

Cod. progetto 5M-2020-23682493

Responsabile Scientifico:

Dott.ssa Margherita Massa

Unità Operativa:

Medicina Generale 2 - Centro Amiloidosi Sistemiche e Malattie ad Alta Complessità

Titolo progetto:

Microenvironment cross-talk: role of extracellular vesicles derived from mesenchymal stromal cells of patients with primary myelofibrosis in modifying functional activities of CD34+ hematopoietic progenitor cells

Sintesi Progetto - Abstract:

La mielofibrosi primaria (PMF) è una malattia mieloproliferativa cronica, caratterizzata dalla proliferazione clonale di progenitori CD34+. Una costitutiva attivazione del pathway di JAK-STAT, dovuta ad una mutazione dei geni codificanti per JAK2, MPL or CALR, gioca un ruolo rilevante nella patogenesi, insieme ad uno stato di infiammazione cronica che caratterizza il decorso della malattia. Attualmente la PMF è curata con terapia farmacologica costituita da un inibitore di JAK1,2 (Ruxolitinib) in grado di migliorare i sintomi della malattia, ma senza effetti sul clone cellulare patologico. Abbiamo precedentemente pubblicato che cellule stromali mesenchimali (MSCs) di pazienti con PMF hanno anomalie funzionali e genetiche. Il Ruxolitinib sembra inibire il segnale di JAK-STAT in queste cellule, la crescita di MSCs di donatori sani o pazienti con PMF, e l'espressione di geni correlati alla fibrosi. Inoltre, è stato descritto che questo farmaco riduce la produzione di citochine infiammatorie nelle MSCs, suggerendo un loro ruolo nel modificare il microambiente del BM. Le MSCs sono una parte fondamentale nella comunicazione fra CD34 e microambiente. Studi recenti dimostrano, in patologie diverse dalla PMF, che le microvescicole extracellulari (EVs) derivate dalle MSCs hanno effetti sovrapponibili a quelli delle MSCs parentali. In effetti, EVs che contengono mRNA, microRNA, lipidi e proteine possono essere incorporate in cellule ospiti e modificare le loro funzioni. Nell'emopoiesi normale si è visto che l'incorporazione di EVs in cellule CD34+ sane induce un'attivazione della via di JAK-STAT aumentando i livelli di fosforilazione di STAT5; inoltre, è evidente una diminuzione significativa dell'apoptosi cellulare ed un aumentato potenziale clonogenico.

Lo scopo di questo lavoro è isolare le MSCs dal BM di pazienti con PMF e controlli, ottenere le EVs, e congelarle a -80°C. L'effetto delle EVs verrà valutato in co-culture con cellule CD34+ di controlli e con cellule della linea SET2, che presenta la mutazione di JAK2 che caratterizza i pazienti con PMF. Valuteremo pathways di attivazione, apoptosi, ROS, ed il potenziale clonogenico delle cellule CD34+. Seguiranno esperimenti confermativi con cellule CD34+ JAK2+ di pazienti trattati/non trattati con Ruxolitinib. Una parte dello studio sarà dedicata alla valutazione dell'espressione genica di cellule CD34+ e di SET2 dopo incubazione con EVs. Analizzeremo anche il contenuto delle EVs mediante qRT-PCR e proteomica.

Nel loro insieme i dati ottenuti permetterebbero di capire se vi sono differenze nel microambiente midollare fra pazienti e controlli, e di individuare target importanti di severità/progressione della malattia mediante lo studio dell'espressione genica delle cellule nelle diverse condizioni. Questo studio potrebbe suggerire l'utilizzo futuro di EVs da controlli come terapia acellulare che favorisce la sopravvivenza di cellule CD34 sane o agisce contro la loro controparte clonale JAK2 mutata.

Inizio Progetto:

01/12/2022

Fine Progetto:

30/11/2024

Costo complessivo del progetto:

100.000,00

Totale quote 5 x mille:

100.000,00

Anno riferimento 5 x mille:

2020

Data percezione fondi 5 x mille:

18/10/2021

Budget

Voce	Quota assegnata
Personale di ricerca	0,00
Apparecchiature	0,00
Materiale uso destinato alla ricerca	85.000,00
Spese di organizzazione	10.000,00
Elaborazione dati	0,00
Spese amministrative	0,00
Altro (pubblicazioni)	5.000,00
	100.000,00