



Brescia 09/05/2023

Alla cortese attenzione di:

**Associazione Valtrompiacuore**

Via G. Zanardelli, 143

Gardone Val Trompia (BS)

Italia

**Oggetto:** Richiesta Finanziamento Progetto di Ricerca-Prof. William Vermi

Pregiatissima Associazione,

la presente per sottoporre alla Vostra attenzione la richiesta di finanziamento per un progetto di ricerca dal titolo: “Espressione di ROR $\gamma$ t nei linfomi anaplastici a grandi cellule.”. Il presente progetto (si veda allegato per dettagli) è nato da una recente scoperta in collaborazione con la Washington University di Saint Louis (USA) sulla identificazione di nuove popolazioni cellulari esprimenti la variante ROR $\gamma$ t del gene RORC.

Il supporto richiesto è di 10.000 euro, necessario a coprire le spese di acquisto di reagenti per la caratterizzazione di linee cellulari di linfomi anaplastici a grandi cellule. Nell’ eventualità di Vostra accettazione, sarà mia cura, come già avvenuto in precedenza, riportare il contributo dell’ Associazione nelle pubblicazioni derivanti.

In attesa di un cenno di riscontro

Cordiali Saluti

**William Vermi**

William Vermi, MD PhD

Professor of Pathology, Head of Immuno-Oncology and Molecular Pathology Research Lab

Department of Molecular and Translational Medicine, Section of Pathology

School of Medicine, University of Brescia

phone: ++39-030399842; fax:++39-0303995377

e-mail: [william.vermi@gmail.com](mailto:william.vermi@gmail.com) or [william.vermi@unibs.it](mailto:william.vermi@unibs.it)



**TITOLO: Espressione di ROR $\gamma$ t nel linfoma anaplastico a grandi cellule T (ALCL)**

**PARTECIPANTI:**

Prof. William Vermi

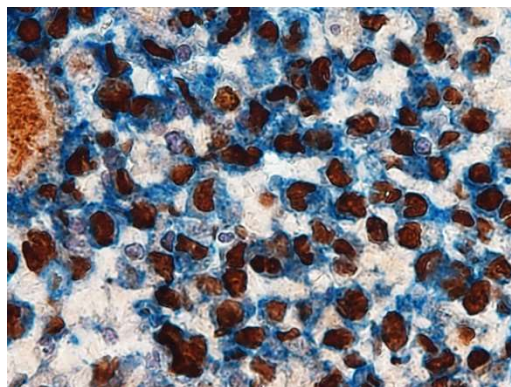
Dr.ssa Silvia Lonardi

Dr.ssa Matilde Monti

**PREMESSA:** Il linfoma anaplastico a grandi cellule T (ALCL) è una malattia rara che rappresenta l'1-3% di tutti i linfomi Non Hodgkin (NHL) e il 15% dei linfomi a cellule T. Si divide in quattro sotto-categorie (WHO 2016): ALCL ALK positivo del giovane adulto (media di insorgenza 30-35 anni), ALCL ALK negativo (media di insorgenza 50-60 anni), ALCL primitivo della cute e ALCL associato a protesi mammaria (rarissimo). L'ALCL è tipicamente positivo per il marcatore CD30; i casi possono presentare un fenotipo T linfoide con marcatori come CD2, CD3, CD4, CD5, CD7 oppure un fenotipo T/null (privo di marcatori T rilevanti). L'ALCL ALK+ rappresenta il linfoma più aggressivo in età pediatrica con un esordio in stadio avanzato (III-IV) e un coinvolgimento extra nodale alla diagnosi, la sopravvivenza (OS) a 5 anni è dell'80-85% e la maggior parte dei pazienti ha una remissione completa di malattia dopo chemioterapia multifarmaco CHOP. ALCL ALK- ha una sopravvivenza media a 5 anni del 55%. I marcatori molecolari DUSP22 and TP63 segregano ulteriormente i linfomi per prognosi: specificatamente la traslocazione t(6:7) DUSP22-IRF4 è estremamente favorevole (90% OS) mentre l'overespressione di TP63 estremamente avversa (17% OS).

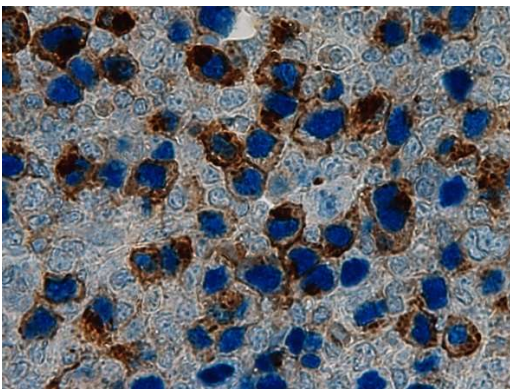
**DATI PRELIMINARI IN CORSO DI PUBBLICAZIONE:** Il laboratorio diretto dal Proponente ha di recente identificato un nuovo tipo cellulare caratterizzato dall'espressione della variante di splicing del gene RORC, denominata ROR $\gamma$ t. Questa proteina era nota essere espressa dai timociti e da una particolare sottopopolazione di linfociti T denominata T helper 17. I nostri dati hanno permesso di identificare una nuova popolazione immunitaria ROR $\gamma$ t<sup>+</sup> nei linfonodi, nei tessuti linfoidei associati alle mucose e nelle strutture linfoidei terziarie di tumori. Queste cellule sono proliferanti e la loro funzione è in via di definizione grazie al supporto del laboratorio del Prof. M. Colonna della Washington University di Saint Louis. Con indagini molecolari sofisticate e studi di trascrittomici sono state identificate in realtà due tipi di cellule ROR $\gamma$ t positive. Le prime sono rappresentate dai precursori di cellule dendritiche e hanno come marcatori identificativi CLEC4A e IL22BP; le seconde molto più rare esprimono CCR7 e hanno trascritti "insoliti" di ormoni quali Prolattina, Proencefalina e Renina e una bassa espressione di un marcatore staminale, il CD34. Il lavoro dove verranno descritte per la prima volta queste cellule è in fase di pubblicazione.

**DATI PRELIMINARI SU ALCL:** Dati di trascrittomici relativi a più di mille linee cellulari commerciali hanno evidenziato che la variante ROR $\gamma$ t è abbondantemente espressa in ALCL ALK<sup>+</sup>. Questo dato inatteso ci ha portato a esaminare 31 ALCL presenti nell'archivio dell'Anatomia Patologica degli Spedali Civili di Brescia (12 ALK<sup>+</sup> e 19 ALK<sup>-</sup> compresi 5 primitivi della cute). I dati hanno confermato che il 71% di questi linfomi si è rivelato essere intensamente positivo nella maggior parte delle cellule neoplastiche per ROR $\gamma$ t (Figura 1).



*Figura 1: doppia immunistochemica su biopsia fissata in formalina e inclusa in paraffina di un caso di ALCL ALK+. Le cellule ROR $\gamma$ t positive sono in colore marrone (colorazione nucleare), in blu il CD30 (colorazione di membrana) indica le cellule neoplastiche. I due marcatori co-localizzano indicando che ROR $\gamma$ t è prodotto da tutte le cellule linfomatose di questo ALCL.*

Questo dato, di per sé importante per finalizzare la diagnosi di un linfoma raro come l'ALCL, suggerisce che questo linfoma possa rappresentare la controparte tumorale di uno dei due sottotipi cellulari ROR $\gamma$ t+ che abbiamo individuato. Abbiamo così proceduto alla caratterizzazione degli ALCL e i dati preliminari ottenuti mostrano la presenza di trascritti per gli ormoni nelle cellule neoplastiche degli ALCL sia ALK+ (7/10) che ALK- (4/4) sia dei casi ROR $\gamma$ t- (3/3) (tramite una metodica che visualizza i trascritti in situ RNAscope) unitamente alla proteina CCR7 (24/24) (Figura 2).



*Figura 2: doppia immunistochemica su biopsia fissata in formalina e inclusa in paraffina di un caso di ALCL ALK+. ROR $\gamma$ t in blu (colorazione nucleare) e CCR7 in marrone (colorazione di membrana) definiscono le stesse cellule linfomatose.*

Questi dati ci permettono di ipotizzare che l'ALCL sia la controparte tumorale del secondo tipo cellulare ROR $\gamma$ t positivo descritto con l'aiuto del laboratorio di Saint Louis.

**IPOTESI SPERIMENTALI:** nel presente progetto intendiamo verificare il significato biologico e clinico dell'espressione di ROR $\gamma$ t nei ALCL attraverso l'utilizzo di linee cellulari commerciali e tessuti umani. In aggiunta testeremo l'ipotesi che gli ALCL derivano da cellule primarie esprimenti ROR $\gamma$ t note o da noi recentemente identificate. Infine, intendiamo testare attraverso la modulazione

della espressione di *ROR $\gamma$* , il ruolo di tale fattore di trascrizione nella biologia di questi linfomi. In questa parte del progetto saremmo supportati dal laboratorio della Prof. Ghigna (CNR di Pavia) e dal laboratorio del Prof. Marco Colonna. Il piano sperimentale prevede circa dodici mesi di lavoro. Il progetto è supportato in parte da fondi del Proponente. Il supporto richiesto è di 10.000 euro, necessario a coprire le spese di acquisto di reagenti per la caratterizzazione di linee cellulari di linfomi anaplastici a grandi cellule.