

### SOMMARIO

- **STAT-1 agisce come un oncogene nel mesotelioma pleurico maligno.**
  - **Le cellule resistenti al Cisplatino nelle linee cellulari di mesotelioma pleurico maligno mostrano il fenotipo ALDH<sup>high</sup>CD44<sup>+</sup> e la capacità di formare sfere.**
  - **"GAS5 long non-coding RNA" nel mesotelioma pleurico maligno.**
- 

### **STAT-1 agisce come un oncogene nel mesotelioma pleurico maligno.**

*A cura della **Dott.ssa Elisa Barone***

**Razionale e obiettivi:** Il mesotelioma pleurico maligno (MPM) è il più comune tumore della pleura. La sua incidenza è in aumento in Europa. Nonostante il miglioramento dei metodi diagnostici e delle strategie terapeutiche la prognosi dei pazienti con MPM rimane infausta (12-18 mesi di sopravvivenza media dopo la diagnosi) eccetto alcuni casi eccezionali. L'immunoterapia potrebbe essere utile nel trattamento del MPM sia a livello sistemico che intrapleurico. Dopo trattamento con Interferone-gamma (IFN- $\gamma$ ) è stato ottenuto un tasso di risposta relativamente elevato allo stadio I del MPM, inoltre l'IFN- $\gamma$  inibisce la crescita in alcune linee cellulari di MPM. Questo effetto è mediato in parte attraverso l'attivazione del pathway JAK/STAT. L'attivazione di STAT è mediata dalla fosforilazione dei residui di tirosina e serina nel dominio di transattivazione C-terminale attraverso Janus e MAP chinasi (JAK e MAPK) che permettono quindi la dimerizzazione di STAT attivata e la sua traslocazione nel nucleo per l'attivazione dell'espressione di geni target. STAT1 (trasduttore di segnale e attivatore della trascrizione) è considerato un soppressore tumorale ma in realtà il suo ruolo non è ancora stato ben chiarito. L'attivazione di STAT è regolata attraverso diversi regolatori negativi tra cui i soppressori del signaling delle citochine (SOCS), in particolare SOCS1 agisce come inibitore di JAKs inibendo quindi la fosforilazione di STAT1.

Essendo la regolazione del signaling di STAT1 associata a diverse condizioni patologiche, incluso lo sviluppo del cancro, si ipotizza che la deregolazione di STAT1 possa contribuire alla patogenesi del MPM.

**Disegno dello studio:** In sei linee cellulari di mesotelioma: CRL-5915, MSTO-211H, Hmeso, PPM Mill (H2373), PPM Gar (H2461), and PPM Rob (H2595) è stata valutata l'espressione di STAT1 fosforilato e SOCS1 tramite western blot utilizzando le cellule Hepg2 come controllo interno dato il loro alto livello d'espressione di SOCS1.

Sedici campioni tissutali di MPM epitelioide sono stati analizzati per lo stato di fosforilazione di STAT1 e per l'espressione del suo regolatore negativo SOCS1. Attraverso colorazione istologica sono state selezionate le aree tumorali (contenenti più dell'85% di cellule tumorali) da cui sono state estratte le proteine. I lisati proteici sono stati incubati con gli anticorpi primari di STAT1, pSTAT-Y701, pSTAT-S727, e SOCS1 per valutare i livelli di espressione delle suddette proteine. I risultati ottenuti sono stati inoltre validati attraverso immunohistochimica (IHC) effettuata su sezioni di tessuto ottenute dagli stessi blocchi paraffinati utilizzati per l'analisi dell'espressione proteica.

**End point:** Indagare sul potenziale oncogenico di STAT1 e sul ruolo dei suoi inibitori nel MPM. Valutare l'impatto dell'IFN- $\gamma$ , che ha un effetto antiproliferativo nel MPM, sull'espressione di STAT1.

**Risultati:** STAT1 è risultato altamente espresso in tutte le linee cellulari di mesotelioma mentre SOCS1 non era espresso in alcuna linea cellulare eccetto che per la linea di controllo Hepg2. Il trattamento con IFN- $\gamma$  non ha avuto alcun effetto sull'espressione di STAT1, STAT3 e SOCS1 ma la fosforilazione di STAT1 a livello della tirosina 701 (pSTAT1-Y701) è aumentata 15 minuti dopo il trattamento con IFN- $\gamma$ . Mentre l'espressione di pSTAT1-S727 (forma fosforilata a livello della serina 727) non è stata individuata nè prima nè dopo il trattamento.

In tutti i 16 tessuti di mesotelioma l'isoforma  $\alpha$  di STAT1 era altamente espressa e in particolare la forma pSTAT1-Y701 era significativamente maggiore rispetto alla pSTAT1-S727. È stato calcolato il rapporto tra STAT1 fosforilato e non, ed è stata confermata la coesistenza di entrambe le forme all'interno dei nuclei delle cellule di MPM. SOCS1 non era espresso se non a livello delle cellule infiammatorie infiltranti.

**Discussione:** I risultati ottenuti dai campioni tissutali di MPM rispetto ai risultati ottenuti nelle linee cellulari erano leggermente diversi: l'analisi dell'espressione di pSTAT1-Y727 effettuata tramite western blot non è stata abbastanza sensibile nell'individuazione della proteina in esame. La fosforilazione è un prerequisito per la formazione di dimeri di STAT1, l'entrata nel nucleo, il legame al DNA e l'attivazione genica. Comunque non è completamente chiaro se siano necessari entrambi gli step di fosforilazione per la formazione del dimero e il conseguente legame al DNA. Il legame dei dimeri di STAT1 al DNA induce la trascrizione di diversi

target quali SOCS1/3, le caspasi Ice, Cpp32, Inch-1, la survivina e VEGF. La survivina è membro della famiglia di inibitori dell'apoptosi ed è un regolatore chiave della mitosi e di morte cellulare programmata. L'overespressione di survivina è associata a resistenza a chemio e radio-terapia ed è connessa a prognosi infausta. È stato osservato che l' IFN- $\gamma$  induce la fosforilazione di STAT; l'IFN- $\gamma$  promuove il legame di STAT1 al promotore della survivina, incrementandone l'espressione. Sono stati osservati alti livelli d'espressione di survivina attraverso immunoistochimica (IHC) su tessuti di MPM; è plausibile che STAT1 funzioni come oncogene attraverso il pathway STAT1/survivina. Questo potrebbe spiegare perchè il MPM sviluppi rapidamente resistenza alla chemioterapia considerando che STAT1, sebbene non induca proliferazione, attiva l'espressione di proteine antiapoptotiche. Per quanto riguarda i maggiori livelli di pSTAT-Y701 rispetto a pSTAT-S727 sono possibili due interpretazioni: 1) i dimeri di pSTAT-Y701 si accumulano nel nucleo e successivamente vanno incontro a una seconda fase di fosforilazione, 2) oppure che si formi solo una piccola quota di dimeri di doppi fosforilati i quali vengono rapidamente degradati a seguito dell'interazione con il DNA.

L'attività di STAT1 potrebbe essere modulata attraverso meccanismi quali la fosforilazione, l'esportazione nucleare e l'inibizione a feedback da parte di SOCS1. SOCS1 compete con STAT1 per il sito di legame a JAK 1/2 e questo sopprime la fosforilazione di STAT1 da parte di JAK1/2. In tutti i tessuti di MPM la proteina SOCS1 non era espressa, il che significa che questa regolazione negativa a feedback non è attiva. L'espressione di STAT1 sembra fornire alle cellule di MPM un vantaggio in termini di crescita e sopravvivenza. Inoltre, secondo precedenti studi, l'overespressione di STAT1 conferisce resistenza dei tumori a radiazioni e a trattamento con cisplatino.

Comprendere il meccanismo alla base dell'attivazione e della regolazione di STAT1 potrebbe essere una strategia di successo per intervenire sul suo pathway attraverso stimolazione del feedback negativo.

Quindi STAT1 potrebbe essere un target per un trattamento terapeutico atto a ripristinare i meccanismi apoptotici e la sensibilità alla chemioterapia. Comunque altri meccanismi regolatori necessitano di essere approfonditi per chiarire se la mancanza di espressione di SOCS1 sia l'unica ragione per il mantenimento dell'espressione di STAT1.

**Conclusioni:** STAT1 è upregolato nel MPM e SOCS1, suo regolatore negativo fisiologico, non risulta essere espresso nel MPM. STAT1 sembrerebbe avere quindi un ruolo nella patogenesi del MPM comportandosi da oncogene attraverso l'attivazione di proteine antiapoptotiche. Per questo motivo STAT1 potrebbe essere un target per un nuovo approccio terapeutico atto a ripristinare i meccanismi apoptotici e la sensibilità alla chemioterapia.

**Parole chiave:** interferone-gamma; mesotelioma pleurico maligno; STAT1 fosforilato; SOCS1; STAT signaling

**Riferimento Bibliografico Virchows Archiv:** an international journal of pathology, 2014 May 17, PMID: 24838635 Arzt L1, Kothmaier H, Halbwedl I, Quehenberger F, Popper HH. [Epub ahead of print]

## ***Le cellule resistenti al Cisplatino nelle linee cellulari di mesotelioma pleurico maligno mostrano il fenotipo ALDH<sup>high</sup>CD44<sup>+</sup> e la capacità di formare sfere.***

***A cura della Dott.ssa Elisa Paolicchi***

***Razionale e obiettivi:*** La combinazione di pemetrexed e cisplatino è considerato il regime terapeutico di prima linea per il mesotelioma pleurico maligno (MPM), ottenendo un tasso di risposta del 41% e una sopravvivenza mediana di 12,1 mesi. Nonostante i continui sforzi per attuare nuove modalità terapeutiche, niente ha prolungato la sopravvivenza dei pazienti principalmente a causa della chemioresistenza. È stato ipotizzato che la ricaduta del tumore può essere associata con la farmaco resistenza delle cellule staminali tumorali (CST); una popolazione di cellule rare con la capacità esclusiva di auto-rinnovarsi e mantenere la proliferazione cellulare. Quindi, l'identificazione e la completa eliminazione di queste cellule potrebbe essere l'obiettivo finale per la terapia di MPM. Gli studi attuali hanno identificato l'aldeide deidrogenasi (ALDH) e CD44 come marcatori putativi delle CST che presentano alta chemioresistenza nei tumori solidi. La modulazione dell'attività di ALDH è oggetto centrale della ricerca per migliorare l'efficacia dei convenzionali farmaci chemioterapici. In questo lavoro è stato indagato se ALDH può selezionare una sottopopolazione resistente ai farmaci in tre linee cellulari di MPM e valutato se le cellule ALDH<sup>high</sup> sono associate a CD44, ampliando così lo spettro per l'identificazione di una sottopopolazione tollerante al farmaco in MPM. La scelta specifica di una sottopopolazione chemioresistente utilizzando ALDH e CD44 potrebbe servire come potenziale obiettivo terapeutico e impiegato nella terapia adiuvante delle attuali modalità di trattamento standard nel MPM.

***Disegno dello studio:*** Per lo studio sono state utilizzate 3 linee cellulari di MPM (H28, H2052 e ACC-Meso-4). Ogni singola cellula delle linee cellulari di MPM, sortata per ALDH, è stata risospesa in un'opportuna quantità di mezzo per la formazione di sfere e seminata in una piastra non aderente e lasciata crescere per 7-14 giorni. Le immagini e l'efficienza della formazione di sfere è stata valutata al giorno 7. L'efficienza della formazione di sfere è stata determinata dividendo il numero delle sfere formate per l'originale numero delle cellule seminate. La resistenza al cisplatino delle cellule di MPM è stata valutata dopo esposizione ai valori di IC50 ottenuti per le cellule non sortate e le cellule sortate per ALDH, per ciascuna delle tre linee cellulari di MPM. Il trattamento è stato effettuato a diverse concentrazioni per 48 e 72 ore. È stata valutata l'inibizione della proliferazione e le cellule sono state raccolte per valutare l'espressione dell'mRNA, la formazione di sfere e la vitalità cellulare. Il pre-trattamento delle cellule con 100 mM dell'inibitore ALDH (DEAB), è stato effettuato 48 h prima del trattamento con cisplatino. Il kit

ALDEFLUOR è stato utilizzato per identificare le cellule che esprimono l'attività di ALDH. Il saggio basato sulla citometria a flusso è definito come analisi FACS. Le cellule trattate con DEAB sono servite come controllo per impostare le regioni ALDH<sup>high</sup>. I livelli di mRNA del gene housekeeping  $\beta$ 2-microglobulina ( $\beta$ 2M), e geni bersaglio ALDH1A1, ALDH1A2, ALDH1A3, ALDH2 e CD44 sono stati quantificati con le sonde commercialmente disponibili TaqMan Assay. Il livello di espressione genica di ciascun gene target è stato normalizzato dal gene endogeno,  $\beta$ 2M e confrontato tra cellule mediante il metodo  $\Delta\Delta$ CT. Le analisi statistiche sono state eseguite utilizzando Graph Pad Prism software 5.0 ©. Il t-test two-tailed è stato utilizzato per confrontare 2 gruppi. One- or two-way ANOVA con Bonferroni post test, a seconda dei casi è stata eseguita per confrontare i valori di > 2 gruppi. La significatività statistica è stata fissata a  $p < 0,05$ .

**End point:** La chemioterapia convenzionale nel MPM ha un impatto minimo sulla sopravvivenza del paziente a causa della chemioresistenza dovuta a CST. L'obiettivo è quello di individuare una sub-popolazione di cellule chemioresistenti utilizzando marcatori putativi di CST come ALDH e CD44 in tre linee cellulari di MPM: H28, H2052 e Meso4.

**Risultati:** Le cellule sortate per ALDH<sup>high</sup> e ALDH<sup>low</sup> sono state in grado di dimostrare l'eterogeneità fenotipica nel generare sfere, entrambe hanno mostrato una associazione con CD44. È stata identificata un'alta percentuale di cellule ALDH che co-esprimono CD44 nella frazione ALDH<sup>high</sup> di H28 (59,7%), H2052 (51,6%) e Meso4 (69,5%) rispetto a tutte le cellule tumorali. Anche la frazione ALDH<sup>low</sup> co-esprimeva CD44 sebbene a frequenze più basse in H28 (1,8%), H2052 (2,0%) e Meso4 (1,1%) rispetto a tutte le cellule tumorali. Considerati nel loro insieme questi dati mostrano la presenza di sottopopolazioni ALDH<sup>high</sup>CD44<sup>+</sup>. Il trattamento con Cisplatino non è riuscito a ridurre l'attività di ALDH e ha conferito solo un'inibizione a breve termine della generazione di sfere in entrambe le frazioni ALDH<sup>high</sup> e ALDH<sup>low</sup> delle tre linee cellulari di MPM. L'induzione di sensibilità ai farmaci da parte un inibitore ALDH, dietilaminobenzaldehyde (DEAB) ha comportato una significativa riduzione della vitalità cellulare, ma non una completa eliminazione delle cellule di formare sfere, indicativo della presenza di una sottopopolazione resistente ai farmaci.

A livello di trascrizione, le cellule con DEAB, resistenti al cisplatino hanno mostrato livelli di espressione di mRNA iperegolati per ALDH1A2, ALDH1A3 e CD44 che indicano il coinvolgimento di questi marcatori nel conferire chemioresistenza in entrambe le frazioni ALDH<sup>high</sup> e ALDH<sup>low</sup> delle tre linee cellulari di MPM. Discussione: Le cellule ALDH<sup>high</sup>CD44<sup>+</sup> sono coinvolte nel conferire resistenza al cisplatino in tre linee cellulari di MPM; H28, H2052 e Meso4. È stato anche dimostrato che ALDH come unico indicatore non è sufficiente a definire la chemioresistenza delle popolazioni di sferoidi nelle linee cellulari di MPM testate. Tutte le linee cellulari di MPM

sono in grado di produrre sfere per tre generazioni consecutive sostenendo così la proprietà di auto-rinnovamento, una caratteristica delle cellule staminali considerata come una differenza discriminante fondamentale tra CST e non-CST. La presenza dell'attività di ALDH in H28, H2052 e Meso4 supporta ulteriormente l'esistenza di popolazioni di CST in queste linee cellulari. Inaspettatamente, le cellule ALDH<sup>high</sup> e ALDH<sup>low</sup> che avrebbero dovuto delimitare CST dalle non-CST hanno mostrato la capacità di formare sfere e generare l'attività di ALDH sebbene le cellule ALDH<sup>low</sup> erano meno efficienti. Inoltre entrambi hanno mostrato un'associazione con CD44. Inoltre, l'attività di ALDH può dipendere se il tumore è conforme al modello delle CST. Il modello CST propone la presenza di una gerarchia cellulare nel tumore, e che solo un sottoinsieme di cellule tumorali possiede la capacità di auto-rinnovamento e generare diversi fenotipi che compongono la neoplasia. La conversione delle celle ALDH<sup>low</sup> in cellule ALDH<sup>high</sup> nella coltura *in vitro* è una possibile spiegazione. Questa ipotesi segue il modello di staminalità fenotipica che propone che tutte le cellule tumorali possiedono proprietà di staminalità, e che la staminalità è modulata dall'ambiente tale che le CST e quelle non-CST, possono interconvertirsi. Risultati hanno mostrato che l'attività di ALDH è resistente al trattamento con cisplatino nelle frazioni sortate per ALDH delle tre linee cellulari di MPM. Questo è coerente con la funzione biologica di ALDH nella sua capacità di disintossicare farmaci anticancro conferendo resistenza ai farmaci. La presenza della sottopopolazione ALDH<sup>high</sup>CD44<sup>+</sup> nelle frazioni sortate per ALDH indica che, oltre a ALDH, CD44 può contribuire alla resistenza al cisplatino. I risultati hanno dimostrato che la somministrazione di DEAB insieme al cisplatino diminuiva notevolmente la vitalità cellulare nelle cellule ALDH<sup>high</sup>, una eliminazione a breve termine di sfere, ma non una completa inibizione della formazione delle sfere in tutte le frazioni ALDH<sup>high</sup> e ALDH<sup>low</sup> delle linee cellulari di MPM. Il CD44 come ALDH è aumentato dopo l'analogo trattamento con cisplatino+DEAB, suggerendo un ruolo essenziale nel conferire la tolleranza al farmaco. I dati del presente studio indicano che a livello di trascrizione, ALDH e CD44 sono giocatori importanti nella resistenza osservata al cisplatino e DEAB. In particolare, l'inibizione dell'attività ALDH non può sensibilizzare le cellule ALDH<sup>high</sup>CD44<sup>+</sup> al trattamento farmacologico.

**Conclusioni:** Lo studio dimostra che le cellule ALDH<sup>high</sup>CD44<sup>+</sup> sono implicate nel trasmettere la tolleranza al cisplatino in tre linee cellulari di MPM. L'uso combinato di CD44 e ALDH allarga la finestra per l'identificazione e il targeting di una popolazione resistente ai farmaci che possono migliorare le modalità di trattamento attuali mesotelioma.

**Parole chiave:** Mesotelioma Pleurico Maligno, ALDH<sup>high</sup>CD44<sup>+</sup>, Cellule staminali tumorali, cisplatino, DEAB

**Riferimento Bibliografico:** Cortes-Dericks L et al. 2014. BMC Cancer. 2014 Apr 30;14(1):304.

## “GAS5 long non-coding RNA” nel mesotelioma pleurico maligno

A cura della Dott.ssa Ombretta Melai

**Razionale e obiettivi:** Di recente interesse in relazione al mesotelioma pleurico maligno (MPM) è l'analisi del ruolo svolto dai long non-coding RNAs (lncRNA), ossia una classe di RNA lunghi circa 200 nucleotidi non codificante per proteine. Si suppone che svolgano un ruolo di rimodellamento della cromatina e di regolazione trascrizionale e post trascrizionale della espressione genica. Sono stati inoltre associati a *pathways* coinvolti nella cancerogenesi. È stata di recente individuata una minima regione di delezione in mesoteliomi murini che include il locus di *gas5*, un cosiddetto gene ospite per piccoli RNA nucleolari. *GAS5* codifica per un lncRNA dal ruolo ancora ignoto, ma che sembra fungere da esca per i recettori glucocorticoidi e per i microRNA.

**Disegno dello studio:** Sono state utilizzate culture primarie di MPM (coltivate in condizioni prive di siero ed in presenza di atmosfera con ossigeno al 3%) e linee cellulari continue di MPM (coltivate in terreno contenente siero) con lo scopo di valutare se l'arresto della crescita tumorale moduli i livelli di *GAS5* a seguito della inibizione dei *pathways* di “Hedgehog” o “PI3K/mTOR”. La durata del ciclo cellulare è stata determinata mediante un apposito saggio effettuato su cloni contententi brevi sequenze di *GAS5*, generati dalle cellule di mesotelioma ZL55SPT. L'espressione genica è stata quantificata mediante PCR quantitativa. Per studiare il promotore di *GAS5*, una sequenza di 0,77 kb è stata inserita in un vettore reporter (pGL3) e l'attività della luciferasi è stata determinata dopo corrispettiva trasfezione di cellule di MPM. La localizzazione di *GAS5*- lncRNA è stata effettuata tramite tecniche di ibridazione *in situ*. Infine, l'espressione della podoplanina e di Ki-67 è stata valutata mediante immunistochimica su 116 campioni tumorali, al fine di caratterizzare le cellule esprimenti *GAS5*.

**End point:** Investigare se *GAS5* possa svolgere un ruolo nella crescita del mesotelioma pleurico maligno. Risultati: L'espressione di *GAS5* è significativamente più bassa comparata a quella delle cellule mesoteliali. Per investigare se l'espressione di *GAS5* possa essere modulata da farmaci che inducono l'arresto della crescita, le cellule di MPM sono state trattate con HhAntag, inibitore del *pathway* di Hedgehog, o con NVP-BEZ235, potente modulatore del *pathway* PI3K/mTOR. A seguito del trattamento con tali farmaci, è stato osservato un significativo aumento dei livelli di *GAS5*-lncRNA e del numero di cellule quiescenti rispetto al controllo. Per comprendere poi se tale aumento fosse attribuibile ad una incrementata attività del promotore di *GAS5*, le cellule di MPM sono state trasfettate con il gene reporter della luciferasi posto sotto il controllo della sequenza corrispondente a quella del promotore di *GAS5* e l'attività della luciferasi è stata misurata 24 ore dopo il trattamento con i farmaci



inducenti l'arresto della crescita cellulare, evidenziando un incremento dose-dipendente della attività del suddetto promotore dopo il trattamento a base di HhAntag o NVP-BEZ235. Nell'insieme, questi risultati suggeriscono che *GAS5* possa partecipare all'azione inibitoria della crescita cellulare insieme a HhAntag e NVP-BEZ235 nelle cellule di MPM. Il passo successivo è stato quello di investigare il ruolo di *GAS5* nella crescita del MPM, tramite tecniche di silenziamento genico. Nello specifico, poiché *GAS5* funziona da esca per i recettori glucocorticoidi e le cellule ZL55SPT necessitano di glucocorticoidi nel mezzo di coltura per una loro crescita ottimale, gli autori ipotizzano che la modulazione dei livelli di *GAS5* possa modificare l'espressione di geni correlati ai glucocorticoidi, come *GILZ* e *SGK1*. In modo concorde con quanto postulato, gli autori trovano che ad una diminuzione della espressione di *GAS5* corrisponde un significativo aumento di *GILZ* e *SGK1*, indicando un ruolo negativo di *GAS5* nella espressione di tali geni. Inoltre è stato visto che le cellule di mesotelioma silenziate per *GAS5* mostravano un ciclo cellulare più corto rispetto al controllo. Collettivamente questi risultati confermano che il silenziamento di *GAS5* ha conseguenze funzionali nella crescita delle cellule di MPM coltivate in condizioni di assenza di siero. Attraverso tecniche di ibridazione *in situ* è stato poi possibile identificare la localizzazione di *GAS5*, presente soprattutto a livello nucleare. In modo sorprendente, l'espressione di *GAS5* nei campioni tumorali di MPM era nettamente maggiore rispetto a quelli di controllo ed è stato visto che sono soprattutto le cellule neoplastiche quiescenti ad esprimere alti livelli di *GAS5*. Inoltre gli autori hanno meglio caratterizzato l'espressione di *GAS5* con quella di comuni markers del mesotelioma, quali mesotelina, calretinina e podoplanina, evidenziando una correlazione positiva tra i livelli di *GAS5* e quelli di podoplanina sia nei MPM di tipo epitelioide, che in quelli bifasici e sarcomatoidi.

**Discussione:** Si ritiene che *GAS5* sia coinvolto nella regolazione dei glucocorticoidi, nonché nel rimodellamento della cromatina, in quanto l'espressione di *GAS5* aumenta anche in seguito all'arresto della crescita cellulare indotto dal silenziamento del complesso SWI/SNF, una famiglia di enzimi che interrompono il contatto DNA/istone in maniera ATP-dipendente. Dopo il trattamento con farmaci che inducono l'arresto della crescita, i livelli di *GAS5* aumentano. È interessante notare che dati a livello del genoma e del trascrittoma di cellule di lievito in proliferazione o in quiescenza hanno rivelato che sebbene le dimensioni del proteoma sono simili nelle cellule in proliferazione e in quelle quiescenti, il trascrittoma è ridotto del 20% nello stato quiescente rispetto a quello delle cellule in proliferazione. Questo può indicare che l'aumento di *GAS5* osservato dopo trattamento con farmaci che inducono l'arresto del ciclo cellulare è probabilmente sottovalutato nel contesto dell'intero trascrittoma. L'elevata espressione di *GAS5* trovata nei tessuti di MPM è

in contraddizione con quanto trovato in altre neoplasie, come il cancro al seno, vescica o pancreas, dove i livelli di *GAS5* sono nettamente inferiori nei tessuti tumorali rispetto ai controlli. Una spiegazione potrebbe risiedere nel fatto che l'espressione di *GAS5* sembra essere tessuto-dipendente. Interessante è la correlazione positiva individuata tra i livelli di *GAS5* e podoplanina. La podoplanina è una glicoproteina transmembrana che induce l'aggregazione piastrinica ed è altamente espressa nel MPM. E' stato precedentemente dimostrato che alti livelli di *GAS5* regolano negativamente l'azione di micro-RNA. Per questo gli autori ipotizzano che *GAS5* oltre a modulare il ciclo cellulare possa impedire la degradazione dell'mRNA della podoplanina, micro-RNA mediata. Ulteriori studi sono comunque necessari per avvalorare quest'ultima ipotesi.

**Conclusioni:** In conclusione, le osservazioni che i livelli di *GAS5* modificano la proliferazione cellulare in vitro e che l'espressione di *GAS5* nei tessuti di MPM è associata alla quiescenza cellulare ed alla espressione della podoplanina supportano un ruolo svolto da *GAS5* nella biologia del mesotelioma.

**Parole chiave:** mesotelioma pleurico maligno; long non-coding RNAs; RNA-FISH; quiescenza; durata del ciclo cellulare.

**Riferimento Bibliografico:** Renganathan A et al., Mol Cancer. 2014 May 23;13(1):119. doi: 10.1186/1476-4598-13-119

## NEWSLETTER GRUPPO ITALIANO MESOTELIOMA (GIMe)

<http://www.gime.it/>

<https://www.facebook.com/pages/GIME-Mesotelioma-Luciano-Mutti/457987864331790?ref=nf>

**Direttore:** Prof. Luciano Mutti (Direttore del Dipartimento di Medicina Generale e del Laboratorio di Oncologia Clinica, Vercelli/ Ospedale di Borgosesia)

**Coordinatrici:** Dott.ssa Ombretta Melaiu (Università di Pisa) Dott.ssa Elisa Paolicchi (Università di Pisa)

**Web editor:** Lillo Mendola

### Hanno contribuito a questo numero:

Dott.ssa Ombretta Melaiu (Università di Pisa) Dott.ssa Elisa Paolicchi (Università di Pisa) Dott.ssa Elisa Barone (Università di Pisa)

Supervisione Prof. Luciano Mutti (Direttore del Dipartimento di Medicina Generale e del Laboratorio di Oncologia Clinica, Vercelli/ Ospedale di Borgosesia)

Contatti: [luciano.mutti@hotmail.it](mailto:luciano.mutti@hotmail.it),  
[ombretta.melaiu@for.unipi.it](mailto:ombretta.melaiu@for.unipi.it)  
[elisa.paolicchi@for.unipi.it](mailto:elisa.paolicchi@for.unipi.it)

### **DISCLAIMER – Leggere attentamente**

Gli autori e redattori della newsletter del Gruppo Italiano Mesotelioma sono Medici, Farmacisti e Biologi, e quanto riportato deriva da affidabili ed autorevoli fonti e studi scientifici, accompagnato dai relativi estratti o riferimenti bibliografici alle pubblicazioni. In ogni caso, le informazioni fornite, le eventuali nozioni su procedure mediche, posologie, descrizioni di farmaci o prodotti d'uso sono da intendersi come di natura generale ed a scopo puramente divulgativo ed illustrativo. Non possono, pertanto, sostituire in nessun modo il consiglio del medico o di altri operatori sanitari. Nulla su <http://www.gime.it/>, sulle relative newsletter, e-mails, o qualsiasi dei progetti del GIMe, può essere interpretato come un tentativo di offrire o rendere un'opinione medica o in altro modo coinvolta nella pratica della Medicina. Il gruppo italiano mesotelioma, i suoi Soci od altre parti ad esso connesse non possono, quindi, essere ritenuti responsabili circa risultati o conseguenze di qualunque utilizzo o tentato utilizzo di una qualsiasi delle informazioni riportate.

***Il servizio è totalmente gratuito e non esistono conflitti di interesse o finalità di lucro. Non sono ammesse la divulgazione e la diffusione della newsletter "GIMe" senza precedente autorizzazione scritta del Gruppo Italiano Mesotelioma.***

***Sostieni il Gruppo Italiano Mesotelioma (GIMe)!***

***Il GIMe è un'associazione senza scopo di lucro, sostienilo con il tuo 5 per mille dell'IRPEF per destinare tali fondi a Borse di studio e di ricerca per giovani ricercatori.***