

Programma

“Sviluppo pre-clinico e clinico di nuove terapie per il Mesotelioma guidate da valutazioni molecolari”

Descrizione delle attività

Milano, 14 maggio 2018

Indice

1. Premessa.....	3
2. Attività propedeutiche all'avvio del Programma	4
2.1 Organizzazione incontro di tutti i team coinvolti	4
2.2 Valutazione dei progetti rimodulati da parte di un Panel di esperti	4
2.3 Valutazioni e raccomandazioni su aspetti scientifici e fattibilità.....	4
2.4 Attivazione di un Programma Integrato	5
3. Modalità di lavoro e organizzazione	5
4. Descrizione delle attività, obiettivi, azioni e responsabilità	9
5. Budget preliminare	11
6. Allegati	11

1. Premessa

Nel luglio del 2017 la Direzione Generale della Sanità del Piemonte, dopo una serie di contatti preliminari, ha affidato al Dott. Apolone (Fondazione IRCCS INT di Milano) l'incarico di svolgere una prima analisi delle criticità delle progettualità avanzate da diversi team e Istituzioni di Ricerca coinvolti nel Programma sin dal 2015, produrre un primo documento propositivo ed eventualmente agire come Organo/Istituto di Garanzia e Coordinamento Scientifico, di concerto con il Comitato Scientifico e gli Organi Istituzionali Regionali.

Ad una prima analisi dei documenti messi a disposizione, il dott. Apolone scriveva in un primo report datato 7 Agosto 2017: "Nonostante l'ambizioso obiettivo di produrre evidenze con un approccio integrato (traslazionale) che vede coinvolte alcune eccellenze nazionali in ambito preclinico, clinico ed epidemiologico, i progetti proposti nell'ambito del Programma non hanno un disegno che sfrutti al meglio le numerose competenze multi-disciplinari ... le singole proposte esaminate, per quanto ciascuna valida ed alcune con team progettuali multidisciplinari intra-progetto, non sono integrate con le altre; talvolta si osservano replicazioni e rindondanze.... Inoltre: " .. non essendo un programma integrato... ogni singola proposta progettuale è stata confezionata con formati e modalità diverse che rendono difficile e laboriosa la valutazione ...mancano aspetti essenziali ...quali: governance e struttura organizzativa del team, presenza di Advisory Board, meeting periodici per discutere stato di avanzamento, ecc., ...inoltre... mancano criteri da parte degli Enti Finanziatori e con responsabilità di gestione (Regione, AO, Associazione Vittime, Comitato Scientifico, ecc) che permettano di valutare la scientificità, congruità economica e i risultati intermedi delle varie attività...". E' stato anche rilevato che la somma delle richieste di finanziamento superava di gran lunga le disponibilità finanziarie. Infine, in alcune delle proposte erano presenti obiettivi di ricerca non congrui con le finalità della iniziativa.

Si proponeva inoltre la seguente roadmap per arrivare a dare avvio al Programma:

- 1) organizzazione di un incontro di tutti i team;
- 2) valutazione dei progetti rimodulati da parte di un panel di esperti;
- 3) notifica delle valutazioni con raccomandazioni su aspetti scientifici e fattibilità;
- 4) attivazione di un Programma Integrato.

2. Attività propedeutiche all'avvio del Programma

2.1 Organizzazione incontro di tutti i team coinvolti

Il giorno 13 Novembre 2017 si è svolto l'incontro previsto dove ogni team ha presentato il proprio progetto; ne è seguita una discussione dove si sono approfonditi i pro e contro di diverse proposte operative, dal disegnare un nuovo Programma integrato e multidisciplinare identificando un unico PI, ad attivare una procedura ex novo di selezione delle progettualità, con precise fasi di valutazione in termini di fattibilità e raggiungimento di obiettivi condivisi e risultati attesi definiti, fino all'ipotesi di attivare un finanziamento iniziale dei progetti già discussi con richiesta di dati preliminari a 12-18 mesi e eventuale continuazione in una logica di cofinanziamento.

Il percorso di attuazione del Programma viene quindi concordato come segue: conferire un finanziamento iniziale di entità da definire ai gruppi di ricerca rilevanti, con l'impegno a presentare dati preliminari entro 12-18 mesi, riportando i risultati ottenuti e dimostrando la capacità di raggiungere alcuni risultati intermedi (fattibilità) e attrarre fondi (co-funding).

2.2 Valutazione dei progetti rimodulati da parte di un Panel di esperti

In tempi diversi e successivi, i responsabili dei 4 team di ricerca hanno inviato al dott. Apolone una riformulazione delle singole progettualità cercando di renderle più coerenti all'obiettivo del progetto e più articolate in relazione alle fasi e alla tempistica, con relativo budget. La raccolta delle nuove proposte si è conclusa il giorno 23 Dicembre 2017.

Nel periodo successivo un team di esperti costituito presso la Fondazione INT ha valutato gli aspetti scientifici, la congruenza con le finalità della iniziativa, la fattibilità e il budget. Questo processo si è concluso nella prima settimana di Febbraio 2018.

2.3 Valutazioni e raccomandazioni su aspetti scientifici e fattibilità

Alla luce di alcune criticità emerse e non risolte nelle varie riformulazioni dei progetti, i 4 team di ricerca sono stati ulteriormente intervistati e è stato richiesto di apportare ulteriori modifiche ai progetti per avviare alla:

- genericità nella descrizione delle attività previste con spesso nessuna tempistica precisa;
- mancanza di presentazione del team di ricerca, in alcuni casi nessuna indicazione di un P.I. e delle effettive competenze tecnico-scientifiche dei ricercatori coinvolti;
- attività proposte non completamente congruenti con la mission del progetto e la relativa disponibilità finanziaria;
- nessuna indicazione di possibili co-finanziamenti;
- scarsa chiarezza sul reclutamento dei casi previsti.

In questa fase si è anche provveduto ad una ridiscussione dei singoli budget con ogni team, con analisi delle criticità ed esclusione di specifici task considerati ridondanti, non fattibili e/o non congrui con le finalità del Programma.

2.4 Attivazione di un Programma Integrato

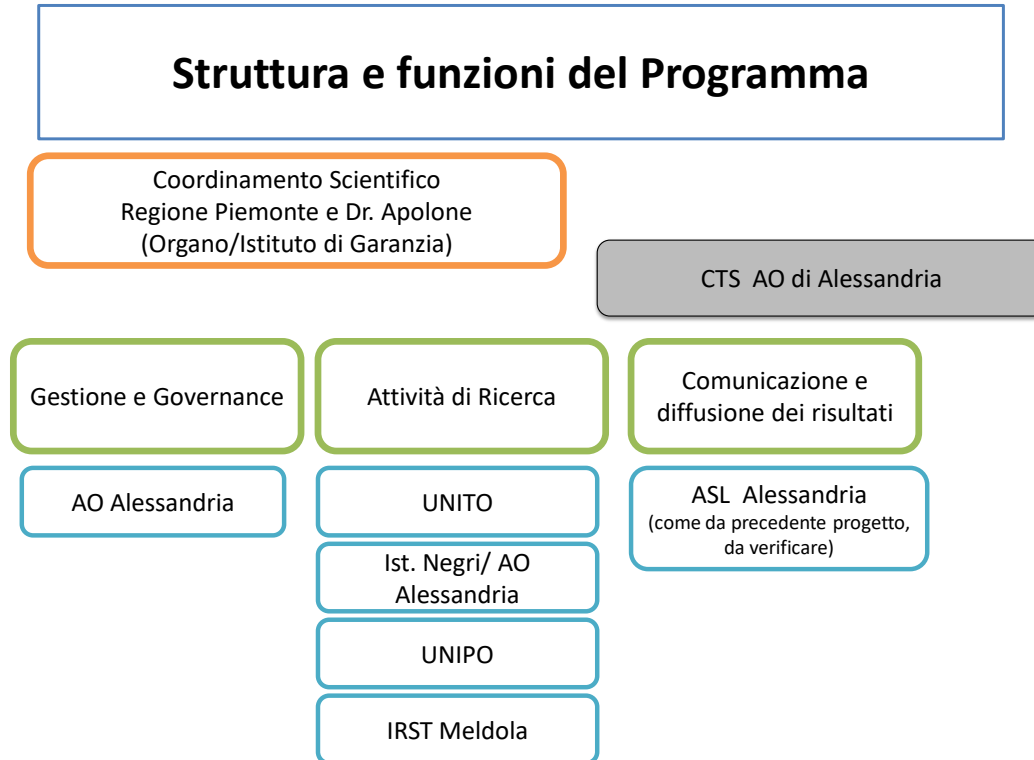
A seguito del lavoro di valutazione svolto e della richiesta di documentazione e informazioni integrative, le 4 progettualità sono state ricondotte a format comuni (scheda progetto, abstract e budget) e integrate in un Programma che prevede anche una attività di *coordinamento e governance* dell'intera iniziativa e una attività di *comunicazione e divulgazione dei risultati*.

Si è inoltre portata avanti una verifica della effettiva disponibilità finanziaria da allocare ai progetti di ricerca e la decisione della entità di fondi da destinare globalmente alle 4 proposte.

3. Modalità di lavoro e organizzazione

Le attività preliminarmente descritte verranno inserite in un modello organizzativo coordinato e coerente che consenta la gestione complessiva dell'iniziativa e sfrutti al meglio le numerose competenze multi-disciplinari in campo, modello al quale si propone di ricondurre anche le 4 progettualità già discusse.

Le attività del Programma vengono quindi riportate, con l'identificazione di precise responsabilità, ruoli, mansioni e tempistica, alla seguente struttura di governance:



Nell'ambito del presente modello, possono essere identificate le seguenti responsabilità e funzioni:

	Soggetti coinvolti	Ruolo e funzioni	Modalità e tempi
Coordinamento Scientifico di Programma	Regione Piemonte/ Direttore Scientifico ente terzo	Organo di verifica e garanzia, valuta gli esiti del lavoro di ricerca svolto nell'ambito del Programma, fornisce raccomandazioni di indirizzo e di intervento all'AO Alessandria e ai P.I dei progetti.	Su base annuale e a conclusione dei 18 mesi
Comitato Tecnico Ricerca AO Alessandria	Membri del CTR dell'AO di Alessandria	Organo di consultazione tecnico-scientifica, fornisce consigli di carattere strategico alla Direzione Generale dell'AO di Alessandria e propone soluzioni migliorative per la governance del Programma	SAL ogni 6 mesi
Gestione e governance	Struttura designata dall'AO di Alessandria e personale di supporto	Funzione operativa per la gestione amministrativa e contabile; coordinamento dell'iniziativa; gestione delle relazioni tra stakeholder e responsabili scientifici delle 4 progettualità.	Su base continuativa
Attività di Ricerca	Il Ricercatore (P.I.) nell'Ente	Gestione dei fondi assegnati	Su base continuativa e alle

	destinatario del finanziamento per il progetto Responsabile Scientifico del progetto stesso.	attenendosi alla previsione di budget proposta e approvata; definizione e coordinamento del gruppo di ricerca; presentazione dei report scientifici intermedi e conclusivo dettagliato dei risultati del progetto e della rendicontazione economica finale.	scadenze di reporting previste dal progetto
Comunicazione e diffusione risultati	ASL di Alessandria (come indicato nel precedente progetto, da verificare)	Coordina le attività di comunicazione esterna del programma, predispone comunicati stampa; organizza eventi di sensibilizzazione	Da definire

Il programma prevede una verifica a dodici mesi del raggiungimento degli obiettivi previsti dalle quattro progettualità; oltre ad un report si prevede la organizzazione di una giornata di presentazione dello stato di avanzamento del progetto in plenaria (tutti i team presenti) e con la partecipazione di revisori esterni (scelti dal Coordinamento Scientifico). La verifica e discussione prenderà in considerazione le attività svolte, il rispetto di quanto previsto dal Protocollo e dei tempi e risultati ottenuti, soprattutto per permettere un giudizio di fattibilità.

In caso di valutazione positiva si destinerà un ulteriore percentuale del finanziamento, in caso contrario si valuterà l'opzione di concludere /ridimensionare il progetto o di estenderlo di altri 6 mesi ad iso-risorse.

A diciotto mesi dall'avvio delle progettualità, a seguito di una ulteriore fase di valutazione, condotta sempre attraverso la presentazione di report scientifici ed economico e di un incontro in plenaria, potrà avvenire il saldo complessivo delle risorse in caso di valutazioni positive.

Oltre ai criteri applicati al dodicesimo mese nella precedente verifica, si prevede di valorizzare la presenza di co-finanziamenti e di collaborazioni tra i diversi team attivati nel corso dei diciotto mesi.

Conclusa questa prima fase, il coordinamento Scientifico si propone di valutare una riformulazione di un nuovo progetto, unitario e completo, sulla base dei risultati dalla fase precedente che, presumibilmente, potrà avere come attività principale la conduzione di uno studio clinico di fase precoce.

4. Descrizione delle attività, obiettivi, azioni e responsabilità

ATTIVITA'		OBIETTIVI	AZIONI	RESPONSABILE	TIMING
Attività 1	Coordinamento e governance	Facilitare l'attivazione delle iniziative e monitorarne i progressi e i risultati Garantire una puntuale gestione del Programma che permetta di valutare la scientificità, congruità economica e risultati intermedi delle varie attività.	Governance del programma e attivazione delle procedure per la gestione (Regolamenti); definizione dei ruoli e responsabilità dei soggetti coinvolti	AO Alessandria	Mesi 0- 24
			Redazione di Linee Guida per la corretta gestione delle progettualità finanziate, per il monitoraggio dei risultati e la verifica amministrativa e contabile delle spese;		
			Organizzazione meeting periodici tra i soggetti attuatori della ricerca e i loro P.I. , gli organi di garanzia, per discutere stato di avanzamento del Programma;		
			Verifica, monitoraggio e controllo della disponibilità finanziaria del Programma, assegnazione dei finanziamenti e pagamenti a stato avanzamento lavori;		
			Supporto ai soggetti responsabili dei progetti finanziati nella predisposizione di report, documentazione e informazioni integrative richieste dal CTS o dagli Organi di Garanzia.		
Attività 2	Progettualità e attività di ricerca	Produrre evidenze con un approccio integrato (traslazionale) che vede coinvolte alcune eccellenze nazionali in ambito preclinico, clinico ed epidemiologico Costruzione di una coorte prospettica da seguire nel tempo Valutazione degli aspetti genetici e studio di meccanismi molecolari; Produzione di modelli animali specifici, implementazione di clinical trials basati sulle evidenze biologiche e molecolari.	Mesothelioma pipeline: from the genome to innovative therapeutic approaches (MESOLINE)	P.I. UNITO	Mesi 1-12 Mesi 12-18
			HERMES - HEreditary Risk in MESothelioma	P.I. UNIPO	
			MATCH – Mesothelioma And Translational Clinical and Health-related data – an observational prospective cohort biological study	P.I. Negri/Alessandria	
			Mesothelioma project : from preclinical models to clinical approaches	P.I. IRST tbd	
Attività 3	Comunicazione e diffusione dei risultati	Avviare azioni di comunicazione interna (AO e ASL del territorio e tra partner e soggetti finanziatori) ed esterna (a pazienti, famigliari, associazioni)	Redazione di un Piano di comunicazione integrata del Programma;	ASL Alessandria (come da precedente programma, da confermare)	Mesi 8-24
			Definire azioni specifiche finalizzate alla comunicazione interna (tra partner e soggetti finanziatori) ed esterna, identificando azioni mirate rispetto ai diversi stakeholder.		

5. Budget preliminare

ATTIVITA'		BUDGET 18 MESI	
Attività 1	Coordinamento e governance	€	35.000,00
Attività 2	Progettualità e attività di ricerca	€	1.162.303,00
Attività 3	Comunicazione e diffusione dei risultati	€	15.000,00
TOTALE		€	1.212.303,00

6. Allegati

In allegato si forniscono gli abstract delle quattro progettualità concordate ad esito del processo descritto.

5.1 Progetto IRST sul mesotelioma pleurico: approcci preclinico di ricerca di nuovi bersagli molecolari per terapie mirate e clinico di sviluppo di una nuova immunoterapia combinata

5.2 MATCH – Mesothelioma And Translational Clinical and Health-related data – a biological and clinical cohort study

5.3 HERMES - HEreditary Risk in MESothelioma

5.4 Mesothelioma Pipeline: from the genome to innovative therapeutic approaches

RESEARCH PROJECT ABSTRACT

Progetto IRST sul mesotelioma pleurico: approcci preclinico di ricerca di nuovi bersagli molecolari per terapie mirate e clinico di sviluppo di una nuova immunoterapia combinata.

KEYWORDS (massimo 5): mesotelioma, immunoterapia, anticorpi, culture cellulari 3D, Zebrafish

RICHIESTA FINANZIAMENTO:

€ 147.825

DURATA IN MESI : 18

PRINCIPAL INVESTIGATOR:

Nome e cognome: Angelo Delmonte

Posizione: Responsabile del Gruppo di Patologia Toracica

Dipartimento: Oncologia Medica

Struttura: Istituto Scientifico Romagnolo per lo Studio e la Cura dei Tumori

Telefono: 0543/739100

E-mail: angelo.delmonte@irst.emr.it

1. SINTESI

Il mesotelioma pleurico maligno (MPM) è un tumore aggressivo della superficie pleurica. Ci sono > 15.000 casi in tutto il mondo, ma è previsto un aumento dei casi nei prossimi anni. Non esiste un trattamento curativo e la cui sopravvivenza mediana è di 8-14 mesi dalla diagnosi. Al momento non sono state identificate alterazioni biomolecolari che siano aggredibili con farmaci a bersaglio molecolare specifici, motivo per cui ancora oggi il trattamento di scelta per la prima linea di malattia è la chemioterapia a base di platino mentre non esistono condivise linee di trattamento successive.

Allo scopo di migliorare l'approccio terapeutico per i pazienti con questa patologia, IRST propone un approccio integrato che combina strategie di tipo clinico, traslazionale e preclinico mettendo in campo le competenze del proprio personale medico e scientifico e i servizi dell'Istituto.

In particolare il progetto, la cui durata totale è di 4 anni, è articolato in 3 work packages (WPs):

WP1: trial clinico di Fase 1, monocentrico, in aperto atto a valutare sicurezza, tollerabilità e efficacia della combinazione di un anti-PD1 inibitore con un vaccino a cellule dendritiche prodotto in IRST da proporre a pazienti affetti da MPM avanzato, PD-L1 negativi, in progressione dopo almeno una linea di trattamento chemioterapico platino-basato da cui ci aspettiamo di reclutare 18 pazienti.

WP2: studio traslazionale prospettico. Lo scopo del WP2 è l'analisi del profilo mutazionale in campioni tissutali, di sangue e di urine in pazienti con mesotelioma per identificare target terapeutici innovativi e marcatori diagnostici.

WP3: Sviluppo di modelli preclinici di mesotelioma per derivare e testare gli effetti di farmaci e anticorpi e per l'identificazione di marcatori predittivi/prognostici.

Il WP3 è articolato in 3 obiettivi.

WP3.1: Sviluppo di modelli sperimentali con colture tridimensionali di 3 linee cellulari di mesotelioma (WP3.1.1): saranno studiate le dinamiche di crescita e vitalità cellulare, di aggressività ecc. Lo stesso modello sarà utilizzato per testare farmaci antitumorali convenzionali e innovativi (WP3.1.2).

WP3.2: Sviluppo di un modello di Zebrafish per studiare il potenziale d'invasività e metastatico di linee cellulari (colture primarie) e per lo studio dell'attività di farmaci antitumorali.

WP3.3: Ottenimento di anticorpi terapeutici per il trattamento del mesotelioma.

Gli obiettivi che ci aspettiamo di raggiungere nei primi 18 mesi sono:

WP1: ottenere l'approvazione del comitato etico e iniziare l'arruolamento dei pazienti

WP2: disegnare il pannello per il DNA circolante; valutare l'accuratezza delle analisi del DNA circolante in urine e plasma; avere un resoconto intermedio delle analisi molecolari;

WP3: WP3.1: ottimizzare il modello tridimensionale di mesotelioma su linee cellulari con valutazione del confronto tra colture standard e 3D con l'identificazione dei meccanismi coinvolti nella patogenesi tumorale come proliferazione, ipossia, migrazione ecc. e cominciare gli studi farmacologici con lo studio della sensibilità ai farmaci convenzionali nel modello 3D; WP3.2: ottimizzare un modello di Zebrafish per studiare l'aggressività e il potere metastatico delle diverse linee cellulari di mesotelioma utilizzate; WP3.3: clonare ed esprimere sulla membrana gli antigeni target in cellule HEK293T (WP3.3.1), fare screening per phage display su cellule derivate dai pazienti o su cellule di mesotelioma murine (WP3.3.2.1), purificare e immortalizzare cellule B di memoria dal sangue dei pazienti con mesotelioma al fine di identificare cloni in grado di esprimere varianti anticorpali che leghino lo stesso tumore (WP3.3.2.2). Considerando che il materiale biologico potrebbe non arrivare nei primi mesi del progetto, le attività dei primi 18 mesi saranno possibili anche con il solo utilizzo di linee cellulari. IRST, oltre all'attività del proprio Gruppo di Patologia Toracica e dell'Unità di Radioterapia, si avvale della collaborazione del Prof D'Incalci e del Prof. Rea della Divisione e Cattedra di Chirurgia Toracica e Centro Trapianto di Polmone dell'Università di Padova sia per il reperimento di campioni biologici sia per il reclutamento dei pazienti.

2. IPOTESI DI RICERCA

L'utilizzo di un approccio integrato è una strategia vincente al fine di identificare nuove terapie per il mesotelioma. In particolare si ritiene che:

1) l'immunoterapia ha mostrato risultati promettenti in MPM. Gli inibitori dei checkpoint immunitari come nivolumab con ipilimumab e pembrolizumab hanno mostrato tassi di controllo della malattia importanti e una stabilità prolungata della malattia se usati nella malattia avanzata, prevalentemente pre-trattata (WP1); 2) il numero e le caratteristiche delle alterazioni molecolari dei tumori è in costante evoluzione durante la progressione tumorale e cambiano nel tempo e durante il trattamento. Lo studio di queste alterazioni in campioni di biopsia liquida e il loro confronto con i tessuti tumorali primitivi consentirà di seguire l'evoluzione clonale del tumore e identificare le mutazioni generate durante il trattamento (WP2);

3) lo sviluppo di modelli preclinici in vitro tridimensionali può migliorare la comprensione dei meccanismi patogenetici del mesotelioma perché le cellule tumorali mostrano dinamiche di crescita, fenotipi di aggressività e di resistenza ai farmaci come in vivo. Questi modelli possono facilitare l'identificazione di marcatori e fornire dati più efficaci sull'attività di farmaci (WP3.1);

4) il modello Zebrafish offre dei vantaggi rispetto al modello murino in termini economici e di tempistica degli esperimenti e si prospetta come un buon modello in vivo, complementare e non sostitutivo, a quello murino. (WP3.2);

5) è stato dimostrato come la risposta anticorpale e umorale giochino un ruolo importante nella risposta del mesotelioma all'immunoterapia, in questo quadro le tecnologie attualmente disponibili ci consentono di isolare anticorpi con diversi approcci al fine di bersagliare in maniera specifica questo tumore (WP3.3).

3. OBIETTIVI

OBIETTIVO1: valutazione dell'impatto terapeutico della vaccinazione a cellule dendritiche in combinazione con terapia anti-PD-1 nel paziente con mesotelioma negativo per PD-L1

OBIETTIVO2: caratterizzazione tramite tecnologia di sequenziamento NGS di campioni di tessuto tumorale di sangue e di urina in pazienti con mesotelioma al fine di identificare nuovi marcatori, profili mutazionali e bersagli molecolari

OBIETTIVO3: sviluppo di modelli preclinici per lo studio e il trattamento del mesotelioma con nuovi farmaci ed immunoterapie

4. IMPATTO E RISULTATI ATTESI

Questa proposta progettuale abbraccia sia l'ambito clinico sia quello preclinico sperimentale creando sinergie importanti tra le diverse attività proposte e professionalità coinvolte. In particolare andiamo in primo luogo (WP1) a testare la combinazione di 2 diversi tipi di immunoterapia, vaccinazione con cellule dendritiche e terapia anti-PD-1 in pazienti con mesotelioma negativi per l'espressione di PD-L1, dal momento che è stato recentemente dimostrato come il paziente con mesotelioma possa beneficiare enormemente dal trattamento immunoterapico. Se i risultati di questo trial clinico saranno positivi, vi sarà un immediato impatto sulla pratica clinica a tutto beneficio dei pazienti affetti da una malattia oggi incurabile. Inoltre il progetto prevede di comprendere meglio le basi genetiche e mutazionali del mesotelioma descrivendone l'eterogeneità e l'evoluzione a questo livello (WP2). Le informazioni ottenute da questo studio multicentrico ci consentiranno di indirizzare la successiva ricerca di nuovi principi attivi o terapie target. La pubblicazione e condivisione dei risultati di questo studio in ambito internazionale favorirà e sarà di stimolo per lo sviluppo di nuovi approcci terapeutici mirati ai diversi bersagli molecolari individuati e alle vie di segnale alterate nella malattia. Parallelamente al reclutamento dei pazienti e all'analisi mutazionale di tessuto tumorale ci proponiamo di generare nuovi modelli preclinici in cui verificare le nostre ipotesi e poter generare farmaci (WP3). In particolare utilizzeremo colture cellulari 3D in vitro derivate da cellule tumorali di mesotelioma e otterremo modelli preclinici derivati da trapianto delle stesse in Zebrafish e in topi immunocompromessi. Questi saranno utilizzati sia per screenare librerie di piccole molecole sia per derivare e testare nuovi anticorpi. Da quest'attività ci aspettiamo di trovare molecole in grado di modulare l'aggressività e la sopravvivenza del mesotelioma e, nel caso degli anticorpi, di bersagliare il tumore rendendolo nuovamente attaccabile da parte del sistema immunitario.

RESEARCH PROJECT ABSTRACT

Istituto Mario Negri e AO Alessandria

MATCH – Mesothelioma And Translational Clinical and Health-related data – a biological and clinical cohort study**KEYWORDS (massimo 5) Malignant Pleural Mesothelioma (MPM), Immunoscore, RNA seq, cohort study****RICHIESTA FINANZIAMENTO:****€ 497.287,1****DURATA IN MESI 18****PRINCIPAL INVESTIGATOR:**

Nome e cognome Maurizio D’Incalci

Posizione: Capo Dipartimento

Dipartimento: Oncologia

Struttura: Istituto di ricerche farmacologiche Mario Negri

Telefono: 02 / 3901 4571

E-mail: Maurizio.dincalci@marionegri.it

Nome e cognome Federica Grosso

Posizione: Direttore

Dipartimento: UFIM – Unità Funzionale Interaziendale Mesotelioma

Struttura: Azienda Ospedaliera Nazionale SS Antonio e Biagio e Cesare Arrigo, Alessandria

Telefono: 0131 / 2069 067

E-mail: fgrosso@ospedale.al.it**1. SINTESI**

Malignant pleural mesothelioma (MPM) is a highly aggressive tumour, with poor prognosis and limited treatment options. The mechanism of carcinogenesis is not fully understood but appears to be essentially driven by inflammation. Asbestos needles penetrating the pleura after being inhaled are the main driver of this chronic inflammation, and approximately 80% of patients have a documented history of asbestos fibre exposure. Such exposure cannot be ascertained in the remaining 20% but this may be due to the ubiquity of this material.

This disease is largely unresponsive to conventional chemotherapy or radiotherapy. Trimodal therapy based on surgery followed by radio and chemotherapy is suitable to a dire minority of patients, and the median overall survival of patients with inoperable disease MPM reaches only one year. Most patients are treated upfront by pemetrexed and platinum containing regimens but unfortunately, nearly all progress during or after first-line treatment, and no effective second line regimens are available.

MPM therapy choices have so far been guided by tumour histotype, clinical stage and patient characteristics rather than by the histological or molecular features of the disease.

Different molecular pathways involved in MPM carcinogenesis have been identified, but several agents targeting these pathways have so far proven ineffective in clinical trials.

The advent of immune checkpoints inhibitors has changed the treatment paradigm of several tumours, and following this encouraging results several drugs targeting PD-1 and PD-L1 are under evaluation in MPM.

Unfortunately preliminary data on small series of patients suggests that single agent immunotherapy has limited benefit in this disease, likely due to low mutational load of MPM and the immune-suppressing tumour microenvironment.

Understanding the genetic alterations that drive malignant pleural mesothelioma (MPM) is critical for the successful development of diagnostics, prognostics and personalized therapeutic modalities. Due to the rarity of the disease, current knowledge on the molecular signatures underlying the different histological subtypes is incomplete; genomic studies are limited and have typically involved few samples (Dong et al, 2009, Beueno et al, 2010; Bott et al, 2011, Guo et al, 2015). A multi level integrated analysis, involving genomic, transcriptomic and epigenetic mechanisms of tumour and its microenvironment is crucial to improve current knowledge of MPM.

2. IPOTESI DI RICERCA

Considering the unique pathogenetic profile of MPM, based on decades of active inflammation and immune activation due to the invasion of lung and pleura with asbestos fibers; its aggressive nature and almost ubiquitous resistance to treatment; the plurality of histological presentation and the relative poverty of specific somatic mutation, we hypothesize that the biological behavior of MPM is explained and sustained by multiple partially unknown, genetic, epigenetic and molecular factors.

The detailed knowledge of these biological markers will significantly increase our understanding of the biology of this tumour and pave the way to identification and/or development of drug and drug combination that will offer higher proportion and longer duration of treatment response and may alter the currently dismal prognosis of MPM.

3. OBIETTIVI

OBIETTIVI SPECIFICI:

OBIETTIVO 1:

To identify biological characteristics of MPM that predict tumour behaviour, treatment response and survival in a retrospective study performed on 100 MPMs selected to be representative of the three histotypes and with at least three years of follow up.

For this purpose we propose to integrate extensive genomic, transcriptomic and epigenetic landscape analysis with histopathological, clinical and immunological parameters.

OBIETTIVO 2:

To apply the identified biological classifiers prospectively on a series of 50 recently diagnosed, treatment naïve, cases of MPMs thus verifying their predicting value.

OBIETTIVO 3:

to investigate whether there are any actionable targets that can be exploited to set up new therapeutic approaches tailored on the basis of molecular and immunological features of different MPMs.

4. IMPATTO E RISULTATI ATTESI

The results of the studies are expected to improve the patients' stratification based on the integration of molecular signatures with pathological and clinical parameters.

A better stratification of patients is potentially very important to test new therapies in the most rational way, possibly making it possible to select the best therapeutic regimens according to the specific biological features of each tumor. The study will also provide valuable information to select and test novel combination regimens, grounded on actionable targets and on the mechanisms of interactions mesothelioma cells and the tumour microenvironment.

RESEARCH PROJECT ABSTRACT

Università del Piemonte Orientale
HERMES - HEreditary Risk in MESothelioma

KEYWORDS (massimo 5) Malignant Mesotelioma; Genetic mutations; Asbestos; Synthetic lethality

RICHIESTA FINANZIAMENTO: € 312,390

DURATA IN MESI 18

PRINCIPAL INVESTIGATOR:

Nome e cognome Irma Dianzani
Posizione: Full Professor
Dipartimento: Scienze della Salute
Struttura: Università del Piemonte Orientale
Telefono: 0321/660544
E-mail: irma.dianzani@med.uniupo.it

Nome e cognome Corrado Magnani
Posizione: Associate Professor
Dipartimento: Medicina Traslazionale
Struttura: Università del Piemonte Orientale
Telefono: 0321/3732057
E-mail: corrado.magnani@med.uniupo.it

1. SINTESI

Il Mesotelioma Maligno (MM) è una neoplasia aggressiva causata dall'esposizione ad amianto, frequente tra i lavoratori e le comunità esposte e per cui non esistono trattamenti terapeutici di successo. Una parte dei casi presenta mutazioni germinali in geni del riparo del DNA, che li rendono più sensibili all'esposizione ad amianto, ma potrebbero anche rendere il tumore più sensibile a specifiche terapie che inducono letalità sintetica, come osservato nel tumore ovarico in donne con mutazioni *BRCA 1* o *BRCA2*. Lo studio nella fase di run-in intende valutare la risposta *in vitro* delle cellule neoplastiche ai farmaci che inducono letalità sintetica, usando sia i dati ed i campioni biologici già disponibili sia quelli forniti dai nuovi casi che insorgeranno nel periodo di studio. Si intende stabilire se il sottogruppo dei pazienti di mesotelioma maligno pleurico (MMP) con mutazioni germinali dei geni del riparo del DNA sono più sensibili dei pazienti non mutati a farmaci che inducono letalità sintetica. In questo modo si potrà identificare un gruppo di pazienti di MMP che potrebbe rispondere a terapia personalizzata. Obiettivi secondari includono la valutazione dei processi di cancerogenesi, l'esposizione ad amianto e la sopravvivenza nei pazienti di MMP portatori di fattori genetici di rischio. Si intende poi confrontare le osservazioni sui fattori genetici e sull'esposizione ad amianto dei casi di MMP con quelle su un campione dalla corrispondente popolazione dell'area di Casale Monferrato, aggiornando le osservazioni epidemiologiche sul MMP.

2. IPOTESI DI RICERCA

Il MM è una neoplasia strettamente associata all'esposizione ad amianto. La frequenza è rara nella popolazione generale ma aumenta tra gli esposti, sia per lavoro sia per esposizione ambientale, come nel caso di Casale Monferrato. Le fibre di amianto inalate agiscono sul polmone e sulla pleura determinando infiammazione cronica con liberazione di citochine e radicali ossigeno e danno sul DNA. L'incidenza cumulativa di MM non supera il 10-17% neppure nelle coorti maggiormente esposte, da cui l'ipotesi che l'effetto delle fibre sia modulato da caratteristiche individuali, anche su base genetica. Nel 2011 è stata

individuata una rara sindrome familiare ad alto rischio di tumori, tra cui MM, dovuta a mutazioni germinali inattivanti il gene *BAP1*. Successivamente, il nostro gruppo di ricerca ha osservato, indagando il MMP a Casale Monferrato, che i casi presentavano una frequenza del 10% di varianti patogeniche troncanti (PTV) in geni del riparo del DNA, soprattutto quelli coinvolti nella ricombinazione omologa (HRR), mentre nessun controllo della stessa area presentava simili reperti. I casi mutati erano più sensibili all'esposizione ad amianto. Studi recenti hanno mostrato che le pazienti di tumore ovarico con mutazione germinale di *BRCA1* o *BRCA2* rispondono a trattamenti che inducono letalità sintetica, come gli inibitori di PARP1, e rassegne ipotizzano che la risposta possa interessare anche altri tumori.

Il progetto HERMES nel run-in intende valutare la risposta *in vitro* sia di linee cellulari di MMP sia di colture cellulari ottenute dai casi di MMP a farmaci che inducono letalità sintetica, in particolare inibitori di PARP1 da soli o in associazione con cisplatino e/o inibitore di EZH2. La risposta sarà valutata con test di proliferazione, apoptosi e con saggi proteomici, confrontando colture cellulari tumorali derivate da pazienti con mutazioni germinali in geni del HRR e colture cellulari tumorali ottenute da pazienti senza mutazioni. Per questo scopo è necessario aumentare la casistica di MMP con definizione del profilo genetico, valutando anche la loro esposizione ad amianto. I casi con mutazioni germinali oggi possono essere stimati in 1:10. Per quanto attiene ai fattori genetici, si intende anche studiare un gruppo di controllo della medesima popolazione, per evitare le incertezze conseguenti al confronto di soggetti da popolazioni diverse e porre le premesse per valutazioni successive relative ai fattori genetici a basso rischio, dal punto di vista eziologico e prognostico.

3. OBIETTIVI

OBIETTIVI SPECIFICI:

OBIETTIVO 1: Identificare un sottogruppo di pazienti di MMP con mutazioni germinali in geni coinvolti in HRR, che potrebbe rispondere a terapia personalizzata con farmaci che inducono letalità sintetica.

OBIETTIVO 2: Stabilire con studi *in vitro* se il sottogruppo dei pazienti di MMP con mutazioni germinali dei geni del HRR sono più sensibili dei pazienti non mutati a farmaci che inducono letalità sintetica.

OBIETTIVO 3: Valutare i processi di cancerogenesi, l'esposizione ad amianto, la sopravvivenza e il profilo proteomico nei pazienti di MMP portatori di fattori genetici di rischio elevato.

OBIETTIVO 4: Confrontare le osservazioni sui fattori genetici ad alto rischio e sull'esposizione dei casi di MMP con quelle su un campione dalla corrispondente popolazione dell'area di Casale Monferrato, aggiornando le osservazioni epidemiologiche sul MMP e ponendo le premesse per successive indagini.

4. IMPATTO E RISULTATI ATTESI

L'ipotesi di lavoro sottesa a questo studio è che i pazienti di MMP con mutazioni genetiche nei geni del riparo del DNA per ricombinazione omologa (HRR) costituiscano un sottogruppo che potrebbe beneficiare della terapia con inibitori di PARP1 o altri farmaci con analogo meccanismo di letalità sintetica.

Il primo risultato atteso è la conferma della proporzione di casi di MMP con mutazioni germinali in geni del riparo del DNA, in particolare in geni coinvolti nel HRR.

Il secondo risultato atteso è la verifica sperimentale dell'azione degli inibitori di PARP sulle linee di MMP e sulle colture cellulari ottenute dai pazienti di MMP con e senza mutazioni germinali. Nella fase di run-in si prevedono studi *in vitro*.

Il terzo risultato atteso è la frequenza di popolazione delle mutazioni germinali ad alto rischio, confrontando casi e controlli dell'area.

Il quarto risultato atteso è la valutazione delle eventuali differenze di sopravvivenza tra casi con mutazioni e casi senza, considerando i trattamenti terapeutici effettivamente ricevuti. In ultimo ci si attende di condurre una raccolta esaustiva dei campioni biologici e di effettuare un'accurata valutazione dell'esposizione per casi e controlli, ponendo le premesse per successive valutazioni della sensibilità all'esposizione ad amianto e del ruolo dei fattori genetici a basso rischio.

RESEARCH PROJECT ABSTRACT

Università di Torino

5.4 MESOTHELIOMA PIPELINE: FROM THE GENOME TO INNOVATIVE THERAPEUTIC APPROACHES

KEYWORDS (massimo 5) pleural malignant mesothelioma, patient stratification, prognostic/predictive biomarkers, innovative therapeutic approaches

RICHIESTA FINANZIAMENTO:**€ 204.801****DURATA IN MESI****18****PRINCIPAL INVESTIGATOR:**

Nome e cognome Giorgio Vittorio Scagliotti

Posizione: Professore Ordinario di Oncologia Medica; Direttore SCDU Oncologia Medica

Dipartimento: Dipartimento di Oncologia

Struttura: Università degli Studi di Torino; AOU San Luigi Gonzaga, Orbassano

Telefono: 0119026979

E-mail: giorgio.scagliotti@unito.it

1. SUMMARY

MESOLINE aims to decipher the mechanisms of malignant pleural mesotheliomas (MPM) onset and progression, and to improve the diagnostic and therapeutic options, by proposing a new molecular stratification of the patients and establishing innovative pre-clinical models.

Thanks to the integration between basic research units (Dept. of Oncology, University of Torino, and IRCCS, Candiolo), pathology and clinical oncology units from the three main reference centers in Piemonte for MPM treatment (AOU San Luigi Gonzaga, Orbassano; AOU Città della Salute e della Scienza, Torino; AO SS. Antonio e Biagio e C. Arrigo, Alessandria, hosting the Biological Bank of Mesothelioma), we have retrospectively collected 120 MPM samples, used to generate 2D-,3D-cultures (organoids and immune-organoids) and patient-derived xenografts (PDX), and respective peripheral-blood mononuclear cells, pleural fluid, urines, formalin-fixed paraffin-embedded tissues. We plan to prospectively enroll further 50-60 patients, building a largest MPM biobank (Task 1). Patients will be stratified according to the latest international clinical and pathological guidelines for MPM (Task 2). Genomic mutational analysis, exome sequencing, including the analysis of miRNA and long non-coding RNA, followed by Gene Ontology analysis (Task 3), analysis of metabolome and proteome analysis (Task 4), analysis of immune-environment (pro-inflammatory and/or immunosuppressive infiltrating immune cells, cytokines, immune-checkpoints/ligands in pleural effusion samples and 3D-models; Task 5), analysis of RNA and proteins of exosomes, derived from peripheral blood and pleural effusion (Task 6), will be carried out.

Biomarkers-driven treatments, identified on the basis of Tasks 3-6 (e.g. targeted-therapies, epigenetic drugs, ubiquitination-targeting agents, immune-therapies), will be screened for the anti-tumor efficacy in 3D-cultures at short and long-term. Transcriptomic signatures indicative of sensitivity, primary or secondary resistance will be built (Task 7). The most effective treatments will be validated in PDX models and in genetically engineered immune-competent mouse models that well recapitulate the pathogenesis of human MPM (Task 8).

Molecular circuitries linking genome/transcriptome/proteome/metabolome profile with drug-response and immune-response will be modelled and validated by gain and loss of function assays (Task 9).

The integration of information gained in Tasks 2-9 will allow to identify:

- new biomarkers predictive of MPM progression, chemoresistance and immune-resistance;
- patient subsets who may benefit from new treatments,

moving towards a personalized diagnosis and treatment of MPM (Task 10).

2. RESEARCH HYPOTHESIS

We hypothesize that a precise patient annotation, achieved by a multi-level analysis of genome, transcriptome, metabolome, proteome of MPM samples, of exosomes released from the tumor, of mutual interactions between MPM and its microenvironment (stroma and immune-infiltrating cells), will improve the stratification of MPM patient. This process will allow to:

- identify new prognostic and predictive biomarkers, solving an unmet need in MPM field;
- perform drug-screening studies in in vitro and in vivo models, that closely mimic the tumor biology of each patient, unveiling new mechanisms of therapy resistance and identifying new treatment options.

3. OBJECTIVES

SPECIFIC OBJECTIVES:

OBJECTIVE 1:

Identification of molecular subgroups of MPM patients, categorized on the basis of the somatic mutations, the transcriptomic, metabolomic, proteomic and exosome profiles

OBJECTIVE 2:

Evaluation of therapeutic responses on the basis of the molecular stratification (Objective 1) by using in vitro (organoids) and in vivo (PDX, genetically engineered mice) models that closely mimic the complex network of interactions between MPM and its micro-environment

OBJECTIVE 3:

Investigational studies aimed at clarifying the role of inflammation and metabolic rewiring, and evaluation of therapeutic responses to proposed/approved treatments on the basis on the metabolic and inflammatory cross-talks linking MPM cell and its micro-environment

4. IMPACT AND EXPECTED RESULTS

The social-economic impact of the project is two-fold. We expect to:

- identify new therapeutic options able to improve the prognosis of patients with MPM, which is 3.95 more frequent in Piemonte than in other Italian regions, and to reduce MPM healthcare cost, which is now up to 50.000 EUR/year/patient;
- set up the first work-flow unifying diagnosis, translational and clinical research for MPM: this will be the first step to create international scientific networks led by research Institutions located in Piemonte, to access to further funding calls, to deliver job positions for young researchers.

In terms of scientific impact, we expect to:

- identify new diagnostic/prognostic and/or predictive biomarkers that may aid to understand better the pathogenesis and progression of MPM;
- select new effective single agents and/or combination treatments that may be evaluated as personalized treatments of MPM patients in the next future.