazioni nella progressione del tumore è ampiamente riconosciuto. Mentre molte mutazioni sono di fatto neutrali, e non alterano processi fondamentali della sopravvivenza cellulare, molte altre conferiscono un vantaggio in termini di sopravvivenza alle cellule e per questo vengono selezionate. Dato che le cellule che possiedono queste mutazioni hanno maggiori probabilità di proliferare e formare un tumore, queste mutazioni sono l'obiettivo delle terapie molecolari, terapie che rappresentano alcune delle storie di successo nel trattamento dei

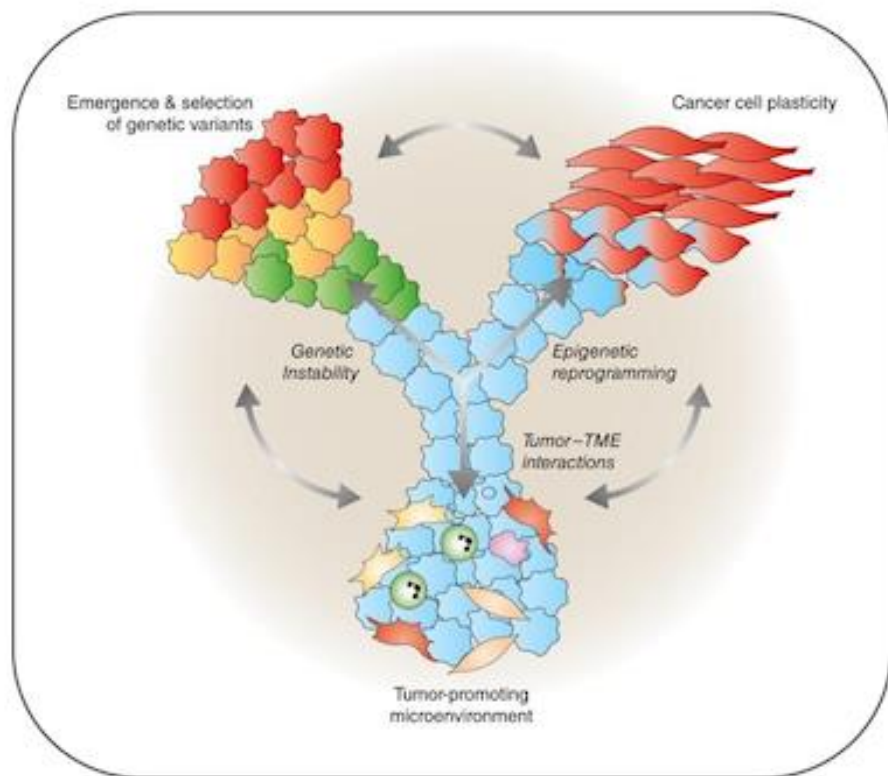


Figure from Ciriello, Magnani et al., *Cancer Discovery* 2023. *

tumori. In questo contesto, l'applicazione relativamente recente di approcci di machine learning ha consentito di predire l'eventuale patogenicità di una mutazione. Le mutazioni possono essere inoltre sfruttate (come "barcode") per ottenere una migliore comprensione dei meccanismi di evoluzione tumorale, per tracciare l'evoluzione del tumore fino alle sue origini così da permettere l'identificazione dei meccanismi iniziali che hanno portato all'insorgenza del tumore, offrendo quindi target potenziali per interferire con la progressione del tumore. Gli autori spiegano inoltre come un dato programma trascrizionale –il lineage– influenzi le conseguenze di una mutazione, creando nella cellula le condizioni che permettono l'espressione di un gene/mutazione. Affrontano gli aspetti

riguardanti il modo in cui le mutazioni e la organizzazione tridimensionale del DNA cooperino nella progressione del tumore (e il ruolo svolto da specifici compartimenti della cromatina –come i TADs) e il ruolo delle modificazioni epigenetiche

(metilazione del DNA e modificazioni post-traduzionali degli istoni) nella tumorigenesi.

Discutono come la “plasticità cellulare”, definita come la capacità di cellule tumorali geneticamente identiche di passare tra stati fenotipicamente

diversi, in maniera transiente e reversibile, durante la progressione del tumore sia probabilmente dipendente dalla struttura del tessuto, dalla localizzazione delle cellule tumorali nel tessuto, e permetta di rispondere diversamente ai segnali derivanti dal microambiente tumorale o al trattamento. Questa plasticità cellulare, da un lato, potrebbe spiegare la resistenza delle cellule tumorali alla terapia, e dall’altro potrebbe offrire la possibilità di interferire con questi stati cellulari e queste

“differenti fattori contribuiscono all’evoluzione tumorale: epigenetica, interazione cellula-cellula e cellula-microambiente aggiungono alla diversità genetica livelli ulteriori di diversificazione che creano cellule tumorali con maggiori probabilità di sopravvivere e proliferare, contribuendo all’architettura del tumore e alla sua evoluzione, sostenendo di conseguenza la crescita tumorale e sottolineando ulteriormente la necessità di considerare tutti questi livelli con un approccio integrato, per ottenere una visione esauriente del problema e favorire lo sfruttamento di queste scoperte in ambito terapeutico”

transizioni, offrendo così opportunità terapeutiche. Infine, approfondiscono il ruolo del microambiente tumorale nell’influenzare la plasticità cellulare, inducendo transizioni tra gli stati cellulari e influenzando di conseguenza

l’evoluzione del tumore e la risposta alla terapia, sottolineando così la co-evoluzione delle cellule tumorali e del microambiente tumorale. In conclusione, in questa review gli autori discutono i differenti fattori che contribuiscono all’evoluzione tumorale: epigenetica, interazione cellula-cellula e cellula-microambiente aggiungono alla diversità genetica livelli ulteriori di

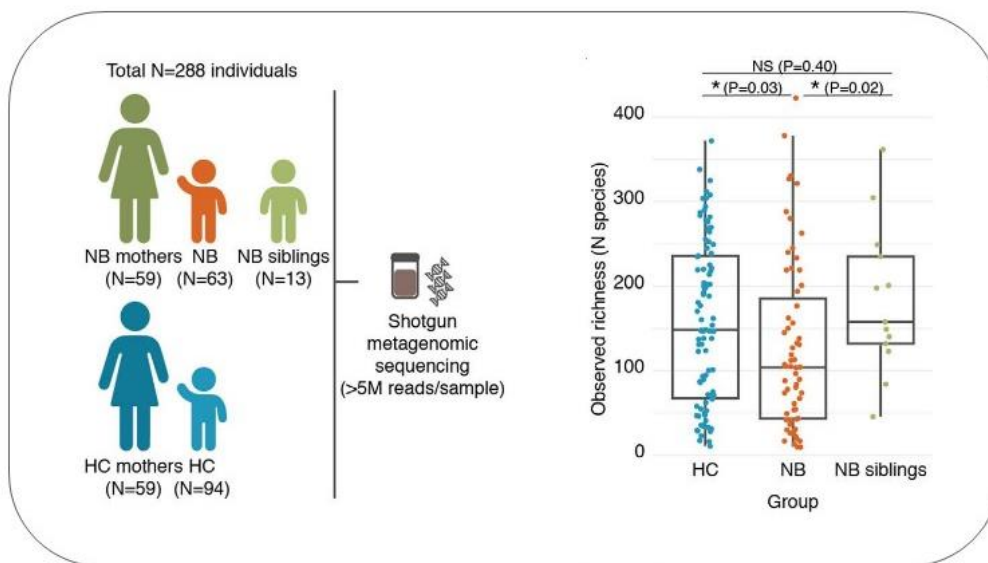
diversificazione che creano cellule tumorali con maggiori probabilità di sopravvivere e proliferare, contribuendo all’architettura del tumore e alla sua evoluzione, sostenendo di conseguenza la crescita tumorale e sottolineando ulteriormente la necessità di considerare tutti questi livelli con un approccio integrato, per ottenere una visione esauriente del problema e favorire lo sfruttamento di queste scoperte in ambito terapeutico.

Referenza. Cancer Evolution: A Multifaceted Affair. Giovanni Ciriello, Luca Magnani, Sarah J Aitken, Leila Akkari, Sam Behjati, Douglas Hanahan, Dan A Landau, Nuria Lopez-Bigas, Darío G Lupiáñez, Jean-Christophe Marine, Ana Martin-Villalba, Gioacchino Natoli, Anna C Obenauf, Elisa Oricchio, Paola Scaffidi, Andrea Sottoriva, Alexander Swarbrick, Giovanni Tonon, Sakari Vanharanta, Johannes Zuber. Cancer Discov 2024. doi: 10.1158/2159-8290.CD-23-0530.

* Figure from Ciriello, Magnani et al. (an open access [article](#) under the [CC BY-NC-ND 4.0](#) license).

What's new from IEO Researchers?

I pazienti pediatrici con neuroblastoma addominale hanno una diversa composizione del microbiota intestinale.



Adapted from Valles-Colomer et al., eBioMedicine 2023. *

Il neuroblastoma è il tumore più comune nei bambini, tipicamente diagnosticato prima dei cinque anni di età; ha origine da neuroni immaturi e si manifesta tipicamente (nel 65% dei casi) nell'addome. Alterazioni della composizione del microbioma intestinale sono state descritte in modelli preclinici di neuroblastoma e in pazienti con altri tumori gastrointestinali e, in diversi tipi di tumore, è stato proposto il coinvolgimento del microbioma nell'insorgenza, nella progressione e nella risposta alla terapia. In un recente articolo di Valles-Colomer et

al., i ricercatori coordinati da Nicola Segata – Group Leader al Dipartimento di Oncologia Sperimentale di IEO e professore ordinario all'Università di Trento– hanno sviluppato il primo dataset che raccoglie informazioni (ottenute tramite analisi metagenomiche) sul microbioma intestinale di pazienti con neuroblastoma e hanno

“le differenze nella composizione del microbiota intestinale dei pazienti con neuroblastoma rispetto agli individui sani non sono associate alla trasmissione del microbioma materno alla nascita, escludendo il coinvolgimento del microbiota materno nell'insorgenza del neuroblastoma. Tuttavia, sebbene siano necessari studi ulteriori, i risultati suggeriscono il potenziale di un approccio terapeutico complementare per alleviare i sintomi del neuroblastoma sfruttando il microbiota”

evidenziato delle differenze nella composizione del microbioma dei pazienti rispetto ai controlli, non dipendenti dalla composizione

del microbiota intestinale materno e dalla trasmissione del microbiota materno ai figli.



Gli autori hanno analizzato (tramite shotgun metagenomics) i campioni fecali di 288

e le loro madri) reclutati all'Istituto Gaslini di Genova (Italia), grazie alla collaborazione dei co-autori senior Mirco Ponzoni e Maria Valeria Corrias. Impiegando uno strumento computazionale da loro recentemente sviluppato (MetaPhlAn4), hanno mostrato che la composizione del microbioma intestinale era significativamente diversa nei pazienti rispetto agli individui sani; nello specifico, i pazienti mostravano un minor numero di specie diverse. Quando hanno analizzato in maggiore dettaglio le singole specie del microbiota, hanno osservato una

Cos'è MetaPhlAn 4 ?

Nicola Segata

(Photos ©Alessio Coser for University of Trento)

Negli ultimi decenni lo sviluppo della *shotgun metagenomics* ha consentito lo studio della composizione del microbioma intestinale, permettendo di estrapolare dalle sequenze genomiche gli specifici microrganismi che colonizzano l'intestino, così da studiare il loro ruolo nella fisiopatologia umana.

Per estrapolare la presenza e l'abbondanza di specie microbiche nei campioni metagenomici, sono stati sviluppati diversi strumenti computazionali e possono essere usati metodi "Reference-based" o "Assembly-based".

Nei metodi "Reference-based", sono generalmente utilizzate delle raccolte di informazioni note riguardo ai genomi microbici; in pratica, i risultati del sequenziamento di un campione microbico vengono confrontati/allineati con sequenze microbiche note –e annotate– di riferimento. Questo approccio ha permesso di studiare la composizione del microbiota intestinale con un elevato livello di dettaglio e accuratezza e quindi trovare delle precise associazioni tra la presenza e l'abbondanza di specifiche specie microbiche e determinate condizioni patologiche. Sfruttare queste raccolte di informazioni genomiche riguardanti specie microbiche già caratterizzate impedisce però l'identificazione di specie nuove, causando così la perdita di informazioni potenzialmente cruciali. I metodi **Assembly-based** non necessitano di sequenze di riferimento: in pratica, le diverse sequenze microbiche vengono usate per assemblare un "metagenoma"; questo metodo tuttavia non funziona bene per le specie poco abbondanti. I due approcci per la caratterizzazione metagenomica nello studio del microbiota intestinale sono stati combinati in un unico strumento: **MetaPhlAn 4**, che sfrutta sia le raccolte genomiche derivanti dai metodi reference-based, sia le raccolte di metagenomi ottenute assemblando i diversi genomi microbici in metagenomi. Integrando i due metodi, MetaPhlAn 4 crea il più grande database esistente, che comprende sia i genomi di specie note (ottenuti con gli strumenti reference-based) sia quelli di specie non caratterizzate (derivanti dall'assemblaggio in metagenomi), su cui lavora l'algoritmo di MetaPhlAn4. MetaPhlAn4 sfrutta questi dati attraverso la definizione di geni marker che identificano in maniera precisa ogni diversa specie (nota o non caratterizzata). Il nuovo database amplia lo strumento MetaPhlAn esistente e si è dimostrato eccellente nell'identificazione di specie non caratterizzate, consentendo un'analisi e uno studio più accurato del ruolo del microbioma nella fisiologia umana. ([Blanco-Miguez et al., Nature Biotechnology 2023.](#))

MetaPhlAn 4 è disponibile qui <http://segatalab.cibio.unitn.it/tools/metaphlan> (contrassegnato come MetaPhlAn 4.beta.1) con codice open source qui <https://github.com/biobakery/MetaPhlAn>.

individui (pazienti con neuroblastoma –al momento della diagnosi–, controlli e fratelli sani,

sola specie più abbondante nei pazienti, mentre 18 specie (tra cui alcuni batteri con proprietà anti-

infiammatorie) erano meno abbondanti nei pazienti rispetto ai controlli. Tra le specie meno abbondanti nei pazienti, una (*Bifidobacterium bifidum*) ha ricevuto l'autorizzazione (ovvero è stata dichiarata "sicura") per l'utilizzo nella prevenzione e nel trattamento di malattie intestinali ed è stata mostrata agire in sinergia con gli inibitori dei checkpoint immunitari nel ridurre il tumore polmonare in modelli preclinici in vivo. Inoltre, sulla base della composizione del microbioma, era possibile distinguere, sfruttando approcci di machine learning, i pazienti dai controlli. Analizzando in maniera approfondita le specie che erano meno abbondanti nei pazienti hanno osservato che queste erano coinvolte in specifici pathway metabolici microbici (metabolismo dei carboidrati, sintesi degli aminoacidi (aromatici) e della vitamina B1), evidenziando che un alterato microbioma potrebbe contribuire ad un alterato metabolismo dei pazienti. Infine, dato che il microbioma del nascituro viene in gran parte trasmesso dalla madre (e si modifica poi progressivamente con l'età), gli autori hanno testato l'eventuale contributo del microbioma materno nella

tumorigenesi del neuroblastoma. Le loro analisi hanno mostrato che la trasmissione del microbioma materno alla nascita non era associata all'insorgenza del tumore; infatti, non si osservavano differenze nel microbioma intestinale né tra le madri dei pazienti e dei controlli sani (in termini di diversità, abbondanza delle diverse specie microbiche, pathway metabolici coinvolti), né nel numero di specie in comune madre-paziente rispetto a madre-controllo.

In conclusione, questo studio –finanziato dall'European Research Council e dal Ministero Italiano dell'Università e della Ricerca– ha rivelato delle differenze nella composizione del microbiota intestinale dei pazienti con neuroblastoma rispetto agli individui sani, che non sono associate alla trasmissione del microbioma materno alla nascita, escludendo il coinvolgimento del microbiota materno nell'insorgenza del neuroblastoma. Tuttavia, sebbene siano necessari studi ulteriori, i risultati suggeriscono il potenziale di un approccio terapeutico complementare per alleviare i sintomi del neuroblastoma sfruttando il microbiota.

Referenza. Neuroblastoma is associated with alterations in gut microbiome composition subsequent to maternal microbial seeding. *Mireia Valles-Colomer, Paolo Manghi, Fabio Cumbo, Giulia Masetti, Federica Armanini, Francesco Asnicar, Aitor Blanco-Miguez, Federica Pinto, Michal Punčochář, Alberto Garaventa, Loredana Amoroso, Mirco Ponzoni, Maria Valeria Corrias, Nicola Segata.* EBioMedicine 2023. doi: 10.1016/j.ebiom.2023.104917.

*Figure from Valles-Colomer et al. (an open access [article](#) under the [CC BY](#) license.)

What's new from IEO Researchers?

Uno “score” per quantificare l’associazione tra eventi immunitari avversi e trattamento immunoterapico.

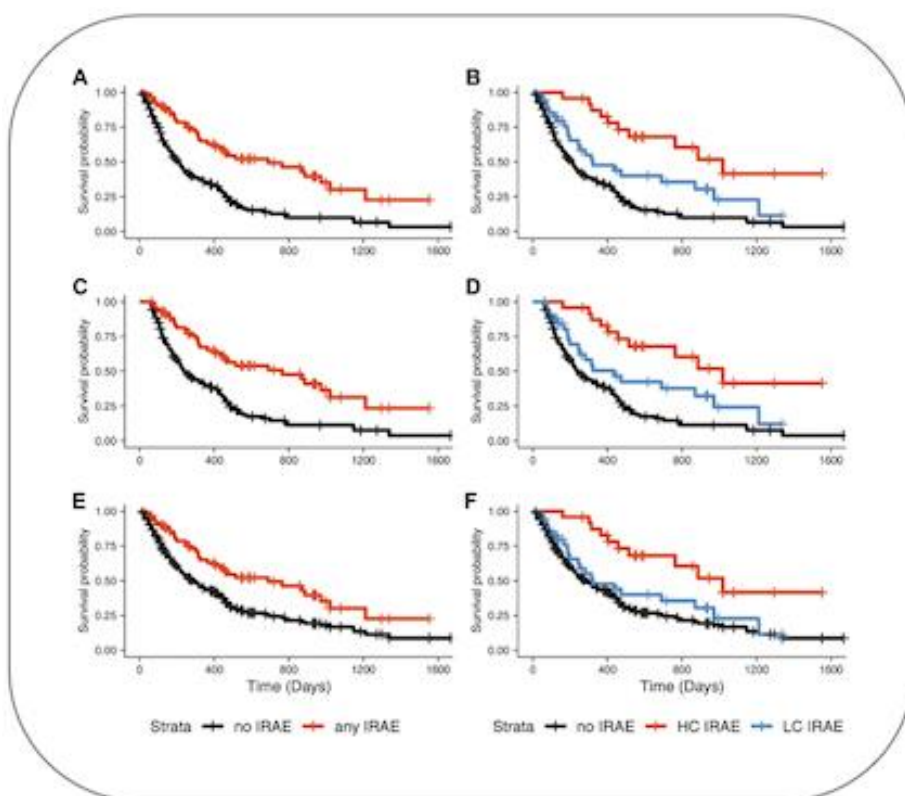


Figure from Mazzearella et al., *The Oncologist* 2023. *

Nonostante gli indubbi benefici dell’immunoterapia, i pazienti spesso manifestano, in conseguenza del trattamento, eventi immunitari avversi (immune-related adverse events, IRAE). Distinguere tra gli eventi avversi direttamente associati al trattamento immunoterapico e quelli dovuti ad altre potenziali cause scatenanti –come ad esempio la progressione della malattia o la tossicità associata con altri trattamenti convenzionali– non è facile. Gli IRAE sono generalmente diagnosticati tramite approcci non sempre fattibili, come biopsie invasive o test di laboratorio non di routine. Sono

quindi necessari dei metodi più semplici per la diagnosi degli IRAE.

In un recente studio IEO, di Luca Mazzearella et al., gli autori –supervisionati da Giuseppe Curigliano– hanno elaborato uno score per quantificare in maniera obiettiva l’associazione diretta tra eventi immunitari avversi e trattamento immunoterapico.

Tra i pazienti trattati con immunoterapia e arruolati in studi clinici di fase I-II, che manifestavano eventi avversi, due diversi esperti oncologi hanno valutato, in base alla loro esperienza, se la manifestazione degli eventi avversi fosse con

buona probabilità (high confidence) associata con

l’immunoterapia –e quindi una conseguenza dell’effetto del farmaco sul sistema immunitario– oppure no (low confidence). Sfruttando questi dati, gli autori hanno quindi sviluppato uno score per distinguere in maniera obiettiva, retrospettivamente, i pazienti in cui gli eventi avversi sono molto probabilmente causati dal trattamento immunoterapico. Lo score prende in considerazione cinque parametri clinici, assegnando un punteggio (da 0 a 2) ad ognuno di essi. I parametri includono 1) la disponibilità di risultati di un classico test per IRAE (e.g. biopsia) che mostrano un evento immunitario avverso; 2)

la mancanza di una chiara diagnosi di IRAE (che suggerisce l'improbabilità di questa associazione); 3) la risposta all'eventuale somministrazione di farmaci immunosoppressivi; 4) il tempo intercorso tra la somministrazione del trattamento immunoterapico e la manifestazione degli IRAE (ovvero se gli IRAE si manifestano poco tempo dopo il trattamento, l'associazione con l'immunoterapia è considerata improbabile); 5) l'esame del quadro clinico che suggerisce, sulla base di uno studio della letteratura, un'associazione con il trattamento. Se lo score totale, che tiene in considerazione tutti questi parametri, è maggiore di 5, gli IRAE sono considerati con buona probabilità associati al trattamento immunoterapico.

“nell’ambito degli studi clinici di fase I-II gli effetti collaterali di un trattamento innovativo sono valutati in maniera approfondita al fine di determinare l’eventuale tossicità/sicurezza del farmaco in sperimentazione. Questo score offre uno strumento che permette un’analisi obiettiva, e quindi uno studio accurato, degli effetti collaterali associati ad immunoterapia”

Inoltre, gli autori hanno osservato una correlazione tra la manifestazione degli IRAE con buona probabilità associati ad immunoterapia e una buona risposta del paziente alla terapia, confermando studi precedenti che propongono gli IRAE come potenti biomarcatori di risposta ad immunoterapia. Nell'ambito degli studi clinici di fase I-II gli effetti collaterali di un trattamento innovativo sono valutati in maniera approfondita al fine di determinare l'eventuale tossicità/sicurezza del farmaco in sperimentazione. Questo score offre uno strumento che permette un'analisi obiettiva, e quindi uno studio accurato, degli effetti collaterali associati ad immunoterapia.

Referenza. Immune-Related Adverse Event Likelihood Score Identifies "Pure" IRAEs Strongly Associated With Outcome in a Phase I-II Trial Population. *Luca Mazzarella, Federica Giugliano, Eleonora Nicolo, Angela Esposito, Edoardo Crimini, Giulia Tini, Jacopo Uliano, Chiara Corti, Paolo D'Amico, Pamela Trillo Aliaga, Carmine Valenza, Matteo Repetto, Gabriele Antonarelli, Liliana Ascione, Grazia Vivanet, Pierpaolo Berton Giachetti, Ida Minchella, Carmen Belli, Marzia Locatelli, Carmen Criscitiello, Giuseppe Curigliano.* Oncologist 2023. doi: 10.1093/oncolo/oyad239.

* Figure from Mazzarella et al. (an open access [article](#) under the [CC BY-NC](#) license.)

What's new from IEO Researchers?

Studiare l'interazione tra il virus responsabile della covid19 (SARS-CoV2) e le cellule umane per trovare i punti deboli del virus.

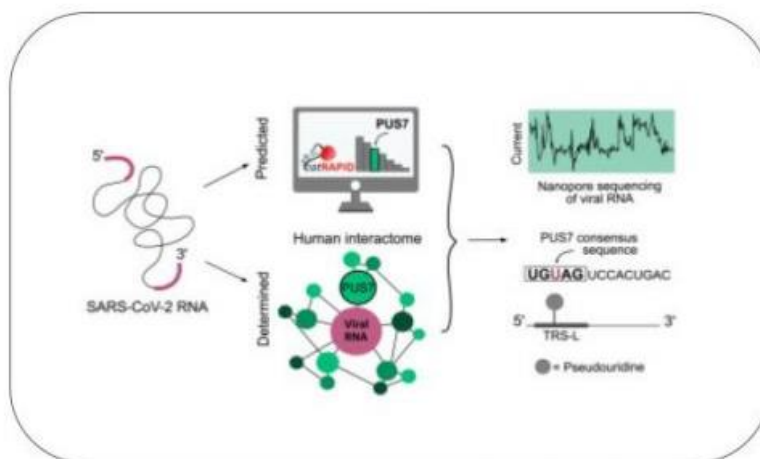


Figure from Giambruno, Zacco, Ugolini et al., *Mol Ther Nucleic Acids* 2023. *

SARS-CoV2 è un virus a RNA. Perché il virus si replichi all'interno della cellula ospite, è necessario che il suo RNA interagisca con le proteine della cellula ospite. Pur essendo un aspetto critico dell'infezione virale, la nostra comprensione del modo in cui avviene l'interazione tra l'RNA virale e le proteine -e quindi del modo in cui il virus sfrutta il machinery della cellula ospite, specialmente nelle fasi iniziali dell'infezione- è ancora parziale.

In un articolo di Giambruno, Zacco, Ugolini et al., recentemente pubblicato sulla rivista *Molecular Therapy – Nucleic Acids*, combinando approcci computazionali e sperimentali, i ricercatori, tra cui Tiziana Bonaldi –Group Leader al dipartimento di oncologia sperimentale di IEO–, coordinati da Francesco Nicassio e Gian Gaetano Tartaglia –Istituto Italiano di Tecnologia– hanno investigato in dettaglio l'interazione tra l'RNA virale e le proteine umane, identificando per la prima volta il ruolo chiave di una proteina della cellula ospite –PUS7– in questa interazione ed individuando

diversi siti di pseudouridilazione presenti nel genoma virale.

Prima di tutto gli autori hanno individuato, attraverso studi in silico, le regioni dell'RNA con la maggiore probabilità di interagire con le proteine della cellula ospite. Successivamente, dopo aver espresso questi frammenti di RNA in cellule HEK, hanno analizzato tramite spettrometria di massa le proteine che interagivano con essi. Il 40% delle proteine identificate corrispondeva a proteine che erano già note interagire con l'RNA -dimostrando l'affidabilità del loro approccio-, mentre molte altre erano nuove. Quindi, sfruttando i dati in silico, che permettevano di assegnare un "punteggio" alla propensione delle proteine ad interagire con l'RNA, hanno classificato per affinità le proteine identificate tramite spettrometria di massa e hanno sottoposto ad ulteriori analisi quelle che avevano un punteggio più alto (ovvero quelle che avevano una maggiore propensione ad interagire in maniera specifica con l'RNA virale). Le loro analisi hanno rivelato, per la prima volta,

un'interazione tra la proteina umana PUS7 e l'RNA virale. Il ruolo di PUS7 è quello di modificare chimicamente le molecole di RNA (nello specifico, catalizza l'isomerizzazione di uridina in pseudouridina nel mRNA e tRNA della cellula). In accordo con i dati che mostravano l'interazione di PUS7 con l'RNA di SARS-CoV2, dopo l'infezione delle cellule umane l'RNA del virus mostrava queste modificazioni, in particolare a livello di alcune regioni che erano note per essere target specifici di PUS7. Probabilmente a causa di un effetto sulla struttura secondaria delle molecole di RNA, le modificazioni dell'RNA virale mediate da PUS7 aumentavano significativamente l'affinità di legame dell'RNA virale con la proteina NSP1, una proteina virale non strutturale che è nota bloccare la sintesi delle proteine della cellula ospite. Aumentare i livelli di PUS7 incrementava l'interazione RNA-NSP1, che

“la proteina PUS7, espressa dalle cellule umane, gioca un ruolo chiave nell'interazione tra il RNA virale e le proteine della cellula ospite”

invece si riduceva in seguito all'espressione di una forma inattiva di PUS7, indicando il ruolo chiave della proteina PUS7 nella replicazione virale e il suo potenziale come target di nuovi approcci terapeutici volti a inibire la replicazione del virus nelle cellule umane. L'infezione virale avviene in diverse fasi; ognuna di esse rappresenta un meccanismo con cui poter interferire a scopi terapeutici. Ad esempio, nelle fasi iniziali, subito dopo l'infezione, la dipendenza del virus dalle proteine della cellula ospite per la sua replicazione rende il virus “vulnerabile”, fornendo potenziali target terapeutici per arrestare il processo e trattare la malattia indotta dal virus SARS-CoV2, o altri virus simili. Questo studio rivela il ruolo chiave di PUS7 nel processo, puntando al potenziale utilizzo di un inibitore di PUS7 –recentemente descritto– o di strategie basate sull'uso dell'RNA.

Referenza. Unveiling the role of PUS7-mediated pseudouridylation in host protein interactions specific for the SARS-CoV-2 RNA genome. *Roberto Giambruno, Elsa Zacco, Camilla Ugolini, Andrea Vandelli, Logan Mulroney, Manfredi D'Onghia, Bianca Giuliani, Elena Criscuolo, Matteo Castelli, Nicola Clementi, Massimo Clementi, Nicasio Mancini, Tiziana Bonaldi, Stefano Gustincich, Tommaso Leonardi, Gian Gaetano Tartaglia, and Francesco Nicassio.* Molecular Therapy Nucleic Acids, 2023. doi: 10.1016/j.omtn.2023.102052.

*Figure from Giambruno, Zacco, Ugolini et al. (an open access [article](#) under the [CC BY-NC-ND](#) license.)

What's new from IEO Researchers?

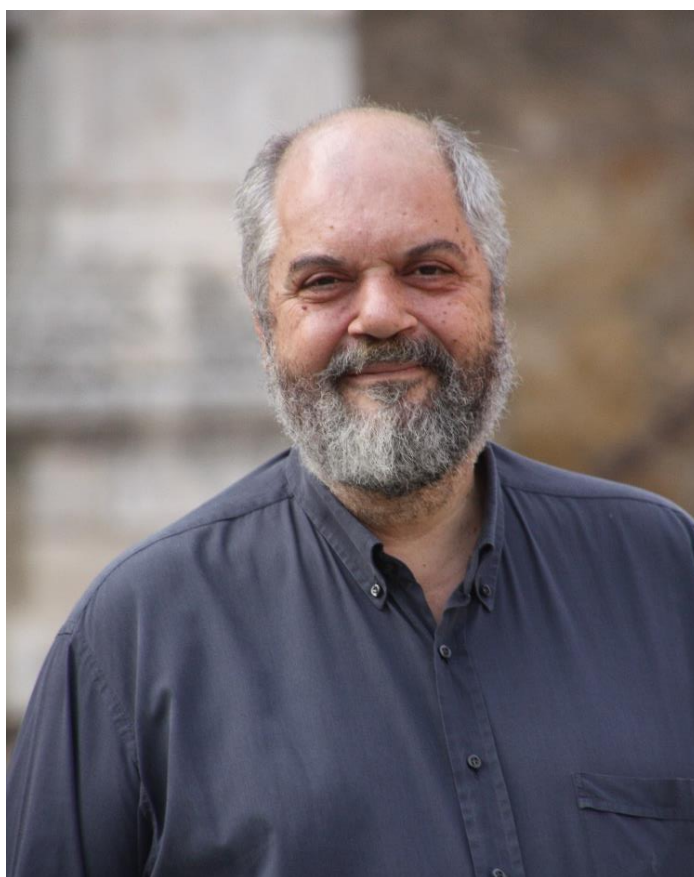
Pier Paolo di Fiore vince nella categoria Scienze matematiche, fisiche e naturali del Premio Nazionale di Divulgazione scientifica Giancarlo Dosi.

Il 14 dicembre si è tenuta a Roma la finale dell'undicesima edizione del premio Nazionale di Divulgazione scientifica Giancarlo Dosi. Il Premio è organizzato dall'Associazione Italiana del Libro.

Il concorso ha visto tre finalisti per ognuna delle cinque categorie -Scienze matematiche, fisiche e naturali; Scienze della vita e della salute; Scienze dell'Ingegneria e dell'Architettura; Scienze dell'uomo, storiche e letterarie; Scienze giuridiche, economiche e sociali.

Dopo il successo del libro "Il prezzo dell'immortalità" con cui due anni fa si è aggiudicato il premio Galileo per la divulgazione scientifica, il libro con cui Pier Paolo Di Fiore vince quest'anno nella categoria "Scienze matematiche, fisiche e naturali" è "La vita inevitabile" in cui, dando voce ad "un replicante", ovvero un'entità biochimica che ha dato origine al DNA, racconta l'emergere della vita.

Pier Paolo Di Fiore è professore ordinario dell'Università degli Studi di Milano, direttore del Programma "Novel Diagnostics" dell'IEO e del laboratorio di "Endocytosis, signalling and cancer" al dipartimento di oncologia sperimentale di IEO, dove si occupa di endocitosi, cellule staminali e genomica funzionale, con l'obiettivo di capire le diverse funzioni dell'apparato endocitico, per definire gli attori molecolari coinvolti e capire come un malfunzionamento del processo di endocitosi contribuisca alla tumorigenesi e all'acquisizione da parte delle cellule di quei tratti che le trasformano in cellule staminali tumorali e conferiscono la capacità di formare metastasi, con lo scopo finale di sfruttare i risultati ottenuti con la



Pier Paolo Di Fiore

ricerca di base in ambito clinico/terapeutico, per la definizione di nuovi marcatori prognostici/predittivi e target terapeutici.

In passato ha lavorato per anni negli Stati Uniti, presso il National Cancer Institute, ed è stato direttore scientifico dell'IFOM.

Congratulazioni!

What's new from IEO Researchers?

Non perdere il PhD meeting ABCD-SIBBM di quest'anno!



Dal 25 a 27 Marzo si terrà a Bologna il PhD meeting ABCD-SIBBM, organizzato dai dottorandi per i dottorandi.

Questo meeting riunisce dottorandi che lavorano nel campo della biologia cellulare e molecolare, offrendo loro l'opportunità di discutere la loro scienza con rinomati scienziati e con giovani ricercatori, consentendo loro di ricevere un utile riscontro sulla loro ricerca, discutere in maniera critica i loro risultati e le loro idee, in un ambiente socievole e informale.

L'evento di quest'anno è organizzato da un comitato di quattro group leader –costituito da Sirio Dupont, University of Padua; Giulia Piaggio, Regina Elena National Cancer Institute; Michela Denti, University of Trento; Alessandro Fiorenzano, IGB-CNR– e da un comitato di quattro dottorandi –costituito da Margherita Ferretti,

Regina Elena National Cancer Institute; Erica Mina, University of Turin; Gianluca Petrillo, University of Naples Federico II; Elena Poggio, University of Padua.

Il meeting includerà due keynote lecture –di Sara Mainardi, Netherlands Cancer Institute, e Shukry James Habib, University of Lausanne–, sessioni dedicate alla presentazione dei poster, seminari tecnologici. La miglior presentazione orale e il miglior poster saranno selezionati per il premio “Luca Daveggio”.

La scadenza per la registrazione e l'invio dell'abstract è il 16 Febbraio; sono disponibili travel grant per alcuni partecipanti e sconti per i membri ABCD/SIBBM, quindi affrettati! Non perdere l'evento di quest'anno!

Per tutte le informazioni è possibile consultare il sito web del meeting qui.

What's new from IEO Researchers?

Corso “Minimally-invasive treatments of the thyroid & save your thyroid”.



“MINIMALLY-INVASIVE TREATMENTS OF THE THYROID & SAVE YOUR THYROID COURSE 2024”, convegno internazionale sui trattamenti mini-invasivi della tiroide (MITT), torna a Milano il 15 e 16 febbraio.

Il meeting, organizzato e promosso dal Dottor Giovanni Mauri (Radiologia Interventistica), è patrocinato da IEO e dedicato

all’approfondimento delle tecniche di ablazione più utilizzate dai maggiori esperti a livello mondiale.

Per maggiori info e per iscriversi, clicca [qui](#).

Il programma è disponibile [qui](#).

What's new from IEO Researchers?

Giuseppe Curigliano e Giuseppe Viale fra gli “Highly Cited Researchers 2023”.



Giuseppe Curigliano

Congratulazioni al Prof. Giuseppe Curigliano – Direttore della Divisione Nuovi farmaci e terapie innovative di IEO– e al Prof. Giuseppe Viale – Direttore del Dipartimento di Patologia e medicina di laboratorio di IEO– per essere tra gli “Highly Cited Researchers 2023”. Si tratta di un importante riconoscimento a cura di Clarivate Analytics, attribuito agli scienziati che si sono contraddistinti a livello internazionale in tutti i campi della ricerca, dimostrando significativa influenza attraverso la pubblicazione di articoli scientifici che sono stati altamente citati. A loro vanno i nostri migliori auguri di buon lavoro!



Giuseppe Viale

What's new from IEO Researchers?

Premio 'Ambasciatore della città di Milano' a Giuseppe Curigliano.



Congratulazioni al Prof. Giuseppe Curigliano per essere stato recentemente premiato come 'Ambasciatore della città di Milano' da Alberto Pirelli, Presidente di YES MILANO – Associazione Milano & Partners.

Il riconoscimento è frutto del suo impegno nell'aver contribuito a candidare con successo la nostra città ad ospitare la 14° edizione della

European Breast Cancer Conference, conferenza internazionale che radunerà dal 20 al 22 marzo 2024 i maggiori esperti coinvolti nella ricerca, diagnosi e cura del tumore al seno.

Ancora complimenti.

In foto il Prof. Curigliano con il Presidente Pirelli e l'Assessore allo Sport, Turismo e Politiche Giovanili del Comune di Milano, Martina Riva.

What's new from IEO Researchers?

Giovanni Aletti nuovo Associate Editor dell'International Journal of Gynecological Cancer.



Giovanni Aletti

Il Dottor Giovanni Aletti è stato ufficialmente nominato Associate Editor dell'International Journal of Gynecological Cancer (IJGC), una delle principali pubblicazioni educative e informative su

argomenti rilevanti per l'individuazione, la prevenzione, la diagnosi e il trattamento delle neoplasie ginecologiche.
Congratulazioni e buon lavoro!

Grazie ad un finanziamento del Ministero della Salute, una rete italiana per sostenere il trasferimento tecnologico dei risultati della ricerca nel settore scienze della vita.



IEO –tramite il suo ufficio di trasferimento tecnologico, IEO-TT– partecipa alla creazione della prima rete italiana di uffici e strutture di trasferimento tecnologico (TTO) nell’ambito delle scienze della vita, co-finanziata dal Ministero della Salute italiano (nell’ambito del Piano Nazionale Complementare, PNC, al Piano Nazionale di Ripresa e Resilienza, PNRR).

Il progetto si chiama PerfeTTO. L’obiettivo di PerfeTTO è quello di sviluppare e potenziare le attività di trasferimento tecnologico e la creazione di nuove imprese innovative (start-up e Spin-off) nel settore delle scienze della vita, promuovendo la cultura del trasferimento tecnologico per supportare la tutela e la valorizzazione dei risultati della ricerca in ambito industriale e clinico e renderli fruibili dai pazienti.

PerfeTTO riunisce 54 centri di eccellenza –tra cui IRCCS, università ed enti di ricerca– in tutta Italia, coordinati dal Centro Cardiologico Monzino IRCCS.

Dal punto di vista pratico, la creazione di questa rete consentirà di redigere, implementare e diffondere attività formative, linee guida, best practice, modelli operativi, database nazionali ed internazionali –grazie anche allo

sviluppo di una innovativa piattaforma informatica basata sull’intelligenza artificiale– ed offrire supporto a dei progetti di ricerca selezionati al fine di favorirne l’avanzamento verso il trasferimento in ambito industriale.

In particolare, il TTO di IEO –diretto da Marzia Fumagalli– è tra i Task Leader di uno dei sette work packages del progetto, il “TT Accelerator”, con

l'obiettivo di creare un programma indirizzato ai TTO per accelerare l'applicazione in ambito industriale dei progetti di ricerca più innovativi e promettenti di PerfeTTO, attraverso l'accesso a competenze specifiche multidisciplinari, affiancato da un percorso di tutoraggio al personale dei TTO.

Grazie a questa rete nazionale, PerfeTTO offrirà strumenti, servizi, competenze e risorse per promuovere il trasferimento tecnologico nelle scienze della vita in Italia.

Congratulazioni e buon lavoro!

What's new from IEO Researchers?

Inaugurazione dell'IEO Proton Center – il centro di proton-terapia dello IEO.



Lo IEO apre le porte dello IEO Proton Center, stabilendo un primato importante: è il primo IRCCS (Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico) del Paese a dotarsi di un proprio centro di Protonterapia per poter offrire a più pazienti italiani questa cura d'avanguardia.

“Con l’apertura del Proton Center realizziamo la promessa che facciamo ogni giorno a chi varca la soglia del nostro Istituto: se c’è una valida cura innovativa nel mondo, in IEO è disponibile o presto lo sarà. La terapia con i protoni permette di curare più tumori, compresi alcuni attualmente orfani di cura, e di curare meglio molti di quelli che oggi ricevono la radioterapia tradizionale. Offre infatti più possibilità di cura sia per i tumori sviluppati in organi critici o in sedi difficili da raggiungere, sia per quelli che non rispondono alla radioterapia convenzionale; comporta inoltre meno rischi di tumori indotti dai raggi, meno tossicità durante e dopo il trattamento. La Protonterapia è dunque davvero innovativa, ma allo stesso tempo consolidata, come dimostrano i risultati ottenuti su oltre 200.000 pazienti trattati con protoni nel mondo. La sua diffusione capillare è tuttavia lenta perché un centro protoni richiede investimenti significativi in tecnologie, strutture e risorse umane. Nel mondo ci sono un centinaio di centri di Protonterapia, in Giappone, USA ed Europa. Attualmente in Italia esistono due centri protoni, a Pavia e a Trento, oltre a un laboratorio dell’INFN

a Catania per melanomi oculari, ma, per quanto eccellenti, queste strutture riescono ad erogare complessivamente non più di 1000 prestazioni all’anno a fronte di una domanda di terapia protonica che, in base alle stime del Ministero della Salute, riguarda 7000 malati oncologici italiani” dichiara Roberto Orecchia, Direttore Scientifico IEO.

In Italia il Ministero della Salute ha fatto rientrare la Protonterapia fra le cure salvavita nel 2015 e nel 2017 l’ha inserita nei LEA (Livelli Essenziali di Assistenza), individuando 10 patologie oncologiche per le quali è considerata appropriata. A seguito del Decreto Tariffe, dal primo gennaio 2024 la Protonterapia entra finalmente tra le prestazioni erogabili dal Sistema Sanitario Nazionale per i cittadini di tutto il territorio italiano.

Nel 2021 l’Istituto Superiore di Sanità ha emesso nuove raccomandazioni per l’uso dei protoni, indicando che i maggiori vantaggi si ottengono nel trattamento di tumori solidi in pazienti pediatrici, tumori localizzati in sedi critiche perché circondati da strutture sensibili, tumori poco responsivi alla radioterapia convenzionale e per i quali è utile un approccio di dose-escalation, oltre che nei casi in cui occorre ridurre la tossicità complessiva dovuta al trattamento in associazione a chemioterapia concomitante.

What's new from IEO Researchers?

Agenas (Agenzia nazionale per i servizi sanitari regionali) e Sics (Società italiana di Comunicazione Scientifica e Sanitaria) premiano il nostro Istituto per l'innovazione in Sanità digitale.



IEO ha ricevuto il Premio Agenas-Sics per l'Innovazione in Sanità Digitale grazie alla sua Piattaforma "Value Based Medicine" per la gestione e il monitoraggio dei percorsi di cura in oncologia. Il riconoscimento va "alle strutture che, mediante le nuove tecnologie hanno saputo migliorare l'accesso ai servizi sanitari e la qualità dell'assistenza, garantendo ai cittadini cure sempre più personalizzate ed efficaci migliorandone la vita" e in particolare IEO è stato premiato per "l'innovatività del progetto in relazione all'uso dell'ICT (Information and Communications Technology), valutandone concretezza, sostenibilità e replicabilità".

"Siamo orgogliosi di questo riconoscimento al nostro programma di gestione delle "performance cliniche", che premia un impegno di anni. Il Piano Oncologico Nazionale 2023-2027 indica come

punto fondamentale la "qualità della vita e il reinserimento sociale" dei pazienti, introducendo indirettamente per la prima volta il bisogno di un nuovo metodo di valutazione della buona sanità" dichiara Roberto Orecchia, Direttore Scientifico IEO.

"IEO quasi dieci anni fa ha sposato l'idea della Medicina del Valore, che significa garantire i migliori risultati clinici possibili nel modo più efficiente possibile. Di conseguenza abbiamo iniziato a cercare e studiare nuovi parametri di misurazione della qualità dei risultati clinici. Per noi il concetto di risultato clinico non si traduce unicamente in sopravvivenza nel breve periodo (basso tasso di mortalità o complicanze) o nel lungo periodo (sopravvivenza oncologica) ma anche nel prestare attenzione al recupero clinico, funzionale e psicologico (in sintesi alla qualità della

vita) dei nostri pazienti” sostiene Massimo Monturano, Responsabile Area Medicina del Valore e Risultati Clinici IEO.

I risultati clinici sono rendicontanti in modo aggregato ai cittadini on line in una sezione dedicata nella home page del nostro sito.

“Per raccogliere ed analizzare in modo dinamico tutte le informazioni necessarie del programma di

gestione delle “performance cliniche” è stata realizzata un’apposita ed innovativa piattaforma informatica totalmente autofinanziata dall’Istituto, che ci consentirà di rafforzare il legame ospedale-paziente-territorio” conclude Annarosa Farina, Direttore Sistemi Informativi IEO.

What's new from IEO Researchers?

Grazie all'investimento di un partner industriale, il nuovo trattamento immunoterapico per la T-ALL -sviluppato attraverso la piattaforma IEO iRASP- entra in una nuova fase di sviluppo preclinico.



Uno dei problemi principali dell'immunoterapia è l'identificazione di antigeni tumorali appropriati, ovvero proteine esclusivamente –o principalmente– espresse sulla superficie delle cellule tumorali, in grado di guidare una risposta immunitaria antitumorale specifica. iRASP Therapeutics è una innovativa piattaforma preclinica sviluppata all'Istituto Europeo di Oncologia (IEO), sotto la direzione del Dr Paul E. Massa, del Prof. Pier Giuseppe Pelicci e del Prof. Saverio Minucci. L'obiettivo di iRASP è quello di sviluppare delle nuove immunoterapie contro tumori umani ad oggi non trattabili, impiegando un approccio "agnostico all'antigene", ovvero selezionando direttamente in vivo nuovi anticorpi contro cellule tumorali umane, senza conoscere a priori la specifica proteina (l'antigene) espressa

dalle cellule tumorali, ma solo sulla base della capacità degli anticorpi di riconoscere le cellule tumorali, interagendo in maniera trascurabile con le cellule sane. iRASP ha permesso l'identificazione di un primo anticorpo per il trattamento della leucemia linfoblastica acuta a cellule T (T-ALL) primaria e recidiva colpendo un antigene precedentemente sconosciuto.

Grazie ad un finanziamento totale di circa 900.000 euro da parte di Extend, il progetto sta ora entrando in una nuova fase di sviluppo preclinico attraverso un percorso per obiettivi che, se superati con successo, porterà alla costituzione di una start up dedicata a proseguirne lo sviluppo clinico. Extend è il Polo Nazionale di Trasferimento Tecnologico interamente dedicato al settore biofarmaceutico, ovvero una piattaforma che

unisce competenze scientifiche, tecniche e commerciali al fine di promuovere lo sviluppo industriale dei risultati della ricerca accademica verso il mercato, così da tradurre le nuove scoperte scientifiche in effettivi benefici per i pazienti. Extend è un'iniziativa creata da CDP Venture Capital, attraverso il suo Fondo Tech Transfer e con il co-investimento dei partner Evotec e Angelini Ventures.

Grazie al lavoro congiunto dei ricercatori coinvolti –Paul Massa, Pier Giuseppe Pelicci, Saverio Minucci– e del team di IEO-TT, ufficio di trasferimento tecnologico di IEO, coordinato dalla

Dott.ssa Marzia Fumagalli, con il supporto e la fiducia di Extend insieme alle competenze di Evotec, il nuovo immunoterapico sviluppato in IEO sta compiendo un passo avanti verso il suo potenziale futuro utilizzo in ambito clinico, per il trattamento dei pazienti con T-ALL.

Inoltre, iRASP è stata applicata anche ad altri tipi di tumore, consentendo l'identificazione di diversi potenziali candidati anticorpi, dimostrando il suo possibile utilizzo per l'identificazione di anticorpi terapeutici praticamente contro ogni tipo di tumore.

What's new from IEO Researchers?

Clinical Trial Office: 1° posto nella categoria Health Literacy al concorso “Patient Engagement Award”.



Il Clinical Trial Office IEO lo scorso 17 novembre 2023 si è classificato al 1° posto nella categoria Health Literacy al concorso “Patient Engagement Award” indetto da Helaglobe durante l’incontro annuale di Insieme Per “EngageLab – Il progetto di engagement ideale”.

Il progetto, presentato da Ines Tedeschi e Maria Teresa Lionetti, aveva come titolo “Patient Empowerment nella Ricerca Clinica” e mirava a descrivere come il CTO dia fondamentale importanza al Patient Empowerment all’interno del nostro Istituto, implementando e migliorando la divulgazione della cultura della Ricerca Clinica ai pazienti, attraverso la Health Literacy.

Fornire gli strumenti per comprendere cosa sia la Ricerca Clinica è essenziale per permettere ai

pazienti di diventare consapevoli, così da poter partecipare attivamente al proprio percorso di cura. Alfabetizzare in termini di Ricerca Clinica significa promuovere il Patient Empowerment, che vogliamo diventi sempre più inclusivo, rivolgendosi a tutti cittadini, perché tutti i cittadini hanno il diritto di comprendere in cosa consista la Ricerca Clinica e perché sia così importante.

Il Patient Empowerment permette inoltre di creare un circolo virtuoso in un’ottica ulteriore di Patient Engagement, coinvolgendo i pazienti e le loro Associazioni sui tavoli di lavoro all’interno della Ricerca Clinica. A tal fine il CTO IEO da un lato si muove fornendo sempre più strumenti a sostegno dell’empowerment e dell’engagement dei pazienti, dall’altro si impegna nel dare

fondamentale importanza al confronto. Confronto con le Aziende, con le Associazioni che si occupano di Ricerca Clinica, con le Associazioni dei Pazienti, con le Associazioni di Volontariato a sostegno dei pazienti e con gli enti che hanno come mission la divulgazione della cultura della Ricerca Clinica. Helaglobe, l'azienda che ha organizzato questo concorso, è impegnata da oltre dieci anni a ideare

e realizzare progetti e soluzioni differenzianti per il mondo della salute, che migliorino la qualità di vita delle persone con patologia. La sua mission è consentire loro di accedere nel modo più ampio, semplice e veloce possibile alla soluzione di salute più appropriata e vivere al meglio la propria quotidianità con la patologia.

What's new from IEO Researchers?

Premio Unamsi per la Medicina 2023.



La Prof. Nicoletta Colombo, Direttore del Programma Ginecologia IEO, ha ricevuto il 'Premio Unamsi per la Medicina 2023' nel corso dell'annuale appuntamento natalizio promosso a

Milano dall'Unione Nazionale Medico Scientifica di Informazione (UNAMSI).

A lei, "da 40 anni in prima linea negli studi sui tumori ginecologici", vanno le nostre congratulazioni e i migliori auguri di buon lavoro!

What's new from IEO Researchers?

Allo IEO un nuovo “pace-maker” contro il dolore.



Complimenti al team del Dottor Vittorio Guardamagna, Direttore Cure Palliative e Terapia del Dolore IEO, che ha di recente eseguito l'impianto del nuovo stimolatore del midollo spinale Inceptiv che rileva i segnali lungo il midollo spinale e regola la stimolazione degli impulsi nervosi attimo dopo attimo, proprio come fa il pace-maker con gli impulsi elettrici che regolano il ritmo del cuore. La stimolazione del midollo

spinale interrompe i segnali di dolore che viaggiano tra il midollo spinale e il cervello, evitando al paziente di percepire il dolore.

Grazie al lavoro della nostra equipe, lo IEO è fra i primi ospedali in Italia ad offrire ai pazienti con dolore cronico un “pace-maker contro il dolore” di ultima generazione.

Scopri di più, leggi [qui](#) la news.

IEO MEMBERS - LET'S GET TO KNOW THEM BETTER

Alice Barbaglio



Il primo libro di biologia che ho aperto a circa sei anni è stato un libro sugli squali che aveva a casa mio papà sul comodino. In sostanza ho imparato a leggere e a studiare biologia in contemporanea. Carpire un pezzetto nuovo di conoscenza e capire i meccanismi alla base dei processi continuano ad essere una passione e una spinta a livello lavorativo. Dopo un dottorato in Biologia animale dedicato alla morfologia funzionale degli echinodermi (invertebrati marini che forse non sapete di conoscere tutti), ho continuato a fare ricerca in Italia, con qualche puntata in Spagna, Portogallo e Scozia, esplorando i meccanismi ultrastrutturali, biochimici e fisiologici che regolano la tensilità dei tessuti connettivi. In ultimo ho lavorato alla progettazione di biomateriali derivati da fonti alternative di collagene. Nel 2014 sono saltata dall'altra parte della barricata verso il research management solo per accorgermi che la barricata non esiste. Ho iniziato a lavorare nel team dedicato alla progettazione dell'Università Statale di Milano per supportare chi volesse navigare nel mondo dei finanziamenti. Dal 2022 lavoro qui al Grants Office IEO dove ho potuto allargare le mie competenze anche al settore della gestione dei progetti finanziati. Da quest'anno poi contribuisco come Associate Ambassador al progetto RM Roadmap finanziato dalla Commissione Europea e volto a definire e valorizzare la figura professionale del Research Manager.

Mirko Doni



Ho vissuto gran parte della mia vita ad Arconate, un paesino fra il Parco dell'Alto Milanese e il Parco Lombardo della Valle del Ticino, un contesto in cui è difficile non rimanere ammaliati dalla bellezza e dalla varietà che la natura ci regala. Credo che proprio da qui nasca la mia passione per le scienze della vita nella sua totalità e per questo abbia iniziato un percorso che dapprima mi ha portato a iscrivermi al liceo scientifico e poi al corso di laurea in Chimica e Tecnologia Farmaceutiche. La prima volta che ho messo piede in un laboratorio di biologia è stata durante la tesi di laurea nel Laboratorio di Farmacologia Clinica Cardiovascolare all'Istituto Mario Negri, un'esperienza formativa unica. Ma è stato successivamente, durante un Master in Management Sanitario Farmaceutico svolto alla LIUC che ho potuto conoscere IEO e la sua mission. Così nel 2004 sono entrato a fare parte della squadra dell'Oncologia Sperimentale, dapprima nel gruppo di Bruno Amati, poi nell'Unità di Screening e come volontario nella messa a terra del Lab Covid. Ora sono assistente di ricerca nel gruppo coordinato da Susanna Chiocca. Mi reputo una persona fortunata perché faccio ciò che mi piace e, al di là delle soddisfazioni scientifiche con circa 30 lavori pubblicati e un h-index di 19, la soddisfazione maggiore la trovo nel poter insegnare alle nuove generazioni ciò che ho imparato negli anni, cercando di infondere loro entusiasmo per la scienza e per la vita.

IEO MEMBERS - LET'S GET TO KNOW THEM BETTER

Claudia Iavarone



Originaria della provincia di Napoli, ho studiato Scienze Biotecnologiche all'Università degli Studi "Federico II" di Napoli conseguendo nel 2009 la laurea magistrale in Biotecnologie Mediche. Nel 2010 mi sono trasferita a Milano dove ho iniziato il dottorato in Medicina Molecolare della SEMM e dove, nel laboratorio del Prof. Pier Paolo Di Fiore all' IFOM, ho lavorato su un progetto di ricerca focalizzato sul tumore della mammella. Dal 2014 al 2018 ho vissuto a Boston dove ho lavorato come postdoc nel laboratorio di Joan Brugge ad Harvard Medical School conducendo ricerca preclinica e translazione per identificare nuovi trattamenti terapeutici per il tumore dell'ovaio. Dal 2019 lavoro nell'ufficio di trasferimento tecnologico di IEO - IEO-TT - dove mi occupo dell'identificazione, tutela e valorizzazione dei risultati più promettenti e innovativi della ricerca condotta in IEO. L'amore per la biologia è nato sui banchi del liceo durante una lezione di biologia in cui si spiegava la tecnica della PCR (Polymerase Chain Reaction) che mi ha lasciato davvero incuriosita di quanto potesse accadere in un piccolissimo tubicino di plastica. Questa passione mi ha portato a percorrere tanti km fino ad arrivare oltreoceano nel cuore pulsante della ricerca biomedica internazionale dove mi sono resa conto che la mia passione andava al di là di un bancone di laboratorio e ho iniziato ad arricchire il mio bagaglio di competenze con corsi sulla ricerca clinica e sul business management. Oggi, ormai milanese d'adozione, sono mamma di due meravigliose bimbe (italo-americana una e milanese di nascita l'altra) e sono orgogliosa di far parte di IEO e di IEO-TT e di poter esplorare e supportare i processi e le attività che trasformano i risultati di un progetto di ricerca in innovazione che arriva fino al paziente.

Simona Rodighiero



Nel 1999 ho conseguito la laurea magistrale in scienze biologiche, specializzandomi in elettrofisiologia, all'Università di Milano. Nel 2004 ho completato il mio dottorato, studiando il modo in cui le correnti ioniche regolano il volume cellulare. Ho ampliato le mie competenze, includendo tecniche come laser scanning confocal microscopy and Fluorescence Resonance Energy Transfer (FRET). Dal 2005 al 2009, ho diretto l'unità di microscopia confocale del CIMaNa e, dal 2008, alla fondazione Filarete ho lavorato come tecnologa e coordinatrice delle microscopia ottica. I progetti comprendevano l'internalizzazione di nanoparticelle, l'adesione cellulare, le interazioni proteina-proteina, i trasporti ionici transmembrana e la microscopia correlativa. Nel 2015 mi sono trasferita al ETH Zürich come Staff Scientist e lecturer, coordinando il programma di training in microscopia (Microscopy Training Program, MTP). Gestendo quattro microscopi elettronici, ho agevolato il training combinando lezioni teoriche e pratiche su microscopia elettronica, ottica e correlativa. I corsi organizzati, tra cui il corso ETHZ per studenti di master e dottorandi, trattava tecniche di base e avanzate. Nel 2018, sono diventata parte dell'Istituto Europeo di Oncologia, coordinando l'unità di imaging. Collaborando con i ricercatori del dipartimento, offro assistenza in esperimenti di microscopia ottica, sfruttando tecniche come la microscopia wide-field, confocale, time-lapse, e super-resolution su diversi tipi di tessuto, tra cui tessuti umani dall'IEO ospedale. Il mio gruppo ed io siamo attivamente coinvolti nei corsi di microscopia e analisi di immagini alla Scuola Europea di Medicina Molecolare (SEMM) e in attività pratiche di laboratorio per gli studenti dell'università, enfatizzando l'importanza di impartire competenze tecniche e metodologiche alla prossima generazione di scienziati. Sono orgogliosa di essere co-autrice di 45 pubblicazioni in riviste internazionali peer-review, che riflettono la mia dedizione al progresso della conoscenza scientifica in ambito biologico.

IEO MEMBERS - LET'S GET TO KNOW THEM BETTER

Sabrina Tamburini



Sono professoressa associata in Microbiologia presso il dipartimento di Scienze Molecolari e Nanosistemi all'università Ca' Foscari Venezia e Group Scientist al Dipartimento di Oncologia Sperimentale di IEO. Qui sono a capo di un progetto di ricerca sul microbioma intestinale nell'invecchiamento sano e sono interessata alla comprensione del ruolo del microbioma intestinale nel modulare il rischio di tumore, prevenire lo sviluppo del tumore e nella risposta al trattamento antitumorale, soprattutto in relazione ad approcci di immunoterapia.

Ho ottenuto il dottorato in Microbiologia nell'ambito del programma di dottorato internazionale in Scienze Biomolecolari al CIBIO, Università di Trento (Italia) e ho proseguito la mia formazione con un post doc presso il Dipartimento di Genetica e Scienze Genomiche della *Icahn School of Medicine at Mount Sinai* (New York, USA) dove ho sviluppato un saggio di vitalità per analizzare *i.* il microbioma intestinale vitale durante il trapianto di microbiota fecale in pazienti con *Clostridium difficile*; *ii.* il microbioma nasale e la sua relazione con l'esposizione a fumo passivo; *iii.* le modificazioni profonde del microbioma intestinale nei bambini nati con parto cesareo.

Grazie al mio lavoro ho ricevuto il Robin Chemers Neustein Postdoctoral Fellowship Award, per ricercatrici di talento nelle fasi iniziali della loro carriera, in riconoscimento del talento e dell'innovazione nell'ambito delle scienze biomediche.

Alessandro Verrecchia



Inizialmente il mio viaggio nella scienza sarebbe potuto terminare dietro il bancone di una farmacia a dispensare consigli e farmaci, ma al momento di scegliere tra tesi compilativa e sperimentale per ottenere la laurea in Farmacia, la curiosità di sperimentare e il fascino di microscopi e provette ebbe il sopravvento. Colpa dei fumetti della Marvel...

Fu così che entrai nel laboratorio di Endocrinologia della Facoltà di Farmacia e da quel momento sciroppi, compresse e fustelle svanirono come il vapore di un fumo. Il legame con l'endocrinologia si rafforzò con il Diploma di Specializzazione in Endocrinologia Sperimentale conseguito mentre frequentavo il laboratorio di Tossicologia Epatica all'Istituto Mario Negri da cui, dopo tre anni, passai all'Ospedale San Raffaele. Lì rimasi per altri undici anni. Prima presso il laboratorio di Experimental Hematology and Gene Therapy dove ebbi l'opportunità di occuparmi di quello che era diventato il mio vero interesse: la biologia molecolare applicata allo studio dei meccanismi biologici e alla terapia. Il nostro laboratorio poi venne inserito nel nascente Telethon Institute for Gene Therapy (TIGET) e lì mi concentrai sullo sviluppo di vettori retro e lentivirali. Gli ultimi due anni al San Raffaele li passai nel reparto ricerca e sviluppo di Molmed, una biotech company di terapie geniche e cellulari per la cura del cancro e malattie rare. Nel 2004 sono arrivato in IEO, nel laboratorio di Bruno Amati come Senior Technician dove attualmente mi occupo principalmente di Genome Editing utilizzando la tecnologia CRISPR-Cas9.

What's new in science?

Microglia anti-tumor activity counters brain metastases.

In the brain, T cells and microglia interact to limit tumor progression: Upon stimulation by tumor cells, microglia activates an inflammatory response; the ensuing recruitment of T cells within the tumor mass induces a full activation of microglial cells and their antitumor activity.

Around 15-30% of patients with advanced stage breast cancer display metastases in the brain. While the depletion of tumor-associated macrophages (TAMs) results in increased tumor progression (indicating a tumor-promoting role of TAMs), the role of microglia –which represent the great majority of immune cells in the brain–, and as a consequence its potential as immunotherapy tool, is currently unknown.

Main finding. In a paper recently published in Nature Cell Biology, the authors demonstrate the antitumor effect of microglia which, by promoting T and NK cells, is capable of limiting brain metastases progression. T cells in turn promote microglia activity, eliciting the full activation of microglia cells and their antitumor activity.

Results. By analyzing (by single cell RNAseq), in preclinical models, gene expression of immune cells infiltrating breast cancer brain metastases (obtained by injection of GFP-labeled breast cancer cells in the circulation), the authors identified a specific microglia population present almost exclusively in the metastatic brain. The gene expression profile of these metastases-associated microglia cells was rather different from control microglia, displaying the upregulation of multiple intracellular pathways typical of pro-inflammatory response (such as the “secretory pathway” –SP–, with cytokine production, “antigen processing and presentation” –AP–, and “response to IFN- β ” –IFN).

“the depletion of tumor-associated macrophages results in increased tumor progression, indicating a tumor-promoting role of these cells”

In genetically modified mouse models (engineered through the removal of an enhancer in the Csf1r locus called FIRE element) lacking microglia cells (but retaining most brain resident macrophages and bone marrow-derived myeloid cells), the authors observed a rapid metastatic progression, pointing to an anti-tumoral role of microglia cells, as opposed to the pro-tumoral role of TAMs.

In addition to showing metastasis progression, mice lacking microglia cells also displayed decreased T cell response to metastases (specifically, reduced number of T cells in the metastatic mass) and almost complete absence of NK cells, indicating that, when present, microglia cells sustain NK and T cells against the tumor. In case of T cell depletion, instead, microglia cells were not capable of arresting tumor growth, and metastases progressed.

Interestingly, in these mice lacking T cells, microglia cells showed lower expression of activation markers, suggesting that T cells were needed to trigger a full activation of microglia. In particular, gene expression analysis showed that, in absence of T cells, microglia activated the IFN and PS programs but did not activate the AP program, indicating that the latter one is indeed dependent on T cells.

Finally, they verified that these mechanisms described in mouse microglia were conserved in human microglia. Interestingly, upregulation of AP and PS programs in metastatic brain microglia correlated with better patient survival, while higher activation of IFN response genes associated

with worse patient survival, suggesting that the microglia-mediated inflammatory response can be beneficial for patients, but highlighting the key role of T cells in the process, as the lack of T cells-induced activation of specific pathways leads to incomplete microglia activation and worse patient prognosis.

Conclusions. This work suggests the potential of microglia as a possible pharmaceutical target to

“...the potential of microglia as a possible pharmaceutical target to counter metastatic progression in the brain”

counter metastatic progression in the brain, revealing an interplay between T cells and microglia cells, in which T cells sustain a full anti-tumor microglia activation: Upon stimulation by cancer cells, microglia upregulate first PS and IFN pathways; the ensuing T cell recruitment in the tumor mass induces the full activation of microglia cells, with the upregulation of the AP pathway.

Reference. Microglia promote anti-tumour immunity and suppress breast cancer brain metastasis. Evans KT, Blake K, Longworth A, Coburn MA, Insua-Rodríguez J, McMullen TP, Nguyen QH, Ma D, Lev T, Hernandez GA, Oganyan AK, Orujyan D, Edwards RA, Pridans C, Green KN, Villalta SA, Blurton-Jones M, Lawson DA. Nature cell biology 2023. doi: 10.1038/s41556-023-01273-y.

What's new in science?

Cell mechanisms regulating cancer cell dormancy and tumor recurrence.

Dormant cancer cells are characterized by a specific gene signature and fuel tumor recurrence. In particular, the B3GALT6/HS6ST1/FGF1/FGFR2 axis plays a key role in the survival of dormant cancer cells, which in turn support recurrence, thus representing a targetable mechanism to kill dormant cancer cells and prevent disease relapse.

Cancer recurrence is caused by cancer cell subpopulations that manage to survive treatment, likely by remaining in a non-proliferative “dormant” state, and then resume proliferation and sustain tumor growth. Eliminating this cell subpopulation would thus result in breast cancer eradication, preventing tumor relapse. Therefore, identifying the specific features of dormant cancer cells (either in the primary tumor or at metastatic sites) enabling them to thrive under treatment would offer novel therapeutic targets to kill dormant cancer cells and eradicate the tumor.

Main finding. In a paper recently published in *Cancer Cell*, the authors unveil the key role of B3GALT6/HS6ST1/FGF1/FGFR2 axis in regulating cancer cell dormancy.

Results. The authors employed two models of breast cancer dormancy: A targeted therapy-induced model and a microenvironment-induced model. In the first model, the inhibition of oncogenic pathways mirrors what happens upon targeted therapy, with the survival of some dormant cancer cells that then re-enter the cell cycle and fuel tumor recurrence (even though they are not capable of re-forming primary tumors). The other model, instead, is represented by two cell lines that grow at a similar rate in 2D cultures (namely in the absence of the tumor microenvironment), but in 3D cultures or *in vivo* (when the microenvironment is present), one of them becomes dormant, so less proliferative.

“The B3GALT6/HS6ST1/FGF1/FGFR2 axis plays a key role in the survival of dormant recurrence-inducing cancer cells, representing a potential novel target to interfere with dormancy and thus prevent tumor recurrence”

Dormant cells were characterized by dormancy-specific gene signatures, which largely overlapped in the two models. Independently from the stimulus triggering dormancy –either therapy or microenvironment– these gene signatures included downregulated genes –such as cell cycle genes– and upregulated genes –such as genes associated with the extracellular matrix. The dormancy state was reversible.

Interestingly, the genes of the dormancy signature were enriched also in residual tumors in patients that underwent neoadjuvant therapy (namely treatment administered before surgical resection of the primary tumor), independently from the type –chemo or endocrine– or duration of therapy. Moreover, this dormancy gene signature was capable of predicting tumor recurrence. Among the dormancy signature genes, they observed that B3GALT6 was needed for the survival of dormant cancer cells. B3GALT6 activity is required for the synthesis of specific molecules on the cell surface, including heparan sulfate. B3GALT6 depletion resulted in reduced heparan sulfate and increased dormant cell death, indicating that B3GALT6 –when present– increased heparan sulfate and promoted dormant cell survival.

If B3GALT6 affects dormant cell survival and dormancy affects recurrence, then, does B3GALT6 affect recurrence? When preclinical *in vivo* models were injected with dormant cells depleted of

B3GALT6, tumor recurrence was drastically delayed, indicating the key role of B3GALT6.

In-depth mechanistic investigation showed that dormant cancer cells upregulated the B3GALT6/HS6ST1/FGF1/FGFR2 axis; namely, during dormancy, the higher levels of heparan sulfate due to the increased expression of B3GALT6 promoted FGF1 signaling, fostering dormant cell survival. Indeed, FGF1 depletion or FGFR2 deletion reduced dormant cell survival. Similarly, B3GALT6 deletion resulted in decreased dormant cell viability in response to exogenous FGF1 stimulation, which was rescued by heparin (a variant of heparan sulfate) treatment. Consistent with the reduced survival of dormant cancer cells upon deletion of these genes, amplification of

these genes led to increased FGF1 pathway activity, enhanced dormant cancer cell survival and sustained recurrence in breast cancer patients. Moreover, increased activity of the FGF1 pathway was found also in residual tumors after neoadjuvant therapy.

Conclusions. The authors demonstrated that dormant cancer cells are characterized by a specific gene signature enriched with extracellular matrix genes and fuel tumor recurrence. They unveiled the key role of B3GALT6/HS6ST1/FGF1/FGFR2 axis in the survival of dormant recurrence-inducing cancer cells, offering potential novel targets to interfere with dormancy and thus prevent tumor recurrence.

Reference. B3GALT6 promotes dormant breast cancer cell survival and recurrence by enabling heparan sulfate-mediated FGF signaling. *Amulya Sreekumar, Michelle Lu, Biswa Choudhury, Tien-Chi Pan, Dhruv K Pant, Matthew R Lawrence-Paul, Christopher J Sterner, George K Belka, Takashi Toriumi, Brian A Benz, Matias Escobar-Aguirre, Francesco E Marino, Jeffrey D Esko, Lewis A Chodosh.* Cancer Cell 2023.

What's new from IEO Researchers?

By ignoring external stress, cancer cells survive in the hostile tumor microenvironment and promote cancer evolution.

In a recent paper, researchers supervised by Paola Scaffidi –PI at the dept of experimental oncology of IEO– describe the set-up of a protocol for large scale analyses of loss of function mutations in hundreds of genes with a putative role in preventing tumorigenesis, in order to investigate in depth the role of such genes on cancer cell survival in the hostile conditions of the tumor microenvironment (such as limited nutrient availability, drug treatment, hypoxia-induced microenvironmental acidification). The functional effects of (CRISPR-Cas9-induced) mutations can be detected through a number of different assays

(immunofluorescence, live cell imaging, luminescence, colorimetric assays) and, thanks to the high sensitivity, even subtle mutations-elicited effects on cell functioning, which may be otherwise missed, can be detected.

By applying this protocol, the authors previously explored the effects of loss of function mutations, commonly found in cancer patients, in over 300 genes involved in shaping cancer cell epigenetic profile, namely in regulating those modifications of the DNA and proteins responsible for the modulation of gene expression. Their study showed that by disrupting the function of epigenetic regulators, and thus altering the epigenetic profile of cancer cells, they interfered with the specific mechanisms enabling cancer cells to respond to stimuli from the microenvironment, which resulted in a growth advantage: Epigenetically-disrupted cells are unable to induce cell death programs in response to signals from the hostile tumor microenvironment; conversely, they end up keeping high expression levels of proliferation genes, thus gaining an advantage that fosters cancer growth. Therefore, the lost ability to efficiently respond to stress de facto results in an acquired advantageous trait.

In conclusion, by exploiting this protocol, the authors proposed a mechanism through which cancer cells may turn a lost function into

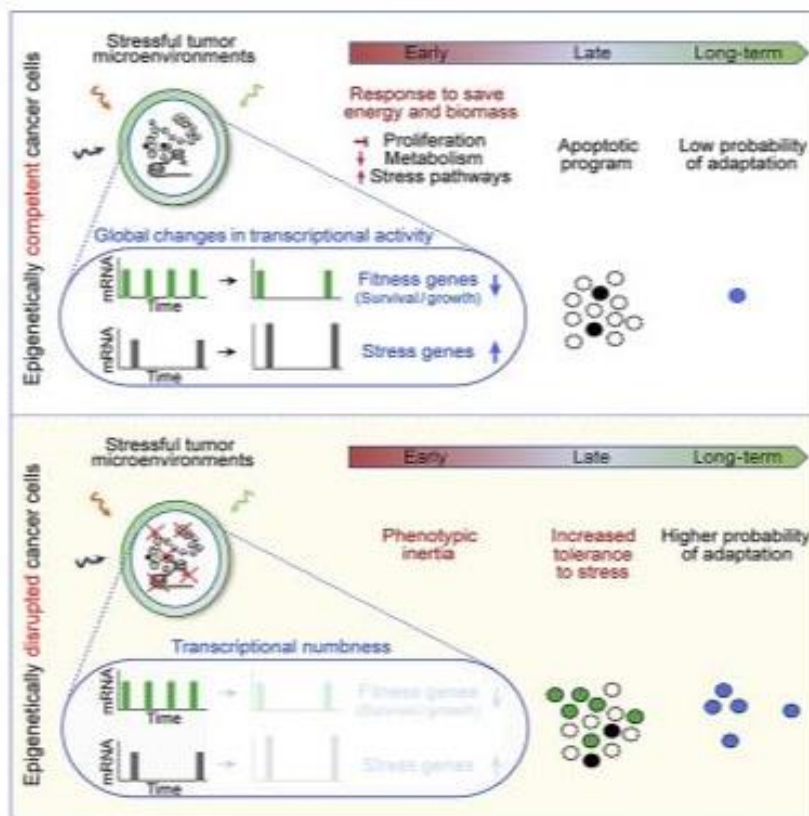


Figure from Loukas, Simeoni et al., Cancer cell 2023. *

an advantage: By losing the activity of some epigenetic factors, cancer cells may be able to ignore the numerous stress signals encountered during metastatic dissemination or therapy, and survive. This ability of cancer cells to ignore external stressors –namely, the “phenotypic

inertia”– together with the capability to adapt to external stimuli through the activation of specific intracellular pathways –the so-called cell plasticity– may contribute to support cancer growth. In epigenetically-disrupted cells, phenotypic inertia is likely to be prevalent.

References.

CRISPR-based large-scale modeling of loss-of-function mutations to investigate mechanisms of stress resistance in cancer. *Fabrizio Simeoni, Ioannis Loukas, Thomas Stuart Wilson, Paola Scaffidi*. STAR Protoc 2023.

Selective advantage of epigenetically disrupted cancer cells via phenotypic inertia. *Ioannis Loukas, Fabrizio Simeoni, Marta Milan, Paolo Inglese, Harshil Patel, Robert Goldstone, Philip East, Stephanie Strohbuecker, Richard Mitter, Bhavik Talsania, Wenhao Tang, Colin D H Ratcliffe, Erik Sahai, Vahid Shahrezaei, Paola Scaffidi*. Cancer Cell 2023. doi: 10.1016/j.ccell.2022.10.002.

* (Figure from Loukas et al. (an open access [article](#) under the [CC BY](#) license.)

What's new from IEO Researchers?

Ugo Cavallaro wins a grant from the OCRA foundation to investigate the molecular mechanisms underlying ovarian cancer patient response to therapy.

High grade serous ovarian cancer is a highly lethal disease. Indeed, despite treatment, metastatic dissemination, as well as drug resistance and ensuing relapse, result in poor patient prognosis, highlighting the need for new and more effective treatment strategies.

In collaboration with Alberto Cicia's team at the Columbia University of New York, and Adekunle Odunsi's team at the University of Chicago, Ugo Cavallaro, director of the Unit of Gynecological Oncology Research, won a grant from the Ovarian Cancer Research Alliance (OCRA), the largest American charity supporting ovarian cancer research in the world. With a highly selective

evaluation process, only the most innovative and promising projects are funded.

By bringing together their complementary expertise, in collaboration with Nicoletta Colombo at IEO, and exploiting state of the art, patient-derived experimental preclinical disease models that take into consideration the tumor microenvironment component, the researchers will unravel the specific mutations affecting the response of ovarian cancer patients to treatment with PARP inhibitors and immune checkpoint inhibitors.

The researchers will explore the effects of a defective DNA damage response –commonly disrupted in ovarian cancer– in patient response



Ugo Cavallaro and his team.

to treatment. In particular, by exploiting their recently developed, CRISPR-based high throughput platform, they will screen thousands of mutations in genes involved in DNA damage response and will investigate their impact on cancer cell survival upon treatment with PARP inhibitors and immune checkpoint blockade. Those mutations affecting cancer cell fitness will be further analyzed, in order to assess their impact on genome stability and the potential effects on the activation of an antitumor immune response – through the generation of neoantigens, namely aberrant proteins synthesized by cancer cells due to the gene alterations introduced and the ensuing defective cancer cell ability to repair

“by exploiting their recently developed, CRISPR-based high throughput platform, they will screen thousands of mutations in genes involved in DNA damage response and will investigate their impact on cancer cell survival upon treatment with PARP inhibitors and immune checkpoint blockade”

damaged DNA. Their results will be finally validated in a clinical context, by verifying the presence of the characterized mutations in patients sensitive or resistant to combined Olaparib, Durvalumab, and Tremelimumab treatment (namely, PARP inhibitors and immune checkpoint blockade). Mechanisms repairing damaged DNA are frequently defective in ovarian cancer; yet how such alterations have an impact on treatment efficacy is currently unknown. By understanding this mechanistic link, their work will enable to improve the clinical outcome of ovarian cancer patients, by identifying those potentially responding to therapy, as well as to design more effective treatments tailored on the basis of the specific patient genetic profile.

What's new from IEO Researchers?

Papillomavirus (HPV) infection affects sensitivity to chemotherapy of head and neck cancer cells, by interfering with autophagy.

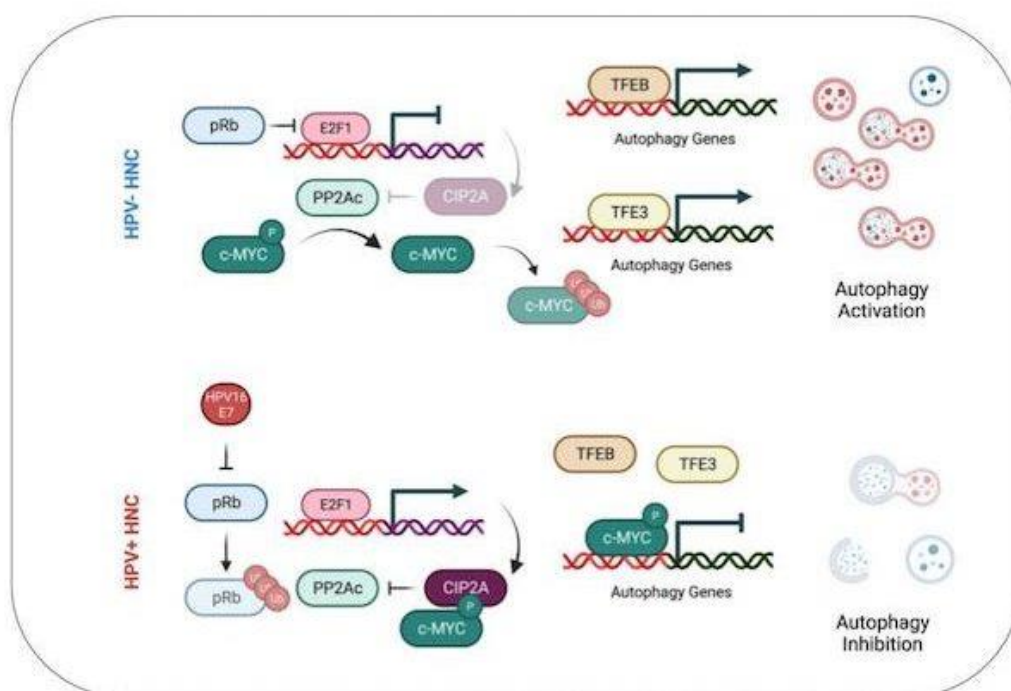


Figure from Medda et al., Cell death and disease 2023. *

Head and neck cancers (HNC) are tumors of the upper aerial tract. Tobacco and alcohol consumption as well as HPV infections are the main risk factors for HNC. Although HPV-induced HNC is molecularly different from HPV-negative cancers, patients are treated the same way. However, a better understanding of their specific biological and molecular features would allow for a more efficient patient treatment.

In a paper, by Alessandro Medda et al., recently

published in Cell death and disease, researchers supervised by Susanna Chiocca –PI at the dept of experimental oncology of IEO– showed that autophagy, Myc and CIP2A proteins are implicated in HPV-induced HNC biology and sensitivity to chemotherapy.

Autophagy is a cell process through which cells degrade and recycle damaged cell components. The authors observed the inhibition of autophagy in HPV-positive HNC cells. Mechanistically, HPV proteins E6 and E7

“autophagy, Myc and CIP2A proteins are implicated in HPV-induced HNC biology and sensitivity to chemotherapy”

modulated –specifically, enhanced– the expression of CIP2A protein. The increased CIP2A expression in turn led to a greater phosphorylation of Myc which augmented protein stability. Indeed, in HPV-positive cells, Myc binding to autophagy genes was increased as compared to HPV-negative cells. Previous studies demonstrated that Myc acts as a repressor of autophagy and, indeed, in HPV-positive HNC cells, in which Myc was more stable and more abundant, autophagy was reduced. Conversely, in these cells, the binding of TFEB and TFE3 proteins –which are known autophagy promoters– was decreased. Moreover being responsible for Myc stabilization, CIP2A expression was inversely correlated with autophagy: While in HPV positive cancer cells autophagy was inhibited, CIP2A silencing restored the activity of the autophagy pathway. CIP2A expression was also higher in HPV-positive patient HNC samples as compared to HPV-negative samples. What was the effect of HPV-elicited autophagy modulation on tumor cells? Autophagy is known

to be a key mechanism in chemoresistance; indeed, inhibition of autophagy increases cell sensitivity to treatment. The authors showed that in HPV-positive HNC cells, reducing Myc or CIP2A expression (which, instead, impair autophagy when expressed), by fostering autophagy, enhanced resistance of HPV-positive HNC cells to therapy (with cisplatin). Notably, the effect was specific for HPV-positive HNC cells, being dependent on HPV proteins regulation of autophagy. In conclusion, the authors showed that HPV proteins modulate HNC cells physiology, by regulating (specifically, increasing) CIP2A expression, which in turn increases (through phosphorylation) Myc stability, resulting in higher Myc levels. Higher Myc presence results in greater Myc repression of the autophagy pathway, in turn increasing cancer cell sensitivity to chemotherapy. These results may pave the way to novel autophagy-targeting therapeutic approaches for HPV-induced HNC cancer patients.



Susanna Chiocca

Referenza. c-MYC-dependent transcriptional inhibition of autophagy is implicated in cisplatin sensitivity in HPV-positive head and neck cancer. *Alessandro Medda, Micaela Compagnoni, Giorgio Spini, Simona Citro, Ottavio Croci, Stefano Campaner, Marta Tagliabue, Mohssen Ansarin, Susanna Chiocca.* Cell Death Dis 2023. doi: 10.1038/s41419-023-06248-3.

* Figure from Medda et al. (an open access [article](#) under the [CC BY](#) license.)

What's new from IEO Researchers?

Mutations of p53 induce a deep metabolic reprogramming of cancer cells that sustains cancer growth.

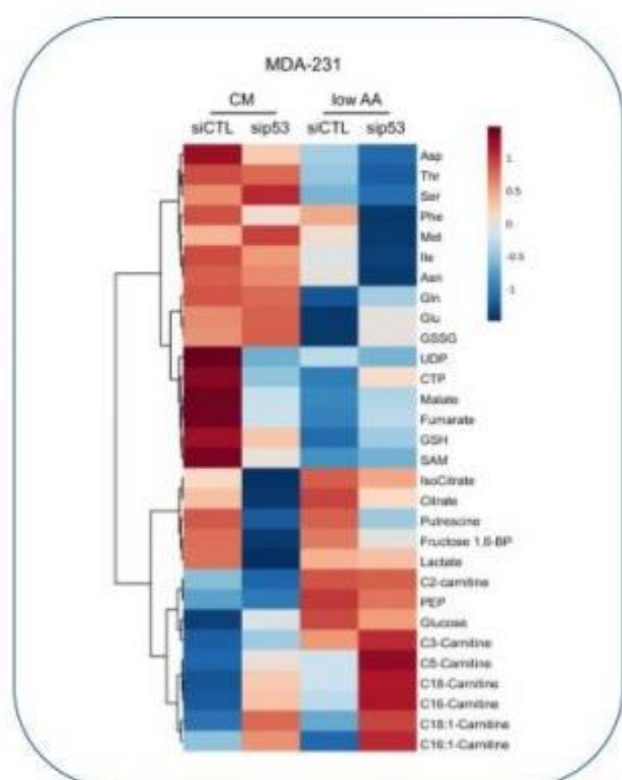


Figure from Tombari, Zannini et al., Nat Commun 2023. *

p53 is the most frequently mutated gene in human cancers. Mutations of p53 affect a number of cell processes, including cancer cell metabolism, resulting in greater cell survival capability and increased proliferation.

In a recent paper by Tombari, Zannini et al, researchers –including Nico Mitro, PI at the dept of experimental oncology of IEO– showed that in tumor microenvironment conditions characterized

“in low aminoacid conditions, mutated p53 cancer cells possess a proliferative advantage as compared to normal cells: while normal cells would arrest proliferation and eventually die, mutated p53 cells are capable of reprogramming their metabolism, and survive”

by low levels of aminoacids, mutated p53 breast cancer cells react by inducing the reprogramming of cell metabolism, ultimately resulting in increased cancer growth.

The authors showed that p53 mutations influenced cell metabolism, by increasing serine and glycine synthesis and aminoacid uptake. Mutated p53 control of cell metabolism occurred through the direct regulation of the expression of genes involved in these two processes: mutated p53 –but not the normal p53–, indeed, bound the DNA in close proximity to these genes and, through the interaction with Myc, promoted gene expression. Despite the low aminoacid levels conditions frequently found in the tumor microenvironment, in vitro cultured mutated p53 breast cancer cells maintained a high proliferation rate, while cell proliferation of normal cells was significantly reduced, suggesting that p53 mutations allow cells to survive even in conditions of aminoacid starvation. In vivo transplantation of mutated p53 breast cancer cells resulted in the activation of an aminoacid signaling that resulted in increased tumor growth. Furthermore, aminoacid synthesis pathways and uptake were upregulated in tissue sections from breast cancer patients characterized by p53 mutations. Metabolomic analyses of mutated p53 cells

cultured in low aminoacid concentrations, confirmed a strong metabolic reprogramming: while normal cells upregulated pathways typically associated with aminoacid scarcity, arresting cell proliferation, p53

mutations allowed them to switch on or upregulate those pathways enabling to thrive even in low aminoacid conditions, and keep proliferating and supporting cancer growth. Finally, highlighting the clinical relevance of their findings, the aminoacid pathways upregulated upon mutated p53 expression correlated with poor prognosis of breast cancer patients, and inhibition of the enzymes of these pathways impaired proliferation of mutated p53 cells, both in vitro and in vivo.

In conclusion, their studies demonstrated that, in low aminoacid conditions, mutated p53 cancer cells possess a proliferative advantage as compared to normal cells: while normal cells would arrest proliferation and eventually die, mutated p53 cells are capable of reprogramming their metabolism, and survive. However, relying on metabolic reprogramming, the capability of switching on such pathways to survive represents a potentially targetable cancer cell vulnerability to be therapeutically exploited in a clinical context.

Referenza. Mutant p53 sustains serine-glycine synthesis and essential amino acids intake promoting breast cancer growth. *Camilla Tombari#, Alessandro Zannini#, Rebecca Bertolio, Silvia Pedretti, Matteo Audano, Luca Triboli, Valeria Cancila, Davide Vacca, Manuel Caputo, Sara Donzelli, Ilenia Segatto, Simone Vodret, Silvano Piazza, Alessandra Rustighi, Fiamma Mantovani, Barbara Belletti, Gustavo Baldassarre, Giovanni Blandino, Claudio Tripodo, Silvio Biciato, Nico Mitro, Giannino Del Sal.* Nat Commun 2023. doi: 10.1038/s41467-023-42458-1.

* Figure from Tombari, Zannini et al (an open access [article](#) under the [CC BY](#) license.)

What's new from IEO Researchers?

Machine learning in microbiology: How to use it?

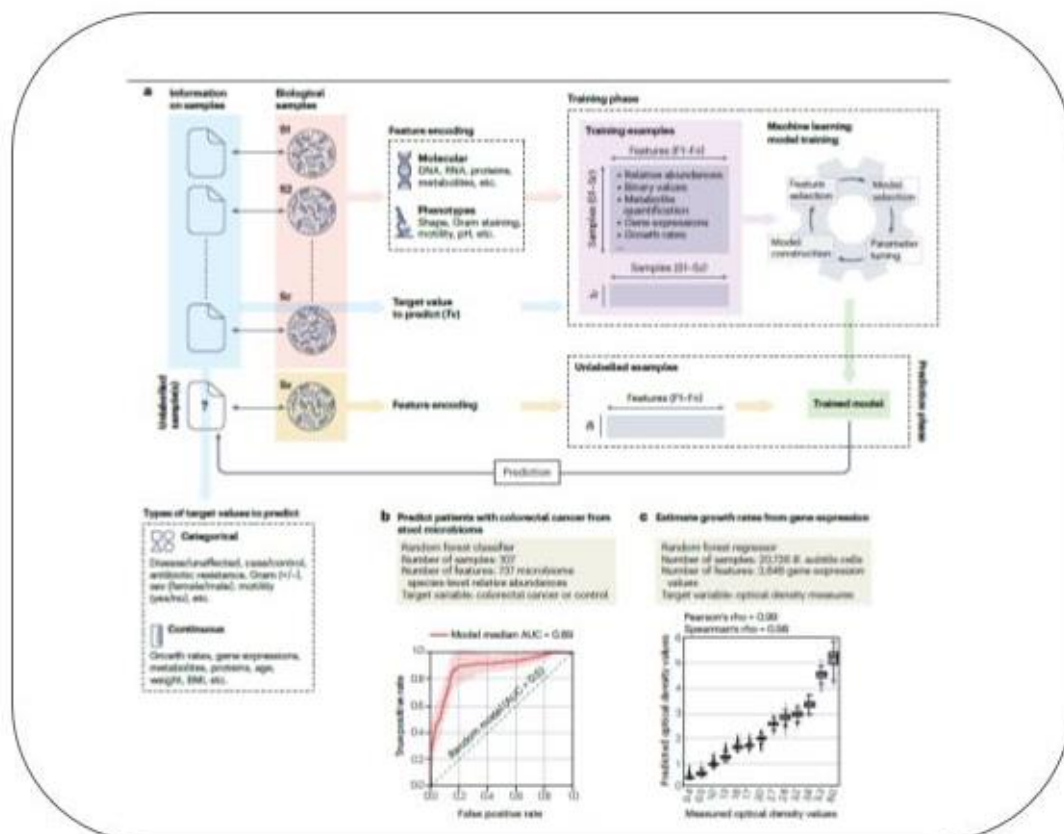


Figure from Asnicar, Thomas et al., Nature reviews microbiology 2023.

Machine learning techniques are being increasingly employed in the life sciences, to help researchers in exploiting the huge amount of complex data arising from lab experiments. Despite the large employment of statistics and computer science in machine learning, nowadays, thanks to the numerous [user-friendly tools available](#), understanding the main concepts is sufficient for a non-computational researcher to use them.

In a review, by Francesco Asnicar, Andrew Maltez Thomas et al., recently published in Nature Reviews Microbiology, researchers coordinated by Nicola Segata –Head of the Computational Metagenomics lab at the dept of experimental

oncology of IEO and full professor at the University of Trento–, provide a clear overview on the main concepts of machine learning and the most commonly employed tools in biomedical research, on the main aspects to be considered when applying machine learning in the analysis of biological experiments –with main focus on microbiology and the study of the microbiota–, enabling researchers to navigate the largely intertwined experimental and computational machine learning-linked research field with an actual “instruction manual”.

Machine learning use is rapidly increasing in the clinical context, and the authors offer several examples. In oncology, supervised machine

learning revealed a link between colorectal and pancreatic cancer with gut microbiome, enabled to identify a predictive microbiota signature, or to predict patient response to immunotherapy or success of fecal microbiota transplantation, as well as to identify cancer tissue-specific microbial signature with diagnostic potential. Machine learning is also largely used in the early identification of infective agents.

The authors review the available tools and provide general guidelines to help non-computational researchers in approaching machine learning works, showing that a strong computational

further reading to those who want to get deeper into the field.

—

Machine learning methods enable to manage complex and high dimensional data (that is, data represented by a huge number of different variables, such as different variants of a gene of interest or a microbiology sample containing hundreds of different species) otherwise impossible to deal with, obtained through high throughput assays that the technological advances of the past decades made available to the scientific community.

The authors describe the main machine learning methods available, detailing tools, characteristics and applications for supervised machine learning –which build models linking data and existing information on the data to learn predicting the outcome– and unsupervised machine learning –in which the data are organized in groups (or clusters) based on metrics, without prior knowledge on relations among or outcomes on the data–, along with practical examples to explain how such approaches are used in specific biological (in particular, microbiological) and clinical contexts.

They list the methods commonly used for supervised learning (such as random forest, LASSO, naive Bayes, Support Vector Machine, DeepARG,

DeepBGC, Traitair), which enable to associate experimental data with a given outcome by means of a given machine learning model, which can be then applied to new samples to predict the outcome.



Nicola Segata

Photos ©Lucio Tonina

background is no longer strictly needed to apply machine learning methods, and providing the fundamentals for an optimal communication and collaboration among computational and non-computational scientists. Finally, they also suggest

They also discuss in depth unsupervised machine learning methods, such as clustering, to group data (in clusters) based on similarity. While not providing models to be applied in the future to other data, this method finds patterns and organizes the data (in clusters) and information obtained on the clusters can be then used to train models by employing supervised machine learning approaches (while in partition clustering the number of clusters must be known a priori, in hierarchical clustering the number of clusters in which data will have to be organized is not required a priori). Dimensionality reduction is another unsupervised machine learning approach, which manages high dimensional data for better visualization as well as for further analytical steps. Principal component analysis (PCA), t-SNE, UMAP are the most common methods for dimensionality reduction, which allow to represent high numbers of measured variables (or “features”) in a lower dimension space.

They explain different approaches available for feature selection (which is a reduction of the original number of features to be used to build – or “train” – the machine learning model) or feature extraction (which is the generation of new features starting from the original features, which can be used together with the original features) from a set of data, to be used in the analysis (which

means, the number of variables to be used for training the machine learning model), as well as the tools to estimate the importance of the selected features (for instance, to select those worthy of further studies).

They discuss practical aspects in choosing the best machine learning model for the type of data to be analyzed and to evaluate the model’s prediction capability –by assessing accuracy, precision, recall/sensitivity, specificity–, which largely

depends on the context in which the model is used. For instance, they highlight that, in a clinical-diagnostic setting, sensitivity of a method is more critical than precision, as a false negative is more problematic than a false positive. They explain how the performance of

a model is measured through the “area under the ROC curve” and what are the critical factors and the approaches for the generalizability of the models, namely to successfully employ in a different context the models generated in a given dataset/sample/experiment.

Finally, they include a useful glossary, a number of examples of machine learning applications in biology –especially in microbiology–, critical aspects to pay attention to when applying machine learning methods, as well as a checklist for helping scientists in reviewing, reading and interpreting machine learning studies.

“a clear overview on the main concepts of machine learning, the most commonly employed tools, the main aspects to be considered when applying machine learning in the analysis of biological experiments, enabling researchers to navigate the largely intertwined experimental and computational machine learning-linked research field with an actual ‘instruction manual’”

Referenza. Machine learning for microbiologists. Francesco Asnicar, Andrew Maltez Thomas, Andrea Passerini, Levi Waldron & Nicola Segata. Nature reviews microbiology 2023. 10.1038/s41579-023-00984-1.

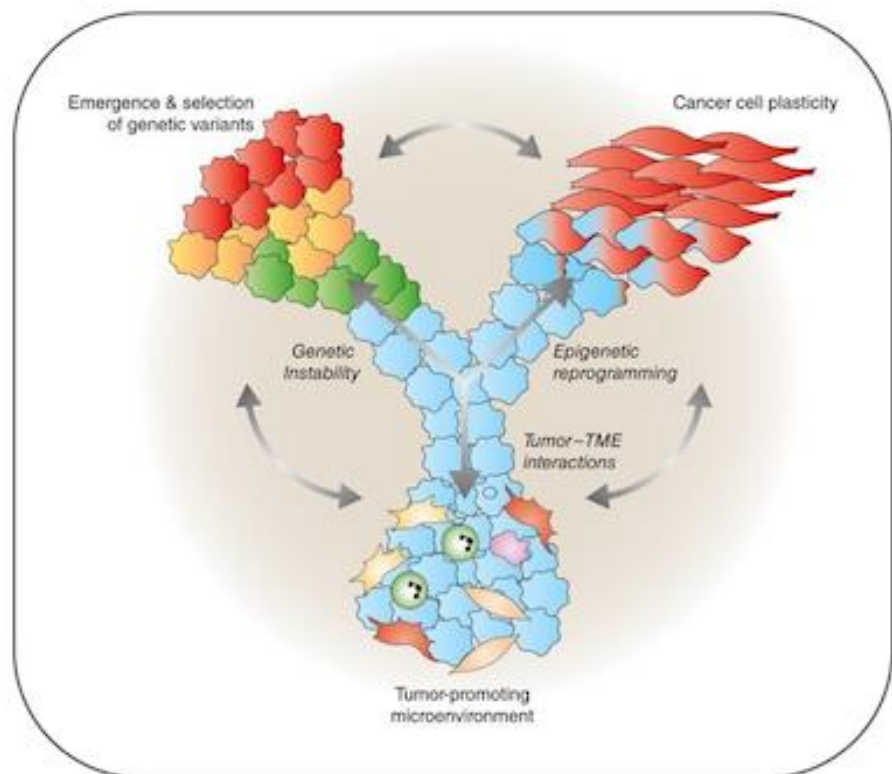
**Figure from Asnicar, F., Thomas, A.M., Passerini, A. et al. Machine learning for microbiologists. Nat Rev Microbiol (2023). <https://doi.org/10.1038/s41579-023-00984-1>.*

What's new from IEO Researchers?

The multiple aspects of cancer evolution.

In a review by Ciriello, Magnani et al., recently published in *Cancer Discovery*, the authors, including Gioacchino Natoli and Paola Scaffidi –both PIs at the Department of Experimental Oncology of IEO– review recent advances in the mechanistic understanding of cell-intrinsic (genetic instability, epigenetic and metabolic reprogramming) or cell-extrinsic (cell-cell interaction, signals from the tumor microenvironment, gut microbiota) mechanisms that contribute to, and enable tumor progression and therapy resistance, by conferring a selective advantage to cancer cells.

First, the authors discuss in depth the role of mutations in cancer progression/evolution, and how the most advanced technologies enabled to get further insight into cancer evolution. The role of mutations in cancer progression is widely accepted. While many mutations are de facto neutral, and do not alter key processes of cell survival, many others confer a survival advantage to the cell, and are thus selected. As cells possessing such mutations are more likely to grow and form a tumor, these mutations are the target of molecular therapies. Molecular therapies represent some of the successful stories in cancer treatment. In this context, the relatively recent application of machine learning approaches has



*Figure from Ciriello, Magnani et al., Cancer Discovery 2023. **

enabled to predict the possible pathogenicity of mutations. Furthermore, mutations can be exploited (like “barcodes”) to get a better insight into cancer development, to trace cancer evolution back to its origin, possibly enabling the identification of the earliest mechanisms leading to cancer onset, and thus providing potential targets to interfere with cancer progression. They explain how a given transcriptional program –the lineage– influences the consequences of a mutation, creating the permissive cellular context for gene/mutation expression. They examine how mutations and 3D organization of the DNA cooperate in cancer progression (and the role played by specific chromatin compartments –the

TADs) as well as the role of epigenetic modification (DNA methylation and histone post-translational modifications) in tumorigenesis. They discuss how “cell plasticity”, defined as the capability of genetically identical cancer cells to switch between phenotypically different cell states in a transient and reversible manner during tumor progression is likely linked to tissue architecture, spatial location of cancer cells in tissues, and may enable cancer cells to respond differently to signals from the tumor microenvironment or to treatment. Cell plasticity, on one side, may explain cancer cell resistance to therapy and, on the other side, may offer the chance to interfere with such cell states and state transitions, thus providing therapeutic opportunities. Finally, they delve into the role of the tumor microenvironment in influencing cell plasticity, inducing transitions

“different factors contribute to tumor evolution: Epigenetics, cell-cell and cell-microenvironment interaction add to genetic diversity further levels of diversification that create different cancer cells with higher chances of surviving and proliferating, all contributing to shaping tumor architecture and evolution, ultimately supporting tumor growth, and further underlining the need of considering all these layers with an integrated approach, to get a comprehensive view of the problem and favor the therapeutic exploitation of our increasing mechanistic understanding of cancer progression”

among cell states, and thus affecting tumor evolution and response to therapy, highlighting the co-evolution of tumor cells and tumor microenvironment.

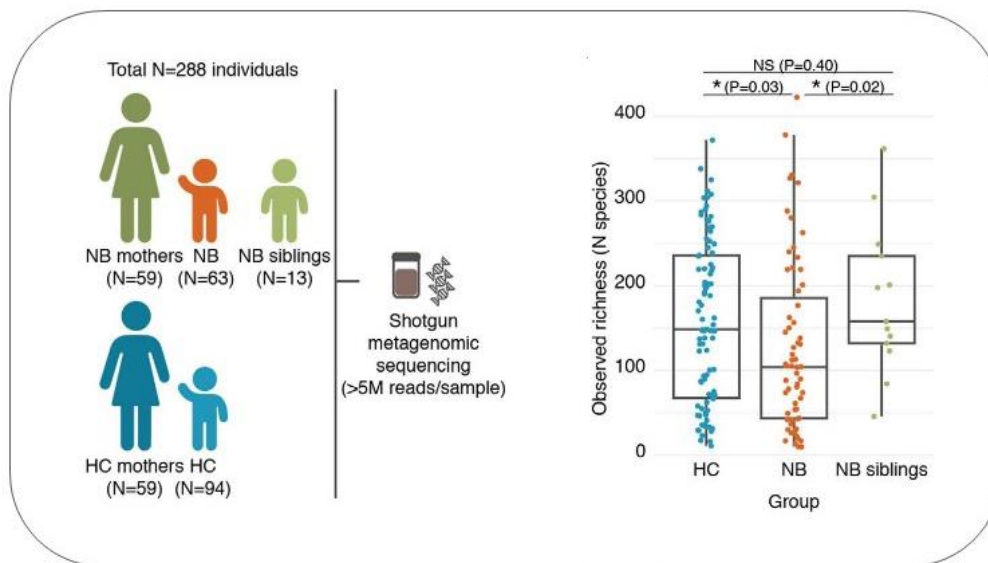
In conclusion, in this review the authors discuss the different factors contributing to tumor evolution: Epigenetics, cell-cell and cell-microenvironment interaction add to genetic diversity further levels of diversification that create different cancer cells with higher chances of surviving and proliferating, all contributing to shaping tumor architecture and evolution, ultimately supporting tumor growth, and further underlining the need of considering all these layers with an integrated approach, to get a comprehensive view of the problem and favor the therapeutic exploitation of our increasing mechanistic understanding of cancer progression.

Reference. Cancer Evolution: A Multifaceted Affair. Giovanni Ciriello, Luca Magnani, Sarah J Aitken, Leila Akkari, Sam Behjati, Douglas Hanahan, Dan A Landau, Nuria Lopez-Bigas, Darío G Lupiáñez, Jean-Christophe Marine, Ana Martin-Villalba, Gioacchino Natoli, Anna C Obenaus, Elisa Oricchio, Paola Scaffidi, Andrea Sottoriva, Alexander Swarbrick, Giovanni Tonon, Sakari Vanharanta, Johannes Zuber. Cancer Discov 2024. doi: 10.1158/2159-8290.CD-23-0530.

* Figure from Ciriello, Magnani et al. (an open access [article](#) under the [CC BY-NC-ND 4.0](#) license).

What's new from IEO Researchers?

A different gut microbiome composition in pediatric patients with neuroblastoma in the abdomen.



Adapted from Valles-Colomer et al., eBioMedicine 2023. *

Neuroblastoma is the most common tumor in children, typically diagnosed before 5 years of age. Originating from immature neurons, neuroblastoma is mostly (65%) located in the abdomen.

Alterations of gut microbiome composition have been described in preclinical models of neuroblastoma and in patients with other gastrointestinal tumors, and, in different tumor types, possibly involved in tumor onset, progression, and response to therapy.

In a recent paper by Valles-Colomer et al., researchers coordinated by Nicola Segata – Group Leader at the Department of Experimental Oncology of IEO and full professor at the

University of Trento– developed the first dataset collecting information (obtained through metagenomic analyses) on gut microbiome in neuroblastoma patients, and highlighted differences in the gut microbiome composition of patients as compared to controls, which could not be ascribed to maternal gut microbiome composition and transmission.

The authors analyzed (by shotgun metagenomics) stool samples of 288 individuals (neuroblastoma patients at diagnosis, as well as healthy matched controls and siblings, and their mothers), enrolled at the Gaslini Institute in Genoa (Italy) thanks to the

“differences exist in the gut microbiome composition of neuroblastoma patients as compared to healthy individuals, which are not linked to mother’s gut microbiome transmission at birth, ruling out the involvement of maternal microbiota in neuroblastoma onset.”



collaboration with the senior co-authors Mirco Ponzoni and Maria Valeria Corrias. By employing their recently developed

microbiota species, they found that only one species was enriched in patients, whereas 18 species (including bacteria with anti-inflammatory properties) were less abundant in patients as compared to controls. Interestingly, among the less enriched species in patients, one (*Bifidobacterium bifidum*) has been authorized (namely declared “safe”) to be used for prevention and treatment of intestinal diseases and

What is MetaPhlAn 4 ?

Nicola Segata

(Photos ©Alessio Coser for University of Trento)

In the past two decades, the development of shotgun metagenomics has enabled the study of the gut microbiome composition, allowing to infer from the genomic sequence the specific microorganisms inhabiting the gut, thus permitting to explore its role in human pathophysiology.

To infer the presence and abundance of microbial species from metagenomic samples, multiple computational tools have been developed and, either Reference-based methods or Assembly-based methods can be used. In **Reference-based methods**, collections of known information about microbial genomes are commonly exploited; basically, results of the sequencing of a microbial sample are compared/aligned with known –annotated– microbial reference sequences. This approach has made it possible to explore, with great level of detail and with high accuracy, the gut microbiota composition, and thus precisely link the presence and abundance of specific microbial species with health conditions. However, relying on collections of known genomic information about already characterized microbial species prevents the identification of new and uncharacterized species, thus leading to miss potentially critical information. **Assembly-based methods** do not require reference sequences; basically, different microbial sequences are used to assemble a “metagenome”, but this method does not work well for microbes that are not highly abundant.

The two approaches to metagenomic profiling for the study of the gut microbiota have been combined in one tool: **MetaPhlAn 4**, which uses both genome collections of the reference-based methods and metagenome collections, obtained by assembling microbial genomes into metagenomes. Integrating the two, MetaPhlAn 4 creates the largest existing collection/database, comprising both genomes of known (from the reference-based) and uncharacterized (from metagenome assembly) species, on which MetaPhlAn4 algorithm works. MetaPhlAn4 exploits this data by identifying, marker genes precisely identifying each different species (either known or uncharacterized). The new database expanded the existing MetaPhlAn tool and excelled in the identification of uncharacterized species, allowing for more accurate microbiota analyses and more accurate studies of microbiota role in human physiology. ([Blanco-Miguez et al., Nature Biotechnology 2023.](#))

MetaPhlAn 4 is available at <http://segatalab.cibio.unitn.it/tools/metaphlan> (labelled as MetaPhlAn 4.beta.1) with the open source code at <https://github.com/biobakery/MetaPhlAn>.

computational tool (MetaPhlAn4), they showed that the composition of the gut microbiome differed significantly between patients and healthy controls, with patients displaying a lower number of species. By analyzing in detail the single

has been shown to synergize with immune-checkpoint inhibitors in reducing lung tumor burden in preclinical in vivo models. Furthermore, machine learning approaches successfully distinguished, on the basis of species-level

microbiome composition, patients from controls. In-depth analysis of the species that were less abundant in patients revealed their involvement in specific microbial metabolic pathways (carbohydrate metabolism, (aromatic) aminoacid synthesis, and vitamin B1 synthesis), highlighting that an altered gut microbiome may contribute to an altered patient metabolism. Finally, as the infant gut microbiome is seeded at birth, mostly transmitted by the mother (and then progressively modified with age), the authors analyzed the potential contribution of the mother's microbiome to neuroblastoma tumorigenesis. They showed that maternal transmission of gut microbiome at birth was not linked to neuroblastoma onset; indeed, they found no differences in the gut microbiome neither (in terms of diversity, species abundance, metabolic

pathways involved) between patients' and healthy controls' mothers, nor in microbiome strain sharing between mother-patients vs mother-controls.

In conclusion, this work –funded by the European Research Council and the Italian Ministry of Health– revealed differences in the gut microbiome composition of neuroblastoma patients as compared to healthy individuals, which are not linked to mother's gut microbiome transmission at birth, ruling out the involvement of maternal microbiota in neuroblastoma onset. However, although further studies are warranted, the results suggest the potential of microbiota-related complementary therapeutic approaches for the improvement of neuroblastoma symptoms.

Reference. Neuroblastoma is associated with alterations in gut microbiome composition subsequent to maternal microbial seeding. *Mireia Valles-Colomer, Paolo Manghi, Fabio Cumbo, Giulia Masetti, Federica Armanini, Francesco Asnicar, Aitor Blanco-Miguez, Federica Pinto, Michal Punčochář, Alberto Garaventa, Loredana Amoroso, Mirco Ponzoni, Maria Valeria Corrias, Nicola Segata*. EBioMedicine 2023. doi: 10.1016/j.ebiom.2023.104917.

*Figure from Valles-Colomer et al. (an open access [article](#) under the [CC BY](#) license.)

What's new from IEO Researchers?

A score to evaluate likelihood of immunotherapy-related adverse events.

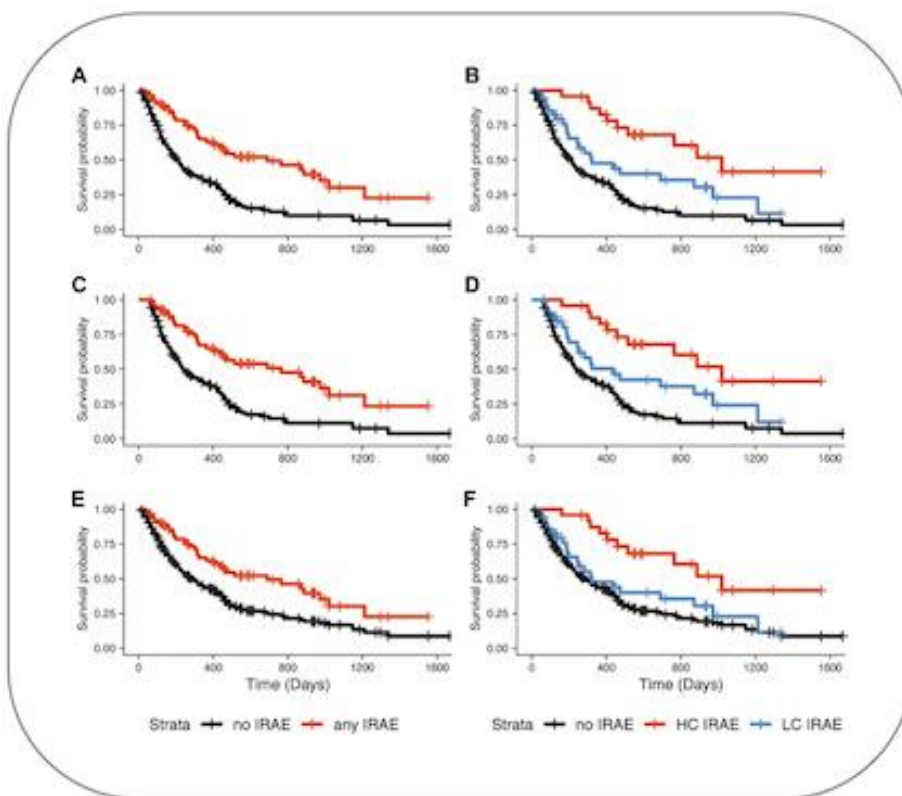


Figure from Mazzeella et al., *The Oncologist* 2023. *

Despite the undoubtable beneficial effects of immunotherapy, patients often manifest immune-related adverse events (IRAEs) as a consequence of treatment. However, distinguishing IRAEs directly linked to immunotherapy from those due to other potential reasons –such as disease progression or toxicity associated with other conventional treatments– is difficult. IRAEs are usually diagnosed by approaches that are not always feasible, such as invasive biopsies or non-routine lab tests. Therefore, easier approaches for IRAE diagnosis are needed.

In a recent IEO study, by Luca Mazzeella et al., the authors –supervised by Giuseppe Curigliano– elaborated a score to objectively quantify the direct association between IRAEs and immunotherapy treatment. Among immunotherapy-treated patients enrolled in phase I-II trials and experiencing adverse events, two different expert oncologists evaluated whether such adverse events were likely (high confidence) linked to immunotherapy – and thus a consequence of the effect of the drug on the immune system– or not (low confidence). Next, by exploiting these data, they developed a score to objectively, retrospectively distinguish patients in which IRAEs were likely due to immunotherapy. The score takes into consideration five clinical parameters, assigning a score (from 0 to 2) to each of them. The parameters include 1) availability of results of a typical test for IRAE (e.g. biopsy) showing an actual immune-related adverse event; 2) lack of clear diagnostic evidence of IRAEs (arguing against this association); 3) response to potential administration of immunosuppressive drugs; 4) time from immunotherapy administration (which means that IRAEs manifesting shortly after treatment are considered unlikely to be related); 5) examination

of the clinical picture suggesting, based on literature review, an association with immunotherapy administration. If the total score, considering all these parameters, is >5 , IRAEs are considered immunotherapy-related with high confidence. Interestingly, they found a correlation between high confidence immunotherapy-related IRAEs and overall good patient response to treatment, strengthening previous findings proposing IRAEs

“in the context of phase I-II clinical trials, side effects of innovative treatments are evaluated in depth in order to define the potential toxicity/safety of the experimental drug. This score offers a tool enabling an objective analysis, and thus an accurate study, of immune-related adverse events associated with immunotherapy”

as potent biomarkers of immunotherapy response. In the context of phase I-II clinical trials, side effects of innovative treatments are evaluated in depth in order to define the potential toxicity/safety of the experimental drug. This score offers a tool enabling an objective analysis, and thus an accurate study, of immune-related adverse events associated with immunotherapy.

Reference. Immune-Related Adverse Event Likelihood Score Identifies "Pure" IRAEs Strongly Associated With Outcome in a Phase I-II Trial Population. Luca Mazzarella, Federica Giugliano, Eleonora Nicolo, Angela Esposito, Edoardo Crimini, Giulia Tini, Jacopo Uliano, Chiara Corti, Paolo D'Amico, Pamela Trillo Aliaga, Carmine Valenza, Matteo Repetto, Gabriele Antonarelli, Liliana Ascione, Grazia Vivanet, Pierpaolo Berton Giachetti, Ida Minchella, Carmen Belli, Marzia Locatelli, Carmen Criscitiello, Giuseppe Curigliano. Oncologist 2023. doi: 10.1093/oncolo/oyad239.

* Figure from Mazzarella et al. (an open access [article](#) under the [CC BY-NC](#) license.)

What's new from IEO Researchers?

Investigating the interaction between covid19-inducing virus (SARS-CoV2) and human cells to find virus vulnerabilities.

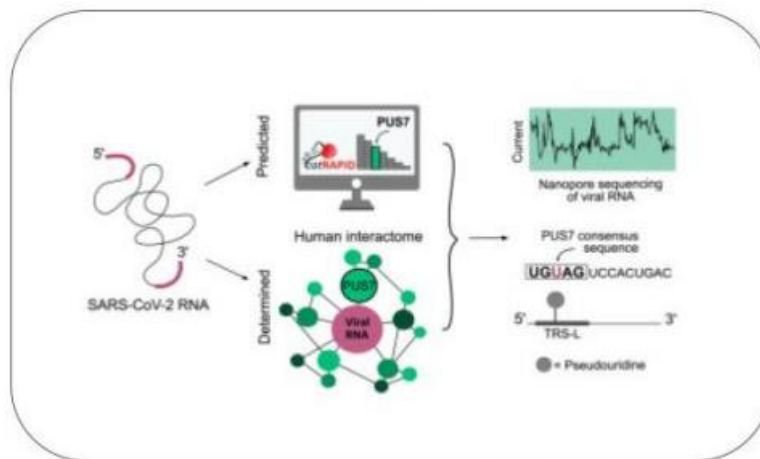


Figure from Giambruno, Zacco, Ugolini et al., Mol Ther Nucleic Acids 2023. *

SARS-CoV2 is a RNA virus. Upon infection, the interaction of the viral RNA with host proteins is needed for its replication inside the host cell. Despite being a critical step of viral infection, an in-depth understanding of viral RNA-host proteins interaction –and so how the virus exploits the host machinery, especially in the early stages after infection– is still missing.

In a paper by Giambruno, Zacco, Ugolini et al., recently published in Molecular Therapy – Nucleic Acids, by combining computational and experimental approaches, researchers, including Tiziana Bonaldi –Group Leader at the dept of experimental oncology of IEO– coordinated by Francesco Nicassio and Gian Gaetano Tartaglia – Italian Institute of Technology– investigated in detail the interaction between viral RNA and human cell proteins. They identified for the first time the key role of a host cell protein –PUS7– in this interaction and

“PUS7 protein, expressed by human cells, plays a key role in the interaction between viral RNA and human host proteins”

revealed the presence of several sites of pseudouridylation in the viral RNA genome.

First, the authors identified, through in silico studies, the regions of the RNA more likely to interact with host proteins. Then, after expressing these RNA fragments in HEK cells, they analyzed by mass spectrometry the RNA-interacting proteins. About 40% of the proteins identified corresponded to proteins previously known for being RNA-binding proteins –thus demonstrating the reliability of their approach–, while many others were new. So, by exploiting the in silico data, which enabled to “measure” the likelihood of RNA-protein interaction by means of a score, they ranked by affinity the proteins identified by mass spectrometry and further investigated those that had the highest score (namely those having the highest propensity to specifically interact with the viral RNA). Their analysis unveiled the interaction of the host protein PUS7 with the viral RNA, which was

never reported before. PUS7 plays a critical role in the chemical modification of RNA molecules (specifically, it catalyzes the isomerization of uridine into pseudouridine in cellular tRNAs and mRNAs). In agreement with the data showing the interaction of PUS7 with SARS-CoV2 RNA, after host cell infection the viral RNA displayed such modifications, including in some regions that were known specific targets of PUS7. Likely due to an effect on the secondary structure of the RNA molecules, the PUS7-mediated modification of the viral RNA significantly increased the binding affinity of the viral RNA with the NSP1 protein, a non-structural viral protein which is known to block the host cell protein synthesis. Increasing PUS7 levels enhanced the RNA-NSP1 interaction, which was instead reduced by expressing a catalytically inactive form of PUS7, indicating the

key role of PUS7 protein in viral replication and its potential exploitation as a target of novel therapeutic approaches aiming at inhibiting the replication of the virus in human cells.

Viral infection occurs through a number of different steps; each of them represent a mechanism to be potentially exploited for therapeutic scope. For instance, in the early phases after infection, the large dependence of the virus on the host proteins for its replication makes it “vulnerable”, offering potential therapeutic targets to arrest the process and treat SARS-CoV2-induced disease as well as for other related viruses. This study reveals the key role of PUS7 in the process, pointing to the potential exploitation of a PUS7 inhibitor –which has been recently described– or RNA-based strategies.

Reference. Unveiling the role of PUS7-mediated pseudouridylation in host protein interactions specific for the SARS-CoV-2 RNA genome. *Roberto Giambruno, Elsa Zacco, Camilla Ugolini, Andrea Vandelli, Logan Mulroney, Manfredi D’Onghia, Bianca Giuliani, Elena Criscuolo, Matteo Castelli, Nicola Clementi, Massimo Clementi, Nicasio Mancini, Tiziana Bonaldi, Stefano Gustincich, Tommaso Leonardi, Gian Gaetano Tartaglia, and Francesco Nicassio.* Molecular Therapy Nucleic Acids, 2023. doi: 10.1016/j.omtn.2023.102052.

*Figure from Giambruno, Zacco, Ugolini et al. (an open access [article](#) under the [CC BY-NC-ND](#) license.)

What's new from IEO Researchers?

Pier Paolo Di Fiore wins in the “mathematical, physical and natural sciences” category of the “Giancarlo Dosi” national award for scientific communication.

On December 14th it was held in Rome the 11th edition of the national award for scientific communication “Giancarlo Dosi”, organized by the Associazione Italiana del Libro.

The contest had three finalists for each of the five categories -mathematical, physical and natural sciences; life sciences and health sciences; engineering and architecture; human, historical and literature sciences; juridical, economical and social sciences.

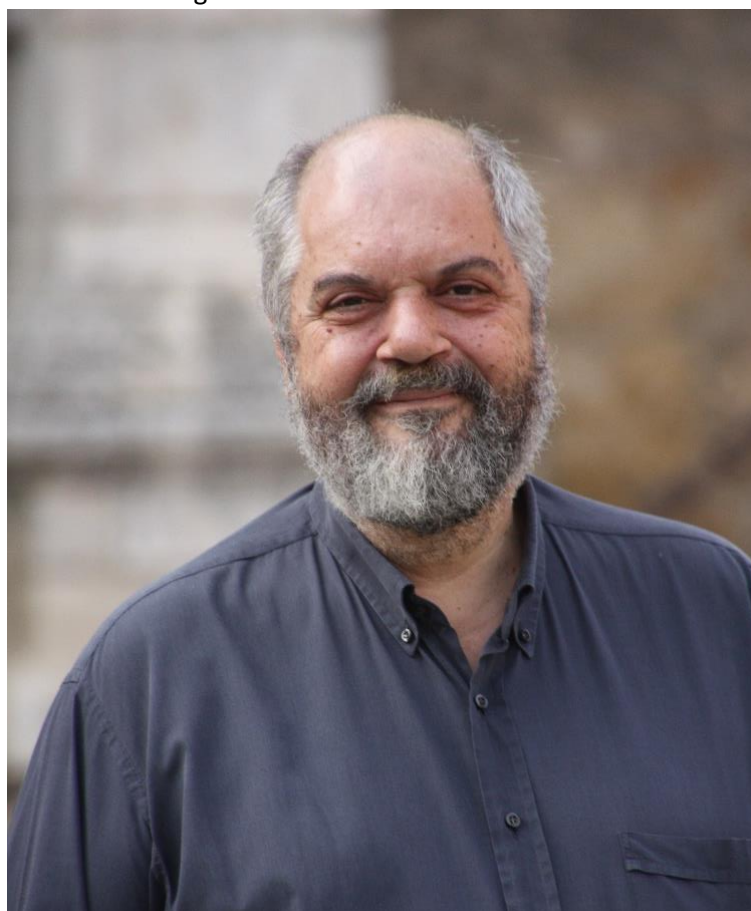
After the success of the book “Il prezzo dell’immortalità”, which made him win, two years ago, the Galileo award for scientific communication, this year Pier Paolo di Fiore wins the “mathematical, physical and natural sciences” category of the Dosi award with the book “La vita inevitabile” in which, through the voice of “a replicant”, namely a biochemical entity originating the DNA, tells us how life has started.

Pier Paolo Di Fiore is full professor at the University of Milan, director of the “Novel diagnostics” program of IEO and of the “Endocytosis, signalling and cancer” lab at the dept of experimental oncology of IEO. Currently, his research focuses on endocytosis, stem cells and functional genomics. The aim of his studies is the understanding of the different functions of the endocytic machinery, to define the actors involved and understand how a non-functional endocytic process contributes to tumorigenesis, to the acquisition of those traits that transform healthy cells in cancer stem cells, and to metastatic dissemination,

with the ultimate goal of exploiting the results obtained in basic research in a clinical/therapeutic context, to define new prognostic/predictive markers and therapeutic targets.

In the past, he worked for years in the United States, at the National Cancer Institute, and has been scientific director of IFOM.

Congratulations!



Pier Paolo Di Fiore

What's new from IEO Researchers?

Sign up for this year joint ABCD-SIBBM PhD meeting!



On March 25-27 will take place in Bologna the ABCD-SIBBM joint PhD meeting, organized by PhD students for PhD students.

This 3-day meeting brings together PhD students working in the cellular and molecular biology research field, offering them the opportunity to discuss their science both with renowned scientists in the field and young researchers, thus allowing them to collect useful feedback on their research, critically discuss their results and their ideas, in a friendly and informal environment.

This year event is organized by a 4-group leaders committee –constituted by Sirio Dupont, University of Padua; Giulia Piaggio, Regina Elena National cancer institute; Michela Denti, University of Trento; Alessandro Fiorenzano, IGB-CNR– and a 4-PhD students committee –

constituted by Margherita Ferretti, Regina Elena National Cancer Institute; Erica Mina, University of Turin; Gianluca Petrillo, University of Naples Federico II; Elena Poggio, University of Padua.

The meeting will include two keynote lectures –by Sara Mainardi, Netherlands Cancer Institute, and Shukry James Habib, University of Lausanne–, poster sessions and technical talks. Furthermore, the best oral presentation and the best poster will be selected to receive the “Luca Daveggio” award. Registration and abstract submission deadline is on February 16th, travel grants for selected participants and discounts for ABCD/SIBBM members are available, so hurry up! Don't miss this year event! All the information can be found [here](#).

What's new from IEO Researchers?

“Minimally-invasive treatments of the thyroid & save your thyroid” course 2024.



On February 15 and 16 will take place in Milan the “Minimally-invasive treatments of the thyroid & save your thyroid” course, an international conference on mini-invasive treatments of Thyroid.

The meeting, organized and promoted by Dr Giovanni Mauri (interventional radiology) is

sponsored by IEO and dedicated to the insights into the ablative approaches most widely used by the greatest worldwide experts.

For further details click [here](#).

The meeting program is available [here](#).

What's new from IEO Researchers?

Giuseppe Curigliano and Giuseppe Viale among the “Highly Cited Researchers 2023”.



Giuseppe Curigliano

Congratulations to Prof. Giuseppe Curigliano – Director of the IEO division of New drugs and innovative therapies– and Prof. Giuseppe Viale – Director of the IEO department of Pathology and Laboratory medicine– for being mentioned among the “Highly Cited Researchers 2023”, a recognition attributed by Clarivate Analytics to scientists who distinguished at the international level in all research fields, demonstrating remarkable capability of influencing the field through the publication of highly cited scientific papers.



Giuseppe Viale

What's new from IEO Researchers?

“Milan Ambassador” Award to Giuseppe Curigliano.



Congratulations to Prof. Giuseppe Curigliano for being recently awarded “Ambassador for the city of Milan” by Alberto Pirelli, YES MILANO president – Associazione Milano & Partners. The recognition is the result of his commitment in contributing to the successful nomination of our

city to host the 14th edition of the European Breast Cancer Conference, an international conference that will gather the greatest experts in research, diagnosis and treatment of breast cancer.

What's new from IEO Researchers?

Giovanni Aletti is the new Associate Editor of the International Journal of Gynecological Cancer.



Giovanni Aletti

Dr Giovanni Aletti has been officially appointed Associate Editor of the International Journal of Gynecological Cancer (IJGC), one of the main training and informative journals on topics

relevant for identification, prevention, diagnosis and treatment of gynecological neoplasms. Congratulations!

What's new from IEO Researchers?

Funded by the Italian Ministry of Health, an Italian network to support the technology transfer of research results in life science.



IEO –through its technology transfer office, IEO-TT– will be involved in the creation of the first Italian network of technology transfer (TTO) offices and structures in the Life Sciences, co-funded by the Italian Ministry of Health (in the context of the Piano Nazionale Complementare, PNC, to the Piano Nazionale di Ripresa e Resilienza, PNRR).

The project name is PerfeTTO. The goal of PerfeTTO is to develop and potentiate technology transfer activities and the generation of new innovative start-up and spin-off in the life sciences, promoting the culture of technology transfer, to support protection and exploitation of

the research results in the industry and in the clinics, and make them available to the patients.

PerfeTTO network includes 54 centers of excellence –IRCCS, universities and research centers– in Italy, coordinated by the Centro Cardiologico Monzino IRCCS.

From a practical point of view, the creation of this network will enable the writing, implementation and diffusion of training activities, guidelines, best practices, operational models, national and international databases –thanks to the development of an innovative Artificial Intelligence-based platform– as well as the support of selected research projects in order to promote their advancement in the industry.

In particular, the IEO TTO – directed by Marzia Fumagalli– is one of the Task Leaders of the “TT accelerator”, one of the seven work packages of the project, whose final goal is the creation of a program, addressed to TTOs, to accelerate the application in the industry field of the most innovative and promising projects of PerfeTTO, through the access to specific multidisciplinary skills and mentorship programs for TTO personnel.

Thanks to this national network, PerfeTTO will offer tools, services, expertise and resources to promote the technology transfer in Life Science in Italy.

Congratulations and good luck!

What's new from IEO Researchers?

Opening of IEO proton center.



IEO opens the Proton Center, thus becoming the first IRCCS (Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico) in Italy with a Proton Center, to offer advanced therapy options to the patients.

“With the proton center opening we keep the promise we made to all people entering our institute every day: If there is a valid therapy option in the world, it is available or it will soon be available in IEO. Proton therapy enables the treatment of tumors for which there are currently no valid therapy options and a better treatment for those that today receive conventional therapy. Indeed, it offers more treatment options both for tumors developed in critical organs or difficult-to-reach body sites, and for those not responding to conventional radiotherapy; it is associated with lower risk of irradiation-related tumors, lower toxicity during and after treatment. Therefore, proton therapy is innovative, yet consolidated, as shown by the results obtained on over 200.000 patients in the world. However, the diffusion of proton therapy is slowed down by the large investments required. In the world there are hundreds of proton therapy centers, in Japan, USA and Europe. In Italy there are two other proton centers, in Pavia and in Trento, and a laboratory at

the INFN in Catania for ocular melanoma. Nevertheless, despite their excellence, these structures cannot treat more than 1.000 patients per year, whereas, according to the data of the Ministry of Health, the requests concerns 7.000 cancer patients in Italy” states Roberto Orecchia, IEO Scientific Director.

In Italy, in 2015, the Ministry of Health included proton therapy among the life-saving therapies and in 2017 it has been listed among the LEA (essential assistance levels), identifying 10 cancers for which is considered appropriate. From January 2024, after the Decreto Tariffe, proton therapy is a therapeutic approach offered by the national healthcare system to all citizens in Italy.

In 2021, the Istituto Superiore di Sanità provided new recommendations for the use of proton therapy, indicating that the greatest advantages are obtained in the treatment of solid tumors in paediatric patients, tumors localized in critical body sites because surrounded by critical structure, tumors poorly sensitive to conventional radiotherapy and for which a dose-escalation approach is useful, as well as for cases in which reducing overall toxicity is needed due to parallel chemotherapy treatment.

What's new from IEO Researchers?

Innovation in digital health – IEO awarded by Agenas (*Agenzia nazionale per i servizi sanitari regionali*) and Sics (*Società italiana di Comunicazione Scientifica e Sanitaria*).



IEO received the Agenas-Sics award for Innovation in Digital Health, thanks to its “Value Based medicine” platform for the management and monitoring of cancer treatment. The recognition is attributed to “structures that, through new technologies, improved access to healthcare services and quality of care, guaranteeing increasingly personalized and effective therapies, improving their quality of life”. In particular, IEO has been awarded for “innovation of the project in relation to the use of Information and Communications Technology, for being “concrete, sustainable and replicable”.

“We are proud for this recognition to our program of management of clinical performance, which represent a years-lasting effort. According to the *Piano Oncologico Nazionale 2023-2027* quality of life and social reintegration of patients is critical, indirectly introducing, for the first time, the need of a new evaluation method of good healthcare.” states Roberto Orecchia, IEO Scientific Director. “About 10 years ago IEO chose to support the concept of value-based medicine, which means

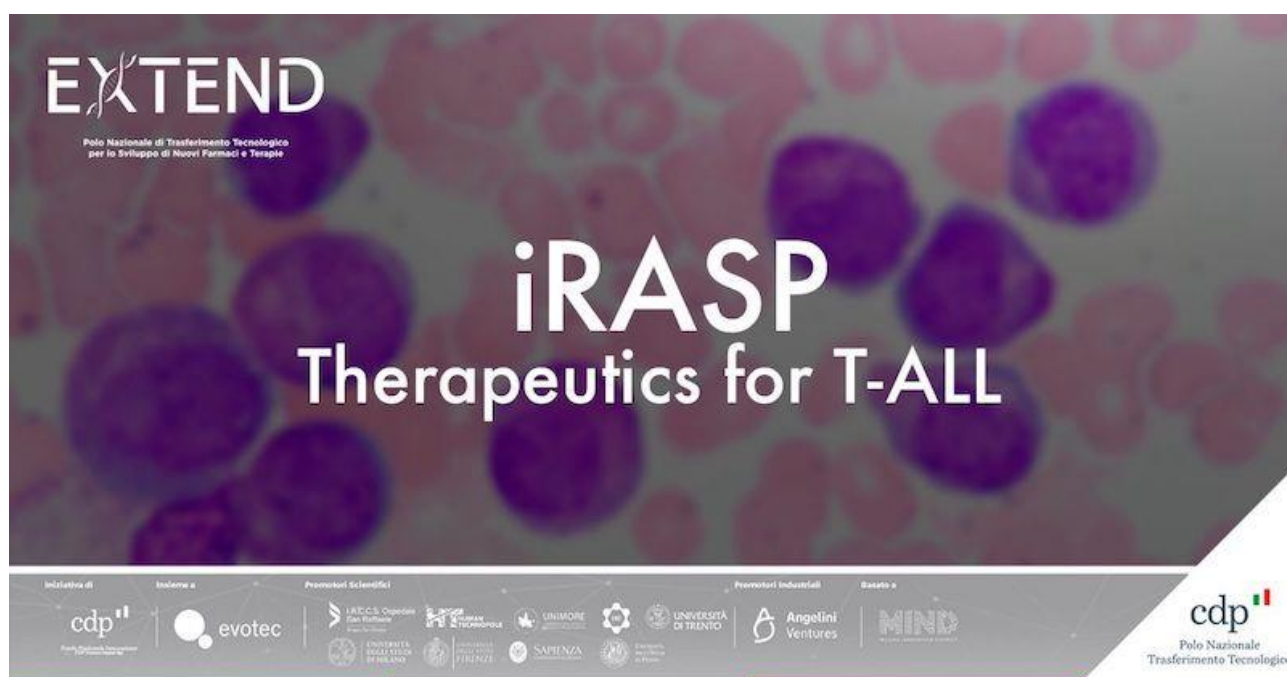
guaranteeing the best possible clinical results in the most efficient way. Therefore, we started the definition of new parameters to measure quality of clinical results. We believe that the concept of clinical result is not simply translated into short-term survival (low mortality rate or complications) or in long-term survival (cancer survival), but it also pays attention to the clinical, functional and psychological recovery (briefly, quality of life) of our patients” remarks Massimo Monturano, in charge of the Value-Based Medicine and IEO Clinical Results Area.

Clinical results are evaluated aggregately in a dedicated section in the home page of our website.

“To collect and dynamically analyze all information needed for the management of clinical performance program, we built a dedicated computational platform, self-funded by our institute, which will enable to strengthen the hospital-patient-territory link” concludes Annarosa Farina, Director of IEO Information Technology Service.

What's new from IEO Researchers?

Thanks to the investment of an industrial partner, the new immunotherapeutic for T-ALL treatment -developed through the IEO iRASP platform- enters a new phase of preclinical development.



One of the main hurdles of immunotherapy development nowadays is the identification of proper tumor antigens, namely proteins exclusively –or mainly– expressed on tumor cells and able to guide a specific antitumor immune response. iRASP Therapeutics is an innovative preclinical platform developed at the European Institute of Oncology (IEO), under the leadership of Dr Paul E. Massa, Prof Pier Giuseppe Pelicci and Prof Saverio Minucci. iRASP aims to create new immunotherapies against currently untargetable human tumors by employing an “antigen agnostic” approach, meaning by selecting directly in vivo novel antibodies targeting human tumor cells, without prior knowledge of the specific target protein (the antigen) expressed by the tumor cells, on the basis of their ability to

recognize tumor cells while negligibly interacting with healthy cells. iRASP enabled the identification of a first antibody candidate for the treatment of relapsed and primary acute T lymphoblastic leukemia (T-ALL) via the targeting of a previously unknown antigen.

Thanks to a total funding of approximately 900k Euros by Extend, the project is now entering a new phase of preclinical development through a milestones-based path, which, if successful, would lead to the set-up of a dedicated Start-up company ensuring the clinical development.

Extend is the National Technology Transfer Hub entirely dedicated to the biopharmaceutical sector, namely a platform that brings together scientific, technical and business expertise with the final aim of supporting the exploitation of

research results in an industrial setting, to ultimately translate new scientific discoveries into actual patients' benefit. Extend is an initiative created by CDP Venture Capital –through its Tech Transfer Fund– and with the co-investment of Evotec and Angelini Ventures.

Thanks to the joint effort of the scientists involved –Dr Paul Massa, Prof Pier Giuseppe Pelicci, Prof Saverio Minucci-, and the team of IEO-TT, the IEO Technology Transfer Office coordinated by Dr

Marzia Fumagalli, with the support and trust of Extend together with the expertise of Evotec, the new immunotherapy developed at IEO is making a step forward towards its potential clinical exploitation for the treatment of T-ALL patients. Moreover, iRASP has been applied to other tumor types leading to the identification of several potential candidate antibodies, demonstrating its exploitability for the identification of therapeutic antibodies in virtually any tumor type.

What's new from IEO Researchers?

Clinical trial office: 1st ranked in the Health Literacy category at the “Patient Engagement Award” contest.



On November 17th, IEO Clinical Trial Office (CTO) ranked first in the Health Literacy category at the “Patient Engagement Award” contest organized by Helaglobe during the Insieme Per “EngageLab – Il progetto di engagement ideale” annual meeting. The project, presented by Ines Tedeschi and Maria Teresa Lionetti, was titled “Patient Empowerment in Clinical Research” and aimed at describing how, within our institute, IEO CTO considers Patient Empowerment to be crucial, implementing and improving, through Health Literacy, the dissemination of clinical research culture to patients.

Providing the tools to understand what is clinical research is essential to enable patient awareness, in order to actively participate in their therapeutic

path. Education in terms of clinical research means promoting Patient Empowerment, which we believe should become more inclusive, addressed to everyone, because everyone has the right to understand what is clinical research and why it is so important.

Furthermore, Patient Empowerment enables the creation of a loop in a context of Patient Engagement, engaging patients and their associations at the roundtables within clinical research. To this end, on one side, IEO CTO offers tools supporting both patient empowerment and patient engagement; on the other side, it strongly believes in the importance of discussion with companies, clinical research associations, patient associations, volunteer associations supporting

patients, and bodies devoted to the dissemination of clinical research culture.

For over 10 years, Helaglobe, the company organizing this contest, is committed to conceiving and developing projects and different solutions for the healthcare, to ultimately improve patients'

quality of life. Helaglobe mission is to allow patients' access to the most appropriate treatment options in the easiest and fastest manner and live their life at best, every day, with the disease.

What's new from IEO Researchers?

Unamsi award 2023.



Prof Nicoletta Colombo, Director of the IEO Gynecological program, received the Unamsi award for medicine 2023 during the annual Christmas event promoted in Milan by the *Unione*

Nazionale Medico Scientifica di Informazione (UNAMSI).

Congratulations for being working on the frontline in the past 40 years in the research field on gynaecological tumors.

What's new from IEO Researchers?

At IEO a new “pacemaker” against pain.



Congratulations to Dr Vittorio Guardamagna's team that has recently implanted "Inceptiv", the new device which –similar to a pacemaker regulating the heart beat– detects signals along the spinal cord and regulates the stimulation of nervous signals in real time. The stimulation of the

spinal cord interrupts the pain signals between the brain and the spinal cord, avoiding pain perception. Thanks to the joint work of our equipe, IEO is among the first hospitals in Italy offering to patients with chronic pain the most advanced “pacemaker against pain”.

IEO MEMBERS - LET'S GET TO KNOW THEM BETTER

Alice Barbaglio



The first biology book I opened when I was about six years only was a book on sharks that my dad had at home on his night stand. Basically I learned to read and study biology at the same time. Catching a little piece of new knowledge and understanding the mechanisms underlying biological processes is still a passion and a professional motivation. After a PhD in animal biology dedicated to functional morphology of echinoderms (marine invertebrates not all of you probably are aware of knowing), I continued my research path in Italy, with short periods in Spain, Portugal, Scotland, exploring ultrastructural, biochemical and physiological mechanisms regulating tensility of connective tissue. Then, I worked on biomaterials derived from alternative collagen sources. In 2014 I jumped to the other side of the border towards research management, realizing that the border does not exist. I started working in the planning team at the University of Milan, to support those who wanted to navigate the world of funding. Since 2022 I have been working at the IEO grant office, where I could expand my expertise to the area of management of funded projects. This year, I have become also Associate Ambassador for the RM Roadmap project funded by the European commission, aimed at defining and valuing the professional figure of the Research Manager.

Mirko Doni



I lived nearly all my life in Arconate, a little village between the Parco dell'Alto Milanese and Parco Lombardo della Valle del Ticino, a context in which it is difficult not being fascinated by the beauty of nature.

I believe that this is where my passion for life sciences in its entirety comes from, and the reason why I started a career path that first brought me to the high school in scientific topics, and then to get a degree in Chemistry and Pharmaceutical Technologies.

The first time I entered a biology lab was during my undergraduate internship, in the lab of Clinical Cardiovascular Pharmacology at the Mario Negri Institute; a unique training experience.

However, it was only afterwards, during a master in Pharmaceutical Health Management at the LIUC, that I had the chance to know IEO and its mission.

So, in 2004 I joined the Experimental Oncology team, first as part of Bruno Amati's group, then in the Screening Unit and as a volunteer for the set-up of the Covid Lab. Now, I am a Research Assistant in the group coordinated by Susanna Chiocca.

I feel lucky, because I do what I like, and beyond the scientific satisfactions I've gotten, with about 30 papers published and an h-index of 19, the greatest satisfaction for me is having the chance to teach to the new generations what I learned over the years, trying to pass them my enthusiasm for science and life.

IEO MEMBERS - LET'S GET TO KNOW THEM BETTER

Claudia Iavarone



Born near Naples, I studied Biotechnology at the University Federico II in Naples and, in 2009, I got my master's degree in Medical Biotechnology. In 2010 I moved to Milan, where I started my PhD in Molecular Medicine at the European School of Molecular Medicine (SEMM) and where, in prof Pier Paolo di Fiore's laboratory at IFOM, I worked on a research project focused on breast cancer. From 2014 to 2018, I lived in Boston, where I worked, as a post-doctoral fellow in Joan Brugge's lab at Harvard Medical School, on a preclinical and translational research project aimed at the identification of new therapies for ovarian cancer. Since 2019 I have been working in the IEO Technology Transfer Office –IEO-TT– where I deal with the identification, tutelage, and valorization of the most promising and innovative research results of IEO scientists. My passion for biology started during high school, when I attended a class on PCR (Polymerase Chain Reaction) technique: what could happen inside a small plastic tube stimulated my curiosity. This passion led me to travel several km and move overseas, in the heart of international biomedical research, where I realized that my passion went beyond a lab bench and I started expanding my skills with courses on clinical research and business management. Today, "Milanese by adoption", I am the mother of two wonderful daughters (one Italian-American and the another one born in Milan) and I am proud of being part of IEO and IEO-TT and having the chance to explore and support processes and activities that translate the results of a research project in innovation, ultimately reaching the patients.

Simona Rodighiero



In 1999, I earned a Master's in Biological Sciences, specializing in electrophysiology, from the University of Milano. In 2004, I completed a Ph.D., studying how anion currents regulate cell volume. My expertise expanded to encompass laser scanning confocal microscopy and Fluorescence Resonance Energy Transfer (FRET) techniques. From 2005 to 2009, I led the CIMaINa confocal microscopy unit, and from 2009 at Fondazione Filarete, I served as Staff Technologist and Optical Microscopy Coordinator. Projects spanned nanoparticle internalization, cell adhesion, protein-protein interactions, ionic transmembrane transports, and correlative microscopy. In 2015, I joined ETH Zürich as Staff Scientist and lecturer, leading the Microscopy Training Program (MTP). Managing four electron microscopes, I facilitated training by combining lectures and hands-on sessions on electron, optical and correlative microscopy. The organized courses, included in the ETHZ course catalogue for Master and PhD students, covered both basic and advanced techniques. In 2018, I became a part of the European Institute of Oncology, overseeing the Imaging Unit. Collaborating with department researchers, I assist in various optical microscopy experiments, using techniques such as wide-field, confocal, time-lapse, and super-resolution microscopy on different samples, including human tissues from the IEO hospital.

My group and I are actively involved in microscopy and image analysis courses at the European School for Molecular Medicine and in practical laboratory activity for UNIMI master's students. This emphasizes the importance of imparting technical skills and methodological expertise to the next generation of scientists. I am proud to be a co-author of 45 publications in international peer-reviewed journals, reflecting my ongoing commitment to advancing scientific knowledge in the biological field.

IEO MEMBERS - LET'S GET TO KNOW THEM BETTER

Sabrina Tamburini



I am an Assistant Professor (with tenure track) in Microbiology in the Department of Molecular Sciences and Nanosystems at Ca' Foscari University Venice and a Group Scientist in the Department of Experimental Oncology at IEO (European Institute of Oncology in Milan, Italy). Here, I am leading a project about gut microbiome in healthy aging and I am interested in understanding the role of gut microbiome in modulating cancer risk, preventing cancer development, and responding to cancer treatment, especially for immunotherapy approaches. I obtained my PhD in Microbiology in the International Doctoral Program in Biomolecular Sciences at CIBIO, University of Trento (Italy) and I performed my postdoctoral training in the Department of Ge-netics and Genomic Sciences at Icahn School of Medicine at Mount Sinai (New York, USA) where I developed a viability assay to study: *i.* The viable gut microbiome during fecal microbial transplantation in *Clostridium difficile* patients; *ii.* The nasal microbiome and its relation to exposure to secondhand tobacco smoke; *iii.* The re-shaping of gut microbiome in infants delivered by C-section. For my work I received the Robin Chemers Neustein Postdoctoral Fellowship Award, the prestigious for talented early-career female scientists in recognition for talent and innovation in the biomedical sciences.

Alessandro Verrecchia



My science journey could have ended behind a pharmacy bench, offering advice and selling drugs, but when I had to choose between experimental and non-experimental thesis for my degree in Pharmacy, the curiosity of experimenting and the microscope appeal prevailed. That's all because of the Marvel comics...

So I entered the Endocrinology Lab at the faculty of Pharmacy and from that moment syrups, pills and tear-off tabs faded away. The link with endocrinology got stronger with the specialization in Experimental Endocrinology I obtained while I was at the Hepatic Toxicology Lab at the Istituto Mario Negri. Then, I moved to the Experimental Hematology and Gene Therapy lab at San Raffaele Hospital, where I stayed 11 years, working on what turned out to be my real interest: Molecular biology applied to the study of biological mechanisms and therapy. Our lab then became part of the Telethon Institute for Gene Therapy (TIGET) and there my work focused on the development of retroviral and lentiviral vectors. I spent the last two years at San Raffaele in the Molmed research and development division, a biotech company for gene and cell therapy for the treatment of cancer and rare diseases. In 2004 I joined IEO, as Senior Technician in the lab of Bruno Amati, where I currently work mainly in genome editing using the CRISPR-Cas9 technology.



THE BRIEFING

A glance through recent papers from IEO researchers, and from the whole scientific community.

Estrogen receptor loss in breast cancer metastases and patient clinical outcome. A recent study showed that breast tumors with loss of estrogen receptor at metastatic relapse show intermediate features and clinical outcomes as compared to metastatic luminal-like and primary triple-negative breast cancer.

Stefania Morganti, Antonio Marra, Sara Gandini, Liliana Ascione, Mariia Ivanova, Konstantinos Venetis, Elham Sajjadi, Paola Zagami, Federica Giugliano, Beatrice Taurelli Salimbeni, Pier Paolo Maria Berton Giachetti, Chiara Corti, Elisa De Camilli, Giuseppe Curigliano, Nicola Fusco, Carmen Criscitiello.

Eur J Cancer. October 2023. [PMID: 37890353](#).

Genomic characterization of *Segatella coprii*. Metagenomic analyses identified 13 species of the *Segatella coprii* complex, members of the gut microbiome particularly enriched in non-westernized populations, whose role -either detrimental or beneficial- in human health has not been defined yet. Almost all of the *Segatella coprii* strains identified contain a large extrachromosomal element. Furthermore, *Segatella coprii* was mostly present in male individuals and less present in individuals with visceral fat or high levels of markers of cardio metabolic health; conversely, it was more frequently found in individuals following a healthy diet.

Aitor Blanco-Míguez, Eric J C Gálvez, Edoardo Pasolli, Francesca De Filippis, Lena Amend, Kun D Huang, Paolo Manghi, Till-Robin Lesker, Thomas Riedel, Linda Cova, Michal Punčochář, Andrew Maltez Thomas, Mireia Valles-Colomer, Isabel Schober, Thomas C A Hitch, Thomas Clavel, Sarah E Berry, Richard Davies, Jonathan Wolf, Tim D Spector, Jörg Overmann, Adrian Tett, Danilo Ercolini, Nicola Segata, Till Strowig.

Cell Host Microbe; November 2023. [PMID: 37883976](#).

Oral microbiota composition is perturbed by smoking habits. The oral microbiota composition, which was previously associated with heart diseases, correlates with smoking intensity and, in former smokers, with years from cessation. Moreover, specific metabolic pathways, predicted to be affected by smoking, may partially explain the link between smoking and cardiovascular diseases.

Giacomo Antonello, Freida Blostein, Deesha Bhaumik, Elyse Davis, Martin Gögele, Roberto Melotti, Peter Pramstaller, Cristian Pattaro, Nicola Segata, Betsy Foxman, Christian Fuchsberger.

Scientific reports, November 2023. [PMID: 37919319](#).



THE BRIEFING

A glance through recent papers from IEO researchers, and from the whole scientific community.

Mitochondria fusion affects liver health. Experiments in in vivo preclinical models showed that inhibiting mitochondrial fusion prevented the metabolic dysfunction induced by a high fat diet. Furthermore, liver tissue of patients with non-alcoholic fatty acid liver disease (namely, fat accumulation in the liver) displayed higher expression of proteins involved in mitochondrial fusion, indicating a role of mitochondrial fusion in liver health.

Lorenzo Da Dalt, Annalisa Moregola, Monika Svecla, Silvia Pedretti, Francesca Fantini, Mirko Ronzio, Patrizia Ubaldi, Diletta Dolfini, Elena Donetti, Andrea Baragetti, Nico Mitro, Luca Scorrano, Giuseppe Danilo Norata.

Cardiovascular research, October 2023. [PMID: 37922889](#).

High fat diet promotes acute promyelocytic leukemia (APL). Preclinical data revealed the mechanisms underlying the higher risk and worse outcome of APL associated with obesity: While minimally impacting the cell mutational landscape or the driver genes, obesity -modeled by a high fat diet- increased the number of progenitor cells and decreased the number of long term hematopoietic stem cells, through the regulation of fatty acid metabolism.

Luca Mazzearella, Paolo Falvo, Marta Adinolfi, Giulia Tini, Elena Gatti, Rossana Piccioni, Emanuele Bonetti, Elena Gavilán, Debora Valli, Alicja Gruszka, Margherita Bodini, Barbara Gallo, Stefania Orecchioni, Giulia de Michele, Enrica Migliaccio, Bruno A Duso, Sophie Roerink, Mike Stratton, Francesco Bertolini, Myriam Alcalay, Gaetano Ivan Dellino, Pier Giuseppe Pelicci.

Cancer prevention research, November 2023. [PMID: 37956420](#).

Tracking West Nile Virus circulation between Africa and Europe. West Nile virus is a pathogen that has been rapidly spreading in Europe, which can be transmitted by mosquitoes to humans, and, in immunocompromised human hosts, can cause severe illness and death. In a recent study the authors investigated the spatial and temporal dynamics of the virus circulation between Africa (its place of origin) and Europe, providing the scientific community and public health authorities with useful knowledge for future research studies and epidemic activities.

Giulia Mencattelli, Marie Henriette Dior Ndione, Andrea Silverj, Moussa Moise Diagne, Valentina Curini, Liana Teodori, Marco Di Domenico, Rassoul Mbaye, Alessandra Leone, Maurilia Marcacci, Alioune Gaye, ElHadji Ndiaye, Diawo Diallo, Massimo Ancora, Barbara Secondini, Valeria Di Lollo, Iolanda Mangone, Andrea Bucciaccchio, Andrea Polci, Giovanni Marini, Roberto Rosà, Nicola Segata, Gamou Fall, Cesare Cammà, Federica Monaco, Mawlouth Diallo, Omar Rota-Stabelli, Oumar Faye, Annapaola Rizzoli, Giovanni Savini.

Nature Communications, October 2023. [PMID: 37833275](#).



THE BRIEFING

A glance through recent papers from IEO researchers, and from the whole scientific community.

Released the sequence of the bacteria producing the anatoxin A neurotoxin. The genome of strain B0820 of cyanobacterium *Tychonema bourrellyi*, which is known to produce the potent neurotoxin Anatoxin A, has been reported.

Nico Salmaso, Adriano Boscaini, Leonardo Cerasino, Massimo Pindo, Federica Pinto, Nicola Segata, Claudio Donati.

Microbiol Resour Announc, October 2023. [PMID: 37855624](#).

Nutritional and inflammatory status does not predict prognosis of prostate cancer patients. In the context of the RADIOSA clinical trial, researchers showed that blood markers of patients' nutritional and inflammatory status cannot be used to distinguish oligometastatic from polymetastatic prostate cancer patients.

Zaffaroni, Vincini, Corrao, Lorubbio, Repetti, Mastroleo, Putzu, Villa, Netti, D'Ecclesiis, Luzzago, Mistretta, Musi, Cattani, Gandini, Marvaso, Jereczek-Fossa.

Nutrients, October 2023. [PMID: 37960236](#).

Prognostic factors of primary malignant phyllodes breast cancer. Due to the rarity of this tumor type, prognostic factors are still poorly known. The authors showed that while the type of surgery does not affect the patient's outcome, tumor size and pathological features are related to recurrence.

Valenza, De Pas, Gaeta, Castellano, Santoro, Corona, Chiappini, Vivanet, Trapani, Coppola, Conforti, Mattar, Gandini, Veronesi, Pennacchioli, Curigliano.

Eur J Cancer, November 2023. [PMID: 37977104](#).

In a review all available information on the employment of radiotherapy before breast cancer surgery. In the context of an AIRC-funded project, the authors collect all available data concerning technical aspects related to the employment of preoperative radiotherapy in the context of breast cancer patients management.

Zerella, Zaffaroni, Giuseppe Ronci, Dicuonzo, Rojas, Morra, Gerardi, Fodor, Rondi, Vigorito, Penco, Sargenti, Baratella, Vicini, Morigi, Kahler-Ribeiro-Fontana, Galimberti, Gandini, De Camilli, Renne, Cattani, Veronesi, Orecchia, Jereczek-Fossa, Leonardi.

Radiol Med, December 2023. [PMID: 37650981](#).

By controlling neural progenitor proliferation, GTF2I levels modulate autism spectrum disorders. In case of 7q11.23 duplication, the higher expression levels of the GTF2I gene, located on chromosome 7, leads to an earlier generation of excitatory neurons during development, resulting in the typical symptoms of autism spectrum disorders commonly observed in in vivo preclinical models. The altered neuronal proliferation dynamics is rescued by restoring the physiological levels of GTF2I, demonstrating the role of this gene in this



THE BRIEFING

A glance through recent papers from IEO researchers, and from the whole scientific community.

neurodevelopmental disorder. Notably, inhibiting LSD1 protein, which is downstream of GTF2I, is sufficient to rescue autism spectrum disorder symptoms.

Alejandro López-Tobón, Reinald Shyti, Carlo Emanuele Villa, Cristina Cheroni, Patricio Fuentes-Bravo, Sebastiano Trattaro, Nicolò Caporale, Flavia Troglio, Erika Tenderini, Marija Mihailovich, Adrianos Skaros, William T Gibson, Alessandro Cuomo, Tiziana Bonaldi, Ciro Mercurio, Mario Varasi, Lucy Osborne, Giuseppe Testa.

Science Advances, December 2023. [PMID: 38019906](#).

MONDRIAN: a prospective, monocentric, observational clinical trial to identify predictive factors through a multidisciplinary approach. By exploiting a multi-omic analysis (radiomics, genomics and proteomics) of tissues from patients with non-small cell lung cancer, this study is expected to identify biomarkers predicting patient response to radiation therapy, with the ultimate goal of identifying those at high risk of disease progression who may benefit from more aggressive treatment approaches.

Volpe, Zaffaroni, PipernoG, Vincini, Zerella, Mastroleo, Cattani, Fodor, Bellerba, Bonaldi, Bonizzi, Ceci, Cremonesi, Fusco, Gandini, Garibaldi, La Torre, Noberini, Petralia, Spaggiari, Venetis, Orecchia, Casiraghi, Jerezek-Fossa.

BMC Cancer, December 2023. [PMID: 38102575](#).

SIGNOR (SIGNaling Network Open Resource): A web-based database collecting information on disrupted genes and related cell pathways in autism spectrum disorders (ASD). Through scientific literature screen, the authors collected and reported in a freely available database information regarding experimentally demonstrated causal links between ASD-associated genes and cell pathways, to aid the mechanistic understanding of disease pathogenesis.

Iannuccelli, Vitriolo, Licata, Lo Surdo, Contino, Cheroni, Capocefalo, Castagnoli, Testa, Cesareni, Perfetto.

Mol Psychiatry, December 2023. [PMID: 38102483](#).

Plasma biomarkers to predict disease progression. Through the analysis of circulating biomarkers, the authors identified inflammatory and angiogenic molecules to be used as biomarkers of disease progression in Cerebral Cavernous Malformation -a rare condition characterized by vascular malformations in the central nervous system.

Lazzaroni, Meessen, Sun, Lanfranconi, Scola, D'Alessandris, Tassi, Carriero, Castori, Marino, Blanda, Nicolis, Novelli, Calabrese, Agnelli, Bottazzi, Leone, Mazzola, Besana, Catozzi, Nezi, Lampugnani, Malinverno, Grdseloff, Rödel, Jahromi, Bolli, Passamonti, Magnusson, Abdelilah-Seyfried, Dejana, Latini.

EBioMedicine, December 2023. [PMID: 38113759](#).



THE BRIEFING

A glance through recent papers from IEO researchers, and from the whole scientific community.

Efficacy/safety of chemotherapy for resectable esophago-gastric adenocarcinoma (EGA) - a review. To fill a gap in the current knowledge about safety of chemotherapy in EGA patients older than 70 years old, the authors collected in a recent review the current knowledge derived from phase 2/3 clinical trials, highlighting no significant benefit in this patient population (in particular, in the adjuvant or perioperative setting) as compared to surgery alone -or conventional chemotherapy employed with curative scopes.

*Noguez-Ramos A, Gervaso L, Catanese S, Cella CA, Gandini S, Fazio N.
J Geriatr Oncol 2024. [PMID: 37550170](#).*

Efficiently tracking down gene variants with RecallME. RecallME is a bioinformatic tool that enables the accurate identification of difficult-to-detect variants (such as insertions and deletions in highly repetitive regions) for NGS-based studies. RecallME web application is available at <https://translational-oncology-lab.shinyapps.io/recallme/>

*Voza G, Bonetti E, Tini G, Favalli V, Frigè G, Bucci G, De Summa S, Zanfardino M, Zapelloni F, Mazzarella L.
Bioinformatics 2023. [PMID: 38092052](#).*

Guidelines and current challenges in the implementation of genomic tests in clinical routine - a review. The authors discussed the current obstacles in the full exploitation of genomic tests in personalized clinical oncology setting and developed practical guidelines for the interpretation of genomic test results to aid clinicians in the inclusion of genomic information in cancer clinical routine.

*Casolino R, Beer PA, Chakravarty D, Davis MB, Malapelle U, Mazzarella L, Normanno N, Pauli C, Subbiah V, Turnbull C, Westphalen CB, Biankin AV.
CA Cancer J Clin 2024. [PMID: 38174605](#).*

Hippocampal sparing whole-brain radiotherapy - a real world study. The authors showed that this radiotherapy approach for the treatment of cancer patients with brain metastases is effective in controlling cancer progression and a valid option to reduce long term side effects as compared to the conventional approach.

*Corrao G, Bergamaschi L, Eleonora Pierini V, Gaeta A, Volpe S, Pepa M, Zaffaroni M, Vincini MG, Fodor CI, Piperno G, Emiro F, Ferrari A, Gandini S, Cattani F, Orecchia R, Marvaso G, Alicja Jerezek-Fossa B.
Tumori 2024. [PMID: 38182553](#).*



THE BRIEFING

A glance through recent papers from IEO researchers, and from the whole scientific community.

Anti-inflammatory properties of macrophages-mediated activation of cholinergic system in obese mice. In mouse and human visceral white adipose tissue, obesity-induced –through macrophage activation– non-neuronal cholinergic system ultimately counters inflammation of white adipocytes, which is remarkably increased in obesity.

Severi I, Perugini J, Ruocco C, Coppi L, Pedretti S, Di Mercurio E, Senzacqua M, Ragni M, Imperato G, Valerio A, Mitro N, Crestani M, Nisoli E, Giordano A.

Mol metab 2023. [PMID: 38141849](#).

A novel subset of colitis-inducing Th17 cells identified in the gut of Crohn's disease patients. A subset of intestinal, IFN γ - and IL17- producing Th17 cells has been recently identified, which increases in number in the inflamed gut of Crohn's disease patients and decreases after treatment; is activated by adherent-invasive Escherichia coli but not by commensal/probiotic E.Coli.

Maira Paroni, Gabriella Leccese, Valeria Ranzani, Giorgia Moschetti, Matteo Chiara, Federica Perillo, Sara Ferri, Francesca Clemente, Daniele Noviello, Francesco Simone Conforti, Stefano Ferrero, Bhavna Karnani, Roberto Bosotti, Chiara Vasco, Serena Curti, Maria Cristina Crosti, Paola Gruarin, Grazisa Rossetti, Maria Pia Conte, Maurizio Vecchi, Massimiliano Pagani, Paolo Landini, Federica Facciotti, Sergio Abrignani, Flavio Caprioli, Jens Geginat.

J Crohns Colitis, 2023. [PMID: 37462681](#).

Preclinical antitumor efficacy of second-generation CAR-macrophages. The improvement of first-generation CAR-macrophages -containing the (CD3 ζ) domain responsible for phagocytosis– led to the development of second-generation CAR-macrophages which, thanks to the presence of the TIR domain (of TLR4) as part of the CAR, in addition to the CD3 ζ , gained the antigen-dependent ability to maintain the pro-inflammatory (M1) state along with their phagocytosis capability, ultimately enhancing antitumor efficacy, as shown in preclinical in vitro and in vivo models of two different solid tumors.

Nature Immunology, November 2023. [PMID: 38012418](#).

Tumor-associated macrophages (TAMs) induce gene expression reprogramming of pancreatic cells, which represents an early event of malignant transformation. A subset of TAMs, characterized by an inflammatory phenotype, induced by factors (such as PGE2 and TNF) present in the tumor microenvironment of pancreatic cancer, foster tumor progression. Pancreatic cancer cells, in turn, release factors that promote TAM state. TAM-triggered pancreatic cancer cell reprogramming towards a malignant phenotype occurs early during malignant transformation. Such changes in gene expression correlate with poor patient prognosis.

Nature, November 2023. [PMID: 37914939](#).

An anti-cancer vaccine shows promising results in aggressive glioma. Eight patients with aggressive gliomas characterized by a mutated histone 3 protein (in which lysine 27 was replaced



THE BRIEFING

A glance through recent papers from IEO researchers, and from the whole scientific community.

by a methionine) were treated with (anti-PD1) immunotherapy together with repeated vaccination with the mutated peptide in order to stimulate immune system activity against tumor cells. The vaccine safely and successfully induced antitumor (CD4 mainly) T cells-mediated response in 5 out of 8 patients treated. One patient showing a specific antitumor response displayed complete remission for more than 31 months.

Nature medicine, October 2023. [PMID: 37735561](#).

Extracellular vesicles (EVs), circulating tumor cells (CTCs) and metastases: A review. The authors describe the role of EVs in increasing the number of CTCs leaving the tumor, in protecting CTCs in the bloodstream, and ultimately influencing the metastatic dissemination.

Molecular cancer, November 2023. [PMID: 38037077](#).

Genomic alterations during esophageal cancer development. By comparing normal tissue, early and late precancerous lesions, and esophageal cancer, researchers showed that copy number alterations (CNAs) and APOBEC mutations increase at late stages of the malignant transformation, while tp53 inactivation is likely to be the earliest malignant transformation-inducing event, as it increases already in the early stages -in turn inducing CNAs of genes involved in cell cycle, DNA repair, apoptosis.

Cancer cell, November 2023. [PMID: 38039962](#).

Nemtabrutinib - a Tyrosine kinase inhibitor in the treatment of Leukemia and Non-Hodgkin Lymphoma. Results of a phase 1 clinical trial involving 48 patients with relapsed/refractory chronic Lymphocytic Leukemia and B-Cell Non-Hodgkin Lymphoma showed the efficacy (75% overall response rate) of the administration of nemtabrutinib -a reversible inhibitor of the Bruton's Tyrosine Kinase-, despite the manifestation of grade 3 adverse events in 89% of the patients.

Cancer discovery, November 2023. [PMID: 37930156](#).

AI in breast cancer diagnosis. By using real world clinical data the authors showed that a commercially available AI system is effective in aiding standard cancer screening procedures, resulting in an increased percentage of breast cancers detected.

Nature medicine, November 2023. [PMID: 37973948](#).

How do CRC cells specifically metastasize to a given target organ? By single cell and spatial gene expression analysis, researchers identified cell subpopulations -within stem-like metastasizing cancer cells- characterized by the higher expression of specific proteins, showing greater or smaller propensity to colonize liver or ovary. Metastatic dissemination to the ovary involves the DLL4-NOTCH pathway, and the microenvironment of the target organ likely affects the metastatic colonization of the ovary by inducing a metabolic reprogramming.



THE BRIEFING

A glance through recent papers from IEO researchers, and from the whole scientific community.

Gut, November 2023. [PMID: 38050068](#).

RNA methylation in cancer - a review. In a recent review, the authors summarize current evidence on the role of RNA methylation in tumor angiogenesis, cancer progression, as well as its potential as biomarker and therapeutic target.

Mol Cancer, December 2023. [PMID: 38053093](#).

The central role of Interleukin-4 (IL-4) in cancer. In non-small cell lung cancer, bone marrow (basophils and eosinophils)-derived IL-4 induces the transcriptional reprogramming of myeloid progenitors into immunosuppressive (tumor-promoting) myeloid cells, in turn influencing tumor progression. Consistently, in in vivo preclinical models, IL-4 receptor blockade -administered together with (anti-PD1) immunotherapy- enhances the anti-PD1 immunotherapy response and, in the context of a clinical trial, one out of the six patients enrolled shows an almost complete patient response.

Nature, December 2023. [PMID: 38057662](#).

Breast cancer induces systemic changes that have effects on the bone marrow. In in vivo preclinical breast cancer models, localized breast tumors can influence haematopoiesis in the bone marrow, in particular resulting in higher numbers of myeloid cells.

Nature cell biology, December 2023. [PMID: 38036749](#).

The extracellular matrix affects skin cancer initiation. Expression of a constitutively active mutant of an oncogene (Smo) results in a differential reprogramming of cells in different skin types, according to stiffness and collagen content of the extracellular matrix, ultimately affecting tumor initiation. Actively altering the extracellular matrix is sufficient to control Smo-expressing cell reprogramming and tumor initiation.

Nature, November 2023. [PMID: 37968399](#).

Exploiting RNA cargo of extracellular vesicles as liquid biopsy biomarker. By analyzing RNA content of extracellular vesicles in the peripheral blood of metastatic colorectal cancer patients, researchers developed a 22-gene signature predicting patient response to (FOLFOX or XEOLX) chemotherapy and survival, and a 7-gene signature predicting response to first-line oxaliplatin-containing chemotherapy and resistance to second-line irinotecan-containing chemotherapy.

Mol Cancer, December 2023. [PMID: 38062470](#).

A platform to analyze therapy response in patient-derived organoids (PDOs). By analyzing post-translational modification signaling, DNA damage, cell cycle and apoptosis, at single cell resolution, the “Trellis” platform allows to evaluate the effect of drug treatment in PDOs as well as to assess the role of CAFs.

Cell, December 2023. [PMID: 38065081](#).



THE BRIEFING

A glance through recent papers from IEO researchers, and from the whole scientific community.

An interdisciplinary approach to analyze spatial transcriptomics data? In a recent review the authors discuss the current challenges in analyzing spatial transcriptomics data and the potential exploitation of analytical approaches commonly used in geographical sciences.
Cell, November 2023. [PMID: 38065099](#).

MRI to identify breast cancer patients who do not need adjuvant radiotherapy. With the final aim of avoiding unnecessary patient overtreatment, the authors showed that preoperative MRI and tissue pathology are sufficient to identify women with localized breast cancers who can, thus, avoid radiotherapy after surgical excision of the primary tumor.
Lancet, December 2023. [PMID: 38065194](#).

A toolkit to increase the inclusion in clinical studies of commonly underrepresented participants. Through a systematic literature review of existing methodology and a consensus workshop, the authors developed a toolkit to help clinicians in the recruitment of participants with underrepresented (demographic, social, economic, disease-specific, health status) characteristics, to ultimately aid in generalizing research results.
Nature medicine, December 2023. [PMID: 38066209](#).

Histomic Prognostic Signature (HiPS): A deep learning-based score to predict cancer patient survival. By considering neoplastic and non-neoplastic elements in the tumor microenvironment -such as epithelial, stromal, immune features and cell-cell interactions-, HiPS successfully predicts patient survival, independently from other common variables (tumor-node-metastasis), thus representing a useful tool to aid pathologists and improve cancer patient prognosis.
Nature Medicine, November 2023. [PMID: 38012314](#).

Relapse-specific gene expression alterations in pediatric acute myeloid leukemia patients. By using single cell RNAseq and single cell ATACseq to profile 28 matched pediatric leukemia patient samples at diagnosis, remission and relapse, the authors identified specific gene expression programs distinguishing tumors at diagnosis from tumors at relapse (the latter ones being enriched in primitive cells), which may be part of tumor cell response to treatment.
Cancer cell, November 2023. [PMID: 37977148](#).

Recent advances in Precision oncology. In a recent review, by exploiting [OncoKB](#), an “oncology knowledge base” (developed at Memorial Sloan Kettering Cancer Center) collecting biological and clinical information about genomic alterations in cancer, the authors discuss the latest advances in the context of precision oncology.
Cancer discovery, December 2023. [PMID: 38084089](#).



THE BRIEFING

A glance through recent papers from IEO researchers, and from the whole scientific community.

Single-nucleotide variants in the bacterial genome of the gut microbiota associate differently with the host phenotype. Analyses of the gut microbiota genome of over 7.000 individuals revealed that some single nucleotide genomic variants, in 27 bacterial species, were associated with the host body mass index, but were not associated with diet, medications or physical exercise, highlighting the importance of considering differences in single nucleotides in microbiome studies.

Nature medicine, November 2023. [PMID: 37919437](#).

A review to delve into the gut virome. The gut microbiota is constituted by bacteria, eukaryotes and viruses which coexist and influence each other and the host physiology and pathology. A recent review in Gut summarizes the latest results in the study of the gut virome, how it is dysregulated in pathological states, and how it has become the target of innovative therapeutic approaches.

Gut, November 2023. [PMID: 37949638](#).

Gut microbiota diversity role in resisting pathogen colonization. While single species have poor effect on the host ability to resist pathogen colonization, the diversity of the gut microbiota species significantly contributes to increase host resistance to pathogen colonization -which can be also predicted, allowing for the identification of a set of specific bacterial strains capable of limiting the capability of a pathogen to colonize the gut-, likely by consuming common pathogens' nutrients, offering a potential explanation of the health benefits related to microbiota diversity.

Science, December 2023. [PMID: 38096285](#).

Microbiota and melanoma: In a review the latest advances. The authors discuss the current evidence on the role of the microbiota in melanoma treatment, the approaches to microbiota modulation to improve patient response to therapy, and how omic technologies can contribute to the full understanding of the link between microbiota and cancer and the future exploitation of microbiota-targeted interventions in a therapeutic setting.

Cancer cell, January 2024. [PMID: 38157864](#).

ANCOM-BC2 for multi-group analyses of microbial abundance. The authors have developed a tool for performing comparative analyses and measuring differential abundance of microbial species among several study groups (rather than in one-to-one comparisons).

Nature methods, January 2024. [PMID: 38158428](#).

Liquid biopsy to predict colorectal cancer (CRC) patient response to chemotherapy. By sequencing RNA from extracellular vesicles in the blood, the authors defined a 22 RNAs-based



THE BRIEFING

A glance through recent papers from IEO researchers, and from the whole scientific community.

signature capable of identifying responders, progression-free survival and overall survival in metastatic CRC patients.

Molecular cancer, December 2023. [PMID: 38062470](#).

Neutrophils as markers of anti-PD1 immunotherapy response. Interferon-activated neutrophils expressing high levels of Ly6E represent a marker of response to anti-PD1 immunotherapy, both in murine models and in humans. Moreover, in mice, these neutrophils were able to sensitize non-responsive tumors to anti-PD1 immunotherapy.

Cancer cell, January 2024. [PMID: 38181798](#).

EGFR signaling in pancreatic cancer metastasization. In Cancer associated fibroblasts (CAFs) of pancreatic cancer murine models, TGFbeta-induced, amphiregulin-enhanced, activation of EGFR signaling ultimately promotes tumor metastasization; conversely, EGFR deletion limits pancreatic cancer cell metastatic potential, proposing EGFR signaling as a potential target to control tumor invasion.

Cancer cell, January 2024. [PMID: 38157863](#).

Disruption of IL17R signaling in the intestinal epithelium affects microbiota, systemic IL17 levels, and growth of distant tumors. Inhibition, in non-tumor cells, of IL17R signaling affects the gut microbiota, resulting in gut dysbiosis (microbe overgrowth) and systemic increase of IL17 levels, ultimately fostering growth of distant (brain and pancreatic) tumors.

Cancer cell, January 2024. [PMID: 38157865](#).

APOBEC3B and EGFR in lung cancer. In EGFR-mutated lung cancer, APOBEC3B expression reduces tumor initiation, whereas EGFR-targeted therapy activates NF-kB, which in turn induces APOBEC3B expression that is associated with therapy resistance, suggesting APOBEC3B as a potential target to improve targeted therapy response.

Nature genetics, January 2024. [PMID: 38049664](#).

CircFAM53B – a circular RNA-derived peptide inducing an antitumor immune response that limits tumor growth. Identifying tumor-specific antigens capable of eliciting an antitumor immune response against cancer is key to the development of anti-cancer vaccines. The authors identified an antigenic peptide -circFAM53B- translated from a circular RNA (which are typically specifically highly abundant in malignant cells) inducing an antitumor immune response that results in limited tumor growth. Consistently, its abundance in breast cancer and melanoma patients correlates with better patient prognosis. Moreover, in preclinical models, vaccination with circFAM53B significantly inhibits tumor growth, proposing its potential as a novel immunotherapy tool.

Nature, January 2024. [PMID: 38093017](#).



THE BRIEFING

A glance through recent papers from IEO researchers, and from the whole scientific community.

Stereotactic body radiotherapy improved lung cancer patient outcome. A phase 2 study showed that adding stereotactic body radiotherapy (delivering precise intense doses of radiation to the tumor while minimizing damage to healthy cells) to standard of care systemic therapy increased progression-free survival of non-small cell lung cancer patients (although a slightly higher incidence of side effects was observed); conversely, no differences were observed in breast cancer patients.

Lancet, January 2024. [PMID: 38104577](#).



DIAMO IL BENVENUTO A WE WELCOME

Al Khalaf Ruba, Post doc, Scaffidi group
Barkhordar Roxana, Technician, Cavallaro group
Campani Guido, Fellow, Pelicci PG group
Fabrizio Federico Pio, Post doc, Minucci group
Freisa Martina, Post doc, Nezi group
Fulghieri Paola, Post doc, Bonaldi group
Galavotti Sara, Post doc, Mazzarella group
Gianotti Sara, Technician, Santaguida group
Giulivo Alessandro, Undergraduate Student, Scaffidi group
Heiler Martin Laura, Undergraduate Student, Schaefer group
Manfredonia Ivano, Technology Transfer Office
Martiniello Giampaolo, Fellow, Bioinformatics Unit
Matera Antonio, Undergraduate Student, BioComputational Unit
Mazza Flaminia, Undergraduate Student, Testa group
Mazzoleni Andrea, PhD Student, Nezi group
Mittica Vanessa, Temporary, Amati group
Mulazzani Silvia, Technician, Genomic Unit
Pensini Emma, Undergraduate Student, Di Fiore group
Poppa Martina, PhD Student, Mapelli group
Salemi Dorotea, Technician, Derenzini group
Vannini Gaia, Temporary, Scaffidi group

Cover image (by Sara Sigismund, Giorgia Miloro and Deborah Salvi Mesa):

HeLa cells transfected with the ER marker Sec61 β -GFP (cyan), stimulated for 5 minutes with Alexa555-EGF (red) and labelled with an antibody against the mitochondrial marker TOMM20 (green). DAPI, blue. Proximity between epidermal growth factor, ER and mitochondria is observed, suggesting the formation of tripartite contact sites between the three organelles at sites of EGFR endocytosis. These contacts work as platforms where communication between EGFR signaling and mitochondrial metabolism takes place.

Sara Sigismund, Deborah Salvi Mesa, Giorgia Miloro:

Sara Sigismund is Assistant Professor at the Department of Oncology and Hemato-Oncology, University of Milan, and Researcher at the Department of Experimental Oncology, IEO, Milan. Her studies are focused on the role of endocytosis and organelle communication in the control of EGFR signaling, and their possible subversion in cancer.

Deborah Salvi Mesa and **Giorgia Miloro** are two Post-Docs in Sara's team studying the molecular mechanism of membrane contact site formation and their function in the control of EGFR-mediated cell growth and migration.

Curated by:

Stefania Averaimo (Department of Experimental Oncology of the European Institute of Oncology, IEO).

Graphic by:

Greta Mostarda (IEO communication office).

Content writing and revision:

Stefania Averaimo, Ugo Cavallaro, Susanna Chiocca, Pier Paolo Di Fiore, Marzia Fumagalli, Paul Massa, Bronislava Matoskova, Luca Mazzearella, Nico Mitro, Gioacchino Natoli, Paola Scaffidi, Nicola Segata (Department of Experimental Oncology of the European Institute of Oncology, IEO), Emanuela Ottolina (IEO communication office), Francesco Asnicar (University of Trento), Francesco Nicassio (Italian Institute of Technology).

Consulting Board:

Bruno Amati, Tiziana Bonaldi, Pier Paolo Di Fiore, Gioacchino Natoli, Rosella Visintin (Department of Experimental Oncology of the European Institute of Oncology, IEO).