

Lettera di intenti

Titolo del progetto: Cellule staminali mesenchimali da cordone ombelicale (hUCMS) micro-incapsulate come alternativa alla terapia immunosoppressiva convenzionale nel lupus eritematoso sistemico (LES): studio in vitro ed in vivo

Titolo breve: hUCMS micro-incapsulate per la terapia del LES

Coordinatore scientifico:

Nome e Cognome: Alessia Alunno

Istituzione di appartenenza: SSD Reumatologia, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli Studi di Perugia

Qualifica professionale: Medico Chirurgo, Specialista in Reumatologia

Indirizzo: via Enrico dal Pozzo, 06122, Perugia

Telefono numero: 0755783478; 3381482154

Fax numero: 0755783975

E-mail: alessia.alunno@libero.it

C.F. LNNLSS82P65C745B

Elenco delle Unità di Ricerca (Istituzione, Dipartimento, Coordinatore Scientifico):

1. SSD Reumatologia, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli Studi di Perugia, Coordinatore Scientifico Dott.ssa Alessia Alunno
2. Dipartimento di Medicina Interna, Scienze Endocrine e Metaboliche, Università degli studi di Perugia, Coordinatore Scientifico Prof Riccardo Calafiore

Riassunto

1. **Background** Le cellule staminali mesenchimali derivanti dalla gelatina di Wharton del cordone ombelicale (hUCMSc) rappresentano una fonte di cellule MSc adulte le cui proprietà immunomodulatorie sono state dimostrate in studi preliminari. Il Gruppo di Ricerca diretto dal Prof. Calafiore presso l'Università di Perugia ha recentemente sviluppato una matrice di alginato endotoxin-free approvata dall'FDA per somministrazione in vivo di cellule micro-incapsulate e già sperimentata in pazienti affetti da diabete autoimmune.

2. **Obiettivi** Identificare gli effetti immunomodulatori delle hUCMS incapsulate, in vitro su cellule immunitarie ottenute dal sangue periferico di pazienti affetti da LES e in vivo nel modello sperimentale di malattia (NZB/W mice). Identificare i meccanismi molecolari coinvolti ed impostare protocolli terapeutici con le hUCMS da poter applicare nei pazienti affetti da LES.

3. **Metodi** *Studio in vitro*: Allestimento di co-culture con cellule immunitarie isolate dal sangue periferico di pazienti affetti da LES e hUCMS a diversi rapporti. Determinazione della proliferazione cellulare tramite CFSE. Caratterizzazione delle sottopopolazioni T e B cellulari e delle hUCMS prima e dopo coltura mediante citofluorimetria, immunofluorescenza e real time PCR. Analisi del profilo citochinico dei sovrantanti di coltura. *Studio in vivo*: somministrazione per via intraperitoneale di hUCMS incapsulate al modello murino di LES (NZB/W mice). Analisi dei tessuti bersaglio della malattia e degli organi linfoidi secondari in immunistochimica, citofluorimetria e real time PCR.

4. **Risultati attesi** Alla luce dei nostri risultati preliminari *in vitro* su volontari sani e pazienti affetti da sindrome di Sjogren, presentati all'ultimo Congresso Internazionale sull'Autoimmunità, ci attendiamo un effetto immunomodulatorio delle hUCMS sulle popolazioni linfocitarie responsabili del danno d'organo anche in corso di LES. Inoltre, la tecnologia del micro-incapsulamento, già utilizzata in pazienti con diabete autoimmune rende concreta l'applicabilità terapeutica delle hUCMS nei pazienti affetti da LES nell'ottica di evitare o quantomeno ridurre l'uso di terapie immunosoppressive convenzionali gravate da molteplici effetti collaterali.

Informazioni relative al Responsabile Scientifico del Progetto

Data di nascita: 25/09/1982

ISTRUZIONE E FORMAZIONE

-2001 Diploma di maturità scientifica, 100/100

-2007 Laurea in Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Perugia, 110/110 e lode

-2012 Specializzazione in Reumatologia, Università degli Studi di Perugia, 50/50 e lode

ESPERIENZE PROFESSIONALI

- Da luglio 2006 a tutt'oggi attività clinica e di ricerca presso la SSD di Reumatologia, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli Studi di Perugia

- Da ottobre 2008 a ottobre 2009 attività di ricerca in qualità di Visiting Research Fellow presso il Centre for Experimental Medicine and Rheumatology, John Vane Science Centre, William Harvey Research Institute, Queen Mary University of London, United Kingdom

CAMPI DI INTERESSE SCIENTIFICO:

Ruolo delle sottopopolazioni T cellulari effettrici (Th1, Th17) e regolatorie (Treg) nella patogenesi delle malattie autoimmunitarie sistemiche. Applicazione terapeutica della immuno-modulazione T cellulare nei pazienti affetti da lupus eritematoso sistemico e sindrome di Sjögren.

AFFILIAZIONI

-Socia SIR dal 2010

PREMI

- Premio del XLVI Congresso Nazionale della Società Italiana di Reumatologia, Rimini, 4-7 novembre 2009 per la categoria giovani ricercatori

- Premio del XLVII Congresso Nazionale della Società Italiana di Reumatologia, Rimini, 24-27 novembre 2010 per la categoria giovani ricercatori

- Premio del I International Congress on Controversies in Rheumatology and Autoimmunity, Firenze, 10-12 marzo 2011 per la migliore comunicazione orale

- Premio del XLVIII Congresso Nazionale della Società Italiana di Reumatologia, Rimini, 23-26 novembre 2011 per la categoria giovani ricercatori

Partecipazione a 20 congressi nazionali ed internazionali con presentazione di oltre 20 abstracts a primo nome e 4 comunicazioni orali premiate

Co-autore di 19 pubblicazioni edite a stampa

Pubblicazioni (fino a 5 attinenti all'area tematica del Progetto)

1. Gerli R, Nocentini G, Alunno A, Bartoloni Bocci E, Bianchini R, Bistoni O, Riccardi C. Identification of regulatory T cells in systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity Rev.* 2009;8(5):426-430
2. Alunno A, Bartoloni Bocci E, Nocentini G, Bistoni O, Ronchetti S, Petrillo MG, Riccardi C, Gerli R. Role of regulatory T cells in rheumatoid arthritis: fact and hypothesis. *Autoimmunity Highlights* 2010;1:45-51
3. Alunno A, Nocentini G, Bistoni O, Bianchini R, Bartoloni Bocci E, Riccardi C, Gerli R. Glucocorticoid-induced TNFR-related protein (GITR) come marker di cellule T regolatorie umane: espansione della sottopopolazione cellulare GITR+CD25- in pazienti affetti da lupus eritematoso sistemico. *Reumatismo* 2010;63(3):195-201
4. Bianchini R, Bistoni O, Alunno A, Petrillo MG, Ronchetti S, Sportoletti P, Bartoloni Bocci E, Nocentini G, Gerli R, Riccardi C. CD4+CD25lowGITR+: a novel human CD4+ T cell population with regulatory activity. *Eur J Immunol* 2011;41(8):2269-78
5. Alunno A, Bartoloni E, Bistoni O, Nocentini G, Ronchetti S, Caterbi S, Valentini V, Riccardi C, Gerli R. Balance between regulatory T and Th17 cells in systemic lupus erythematosus: the old and the new. *Clin Dev Immunol* 2012 doi:10.1155/2012/823085

Breve descrizione del contributo specifico di ogni Unità di Ricerca

Nell'ambito del presente progetto, la SSD di Reumatologia (Unità I) sarà responsabile della selezione dei pazienti affetti da LES ai quali eseguire un prelievo ematico per lo studio in vitro. Di tali pazienti verrà raccolta la storia clinica, e calcolata l'attività di malattia all'atto dell'arruolamento usando il *systemic lupus erythematosus disease activity index* (SLEDAI). Quindi, l'Unità I sarà responsabile dell'allestimento delle co-colture (utilizzando hUCMS isolate ed incapsulate dall'Unità II), dell'analisi dei sovanatanti delle stesse e della realizzazione degli studi fenotipici in citofluorimetria, sia per le cellule del sangue periferico ottenute dai pazienti prima e dopo coltura con le hUCMS che per quelle isolate dagli organi linfoidi secondari del modello animale. In tal senso, l'Unità I sarà altresì responsabile dell'allestimento della colonia di topi NZB/W, della somministrazione in cieco di hUCMS incapsulate o capsule vuote e della raccolta dei campioni in accordo alle tempistiche dettate dalla storia naturale della malattia e dalla somministrazione di hUCMS. L'Unità I sarà inoltre responsabile della valutazione in cieco dei campioni in immunostochimica allestiti dall'Unità II per caratterizzare l'entità del danno d'organo (es. a livello renale) negli animali che ricevono hUCMS incapsulate o capsule vuote. Infine, l'Unità I sarà responsabile dell'elaborazione dell'analisi statistica (SPSS 13.0 software).

Il Dipartimento di Medicina Interna, Scienze Endocrine e Metaboliche (Unità II) sarà responsabile dell'isolamento delle hUCMS da cordoni ombelicali in accordo al metodo da loro recentemente sviluppato e pubblicato. Quindi le hUCMS verranno conservate in azoto liquido fino al loro utilizzo e successivamente incapsulate nell'alginato endotoxin-free da loro sviluppato alla concentrazione di 3×10^6 cellule/ml di alginato. L'unità II sarà altresì responsabile della caratterizzazione fenotipica delle hUCMS in immunofluorescenza e real time PCR prima e dopo co-coltura con cellule del paziente, così come della caratterizzazione in real time PCR delle cellule del sangue periferico ottenute dai pazienti prima e dopo coltura e dei tessuti bersaglio della malattia nel modello animale. Infine, l'Unità II sarà responsabile dell'allestimento dei campioni per immunostochimica degli organi bersaglio nel modello animale.

Costo orientativo del Progetto

22.000 euro