

Lettera di intenti

Titolo del progetto (max 200 caratteri):

Ruolo dei linfociti T e B regolatorie che secernono interleuchina-10 in pazienti con lupus

Titolo breve (max 50 caratteri):

Linfociti T e B regolatori in pazienti con lupus

Coordinatore scientifico:

Nome e Cognome: Jens Geginat

Istituzione di appartenenza: Istituto Nazionale di Genetica Molecolare

Qualifica professionale: Program Leader

Indirizzo: Via Sforza 32, 20122 Miano

Telefono numero: 02-00660206

Fax numero: 02-00660216

E-mail: geginat@ingm.org

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

1. Istituto Nazionale di Genetica Molecolare, Autoimmunity Program, Dr. Jens Geginat
2. Divisione di Reumatologia, Istituto G. Pini, Dipartimento di Scienze Cliniche e di Comunità – Università di Milano e IRCCS Istituto Auxologico Italiano, Prof. Pier Luigi Meroni

Riassunto (max 2.000 caratteri)**1. Background**

Il Lupus Eritematoso Sistemico (LES) è una malattia infiammatoria cronica, considerata prototipo dei disordini autoimmuni con coinvolgimento multiorgano.

Uno dei meccanismi di controllo dei linfociti B e/o T autoreattivi nel LES è mediato dalle cellule T regolatorie che però sono ridotte in pazienti con patologie autoimmuni. L'interleuchina 10 (IL10) è una molecola prodotta da diverse popolazioni leucocitarie, generalmente con funzioni regolatorie, ma stimolatoria verso le B e quindi patogena nel LES. Abbiamo identificato due diverse popolazioni di linfociti T in grado di produrre IL10 con funzioni opposte nell'help alle B. Da poco sono stati identificati linfociti B con funzioni immunoregolatorie, chiamate B10, che secernono alti livelli di IL10. Attualmente non è noto il ruolo delle diverse popolazioni T e B in grado di produrre IL10 nella patologia del LES, e come la loro (mancata) interazione contribuisca allo sviluppo della malattia.

2. Obiettivi

- analizzare se cellule IL10+ che forniscono help alle B sono aumentate nel LES
- studiare se le cellule Tr1 e Treg sono diminuite o non funzionali in pazienti con LES
- studiare come interagiscono le diverse popolazioni di linfociti T e B in grado di produrre IL10
- analizzare se esiste un asse regolatorio Treg/Tr1-B10 e se è alterato in pazienti con LES;

3. Metodi

- citofluorimetria a flusso per valutare frequenze e caratteristiche fenotipiche delle sottopopolazioni di linfociti T e delle cellule B10 in campioni di sangue periferico
- esperimenti in vitro per valutare l'interazione funzionale tra le sottopopolazioni di linfociti T e le cellule B10,
- anticorpi bloccanti e inibitori specifici per l'identificazione dei fattori coinvolti nella maturazione delle cellule B10
- clonaggio delle molecole di interesse coinvolte nei meccanismi di interazione regolatoria T-B, in vettori lentivirali e trasfezione in cellule T regolatorie umane

4. Risultati attesi

Ci proponiamo di capire se nei pazienti affetti da LES esiste un difetto nell'interazione tra diverse popolazioni di tipo regolatorio, sia T che B e se questo difetto contribuisca ad una generale mancanza di regolazione della risposta immunologica. La nostra idea e' di definire un nuovo network regolatorio tra cellule B10, T regolatorie e diverse popolazioni di linfociti T follicolari con funzione di help alle B. Riuscire a capire in che modo queste cellule regolatorie interagiscono in soggetti sani e se questi meccanismi di interazione sono alterati in pazienti affetti da LES puo' portare alla definizione di nuove terapie che siano in grado di normalizzare questi meccanismi difettosi.

Informazioni relative al Responsabile Scientifico del Progetto

Breve curriculum vitae

Education:

1989-94	Biochemistry at the Free University (FU) of Berlin
1994	Thesis at the Cancer Research Institute (IST), Genoa, Italy
1994	Diploma
1995-9	PhD student at San Raffaele Scientific Institute DIBIT, Italy
1999	PhD
2010	Habilitation in Immunology at the Charité Medical School, Berlin

Positions:

1999-2000	Visiting scientist at the Basel Institute for Immunology, Basel, Switzerland
2000-2006	Scientist at the Institute for Research in Biomedicine (IRB), Bellinzona, Switzerland (lab Lanzavecchia)
2006-10	Junior Group Leader SFB650, Charité Medical School and German Rheumatology Research Centre (DRFZ), Berlin, Germany
2009-	Program Leader "Autoimmunity", Istituto Nazionale di Genetica Molecolare (INGM), Milan, Italy

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

- *Regulation and B-cell help mediated by distinct subsets of IL-10-producing T-cells.* **Facciotti F.**, N. Gagliani*, B. Häring*, **M. Paroni**, P. Gruarin, J. S. Alfen, M. Moro, MC. TM. Pagani, S. Torretta, L. Pignataro, , S. Abrignani, R. Flavell and **J. Geginat** *Manuscript submitted to Immunity*
- *Updating on the pathogenesis of systemic lupus erythematosus* R. Gualtierotti, M. Biggioggero, **A. E. Penatti**, **P. L. Meroni** *Autoimmun. Rev.* 2010 10: 3-7
- *CCR6 is expressed on an IL-10 producing, auto-reactive memory T cell population with context-dependent regulatory function* L. Rivino, P. Gruarin, B. Häring, S. Steinfeld, L. Lozza, E. Sugliano, A. Weick, D. Jarrossay, A. Kuehl, C. Loddenkemper, S. Abrignani, F. Sallusto, A. Lanzavecchia and **J. Geginat** *The Journal of Experimental Medicine*, 2010, 207(3): 565-577
- *Identification and characterization of IL-10/IFN-g producing effector-like cells with regulatory function in human blood* B. Häring, L. Lozza, B. Steckel, and **J. Geginat** *The Journal of Experimental Medicine*, 2009, 206(5): 1009-1017

- *Biology of Interleukin-10* Robert Sabat, Gerald Grütz, Katarzyna Warszawska, Stefan Kirsch, Ellen Witte, Kerstin Wolk and **Jens Geginat**. Cytokine and Growth Factor Reviews 2010, 21(5): 331-44

Breve descrizione del contributo specifico di ogni Unità di Ricerca (max 1.400 caratteri per ciascuna Unità di Ricerca):

L'U.O.1 di INGM e' composta da ricercatori con esperienza internazionale nella ricerca traslazionale umana. Il Dr. Geginat e' internazionalmente riconosciuto come un grande esperto di linfociti T umani e regolatori. Le Dr.sse Facciotti e Paroni hanno esperienza nello studio dei linfociti T e nei pathways regolatori, sono esperte di citofluorimetria, di esperimenti di attivazione di linfociti in vitro e di studi di analisi fenotipiche di pazienti con patologie autoimmuni.

I componenti dell'UO1 si occuperanno della parte dell'analisi fenotipica delle sottopopolazioni regolatorie nei pazienti con LES, AR e controlli sani.

Si occuperanno degli esperimenti in vitro con sottopopolazioni di linfociti T e B purificati per valutarne la funzionalita' e l'interazione e si occuperanno dell'identificazione di fattori responsabili della differenziazione delle cellule B10. Infine cloneranno le molecole di interesse coinvolte nei meccanismi di interazione regolatoria T-B in vettori lentivirali e trasferiranno le cellule T regolatorie umane

L'U.O.2 di reumatologia all'Istituto Pini e' guidato da Prof. Pierluigi Meroni, uno dei massimi esperti della SLE e di autoanticorpi in Italia e internazionali. L'U.O.2 provvederà al reclutamento di 20 pazienti con LES e di 20 con Artrite Reumatoide. Saranno selezionati pazienti di entrambi i sessi e di età >18 anni con malattia in fase attiva. L'attività di malattia sarà definita secondo gli indici internazionali SLEDAI per il LES e DAS28 per l'Artrite Reumatoide. I pazienti inclusi nello studio, previo consenso informato, verranno sottoposti a prelievo di sangue venoso, da cui verrà separata la frazione sierica da utilizzare nei diversi test previsti dal progetto. Il materiale biologico, debitamente codificato e reso anonimo, insieme ai dati clinici e di laboratorio di ogni paziente, verrà inviato all'U.O.1 per l'analisi delle popolazioni linfocitarie.

Inoltre l'U.O.2 eseguirà il dosaggio di anticorpi anti-nucleo (ANA) con tecniche di immunofluorescenza indiretta e anti-ELISA home-made sui campioni provenienti dai soggetti in studio.

Inoltre provvederà al reclutamento di 20 donatori sani omogenei per età e sesso con i gruppi dei pazienti. Dopo la firma del consenso informato, verranno prelevati dai donatori campioni di sangue da cui verrà successivamente separato il siero.

Costo orientativo del Progetto

25.000€