

## ***DOTTORATO DI RICERCA IN BIOLOGIA CELLULARE E DELLO SVILUPPO***

### **Proposta di assegnazione di una borsa di Dottorato**

#### **Titolo della ricerca:**

Ruolo dell'immunità innata nella patologia della sclerosi multipla

#### **Docente interno:**

Prof. Loretta Tuosto [loretta.tuosto@uniroma1.it](mailto:loretta.tuosto@uniroma1.it)

#### **Docente guida proposto:**

Dr. Elisabetta Volpe [e.volpe@hsantalucia.it](mailto:e.volpe@hsantalucia.it)

#### **Struttura ospitante:**

Fondazione Santa Lucia

### **DESCRIZIONE DELLA RICERCA (max 2 pagine)**

#### **Obiettivi della ricerca**

- Analizzare la risposta delle cellule dell'immunità innata a stimoli rilevanti nel contesto della sclerosi multipla
- Identificare nuovi meccanismi di attivazione dell'immunità innata
- Caratterizzare la risposta immunitaria adattativa indotta da cellule dell'immunità innata

#### **Stato delle conoscenze**

La sclerosi multipla (SM) è una malattia autoimmune cronica e infiammatoria del sistema nervoso centrale caratterizzata da degradazione delle guaine mieliniche, e graduale perdita di neuroni. Come nel caso di molte malattie autoimmuni, si ritiene che componenti ereditari, genetici e fattori ambientali contribuiscano allo sviluppo della SM. Oltre alle differenze di sesso, il fumo, l'infezione virale (con il virus Epstein-Barr), i bassi livelli di vitamina D, e l'obesità, sembrano aumentare il rischio di sviluppare SM (1).

Negli ultimi anni sta emergendo un'associazione importante tra disbiosi microbica intestinale e sviluppo della SM (2). I microbi (batteri, funghi e virus) residenti nell'intestino umano costituiscono il microbiota e svolgono un importante ruolo per l'omeostasi dell'ospite (3). Le cellule dell'immunità innata sono in grado di fagocitare i microrganismi, inclusi quelli appartenenti al microbiota, secernere diverse citochine che mediano reazioni immunitarie innate, e indurre le risposte adattative linfocitarie (4).

L'alterazione della composizione del microbiota, causata da diversi fattori come la ripetuta e inappropriata assunzione di antibiotici, l'abuso di alcol, o una dieta inadeguata (5) può determinare uno squilibrio a livello immunitario che potrebbe essere alla base dell'autoimmunità (2).

Tra le cellule dell'immunità innata, le cellule dendritiche (DC) sono le uniche in grado di attivare una risposta primaria, cioè interagiscono con linfociti naïve negli organi linfoidi secondari, dove ha luogo l'innescamento della reazione immunitaria adattativa (6).

Il differenziamento dei linfociti CD4 naïve in cellule T helper (Th) con diverse funzioni è un processo fondamentale per la creazione di una efficiente risposta immunitaria adattativa. Esistono diversi profili di cellule Th, come Th1, Th2, e le Th17, che negli ultimi anni sono state associate allo sviluppo di disturbi autoimmuni (7).

L'azione congiunta di altri fattori solubili prodotta dalle cellule T helper sintonizza e regola l'esito delle risposte immunitarie. Ad esempio, IL-10 ha un ruolo importante come immunomodulatore (8). Il nostro gruppo ha dimostrato che l'IL-9 ha un effetto inibitorio sulla produzione di IL-17 da cellule umane polarizzate Th17 (9). Questo progetto mira a caratterizzare il ruolo delle DC stimulate con microbiota nell'attivazione di una risposta immunitaria adattativa.

### **Metodologie:**

-Sorting citofluorimetrico per purificare cellule dendritiche primarie derivate da sangue di donatori sani

-Stimolazioni *in vitro* con componenti microbici del microbiota intestinale

-Stimolazioni con anticorpi neutralizzanti, RNA interference, o droghe per inibire specifici pathway cellulari

-Coculture cellule dendritiche-linfociti CD4 naive per analizzare la capacità delle cellule dendritiche di indurre una risposta immunitaria adattativa

-Saggio immunoassorbente enzimatico (ELISA) e Luminex per studiare la capacità delle cellule immunitarie di produrre citochine

-Citofluorimetria a flusso per analizzare l'espressione dei recettori di attivazione e fattori di trascrizione

-Real time RT-PCR per analizzare l'espressione trascrizionale di molecole specifiche

### **Bibliografia:**

- 1) Milo R. and Miller A., "Revised diagnostic criteria of multiple sclerosis," *Autoimmunity Reviews*, (2014).
- 2) Mowry EM, Glenn JD. The Dynamics of the Gut Microbiome in Multiple Sclerosis in Relation to Disease. *Neurol Clin.* (2018).
- 3) Piccini F. Alla scoperta del microbioma umano: flora batterica, nutrizione e malattie del progresso. (Independently Published) (2007).
- 4) Abbas A., and Lichtman A. *Immunologia di base: Edizione Aggiornata* (Elsevier srl) (2013).
- 5) Jason A. Hawrelak e Stephen P. Myers, The causes of intestinal dysbiosis: a review *Alternative medicine review*, vol. 9, n° 2, (2004).
- 6) Rissoan M.C., Soumelis V., Kadowaki N., Grouard G., Briere F., de Waal Malefyt R. and Liu Y.J. Reciprocal control of T helper cell and dendritic cell differentiation. *Science* (1999).
- 7) Volpe, E., Battistini, L., and Borsellino, G. Advances in T Helper 17 Cell Biology: Pathogenic Role and Potential Therapy in Multiple Sclerosis. *Mediators Inflamm* (2015).
- 8) O'Garra, A. and Vieira, P. T(H)1 cells control themselves by producing interleukin-10. *Nat. Rev. Immunol.* (2007).
- 9) Ruocco, G., Rossi, S. Motta, C., Macchiarulo, G., Barbieri, F., De Bardi, M., Borsellino, G., Finardi, A., Grasso, M.G., Ruggieri, S., et al. T helper 9 cells induced by plasmacytoid dendritic cells regulate interleukin-17 in multiple sclerosis. *Clin Sci (Lond)* (2015).

## Lavori pubblicati negli ultimi 5 anni dal Docente Guida (2014-2019)

1. Camperio C., Muscolini M., **Volpe E.**, Di Mitri D., Mechelli R., Buscarinu M.C., Ruggieri S., Piccolella E., Salvetti M., Gasperini C., Battistini L., Tuosto L. CD28 ligation in the absence of TCR stimulation up-regulates IL-17A and pro inflammatory cytokines in relapsing-remitting multiple sclerosis T lymphocytes. *Immunol Lett.* 2014 Mar-Apr;158(1-2):134-42.
2. Paronetto M.P., Bernardis I., **Volpe E.**, Bechara E., Sebestyén E., Eyraas E., Valcárcel J., Regulation of FAS exon definition and apoptosis by the Ewing sarcoma protein. *Cell Rep.* 2014 May 22;7(4):1211-26.
3. **Volpe E.**, Pattarini L., Martinez-Cingolani C., Meller S., Donnadiou M.H., Bogiatzi S.I., Fernandez M.I., Touzot M., Bichet JC., Reyat F., Paronetto M.P., Chiricozzi A., Chimenti S., Nasorri F., Cavani A., Kislak A., Homey B., Soumelis V. Thymic stromal lymphopoietin links keratinocytes and dendritic cell-derived IL-23 in patients with psoriasis. *J Allergy Clin Immunol.* 2014 Aug;134(2):373-381.
4. Rossi S., Motta C., Studer V., Macchiarulo G., **Volpe E.**, Barbieri F., Ruocco G., Buttari F., Finardi A., Mancino R., Weiss S., Battistini L., Martino G., Furlan R., Drulovic J., Centonze D. Interleukin-1 $\beta$  causes excitotoxic neurodegeneration and multiple sclerosis disease progression by activating the apoptotic protein p53. *Mol Neurodegener.* 2014 Dec 12;9:56.
5. Ruocco G., Rossi S., Motta C., Macchiarulo G., Barbieri F., De Bardi M., Borsellino G., Finardi A., Grasso M.G., Ruggieri S., Gasperini C., Furlan R., Centonze D., Battistini L., **Volpe E.** T helper 9 cells induced by plasmacytoid dendritic cells regulate interleukin-17 in multiple sclerosis. *Clin Sci (Lond).* 2015 Aug;129(4):291-303
6. Cencioni M.T., Santini S., Ruocco G., Borsellino G., De Bardi M., Grasso M.G., Ruggieri S., Gasperini C., Centonze D., Barilá D., Battistini L., **Volpe E.** FAS-ligand regulates differential activation induced cell death of human T helper 1 and 17 cells in healthy donors and multiple sclerosis patients. *Cell Death Dis.* 2015 May 7.
7. **Volpe E.**, Battistini L, Borsellino G. Advances in T Helper 17 Cell Biology: Pathogenic Role and Potential Therapy in Multiple Sclerosis. *Mediators Inflammation*, 2015.
8. Fidaleo M, Svetoni F, **Volpe E.**, Miñana B, Caporossi D, Paronetto MP Genotoxic stress inhibits Ewing sarcoma cell growth by modulating alternative pre-mRNA processing of the RNA helicase DHX9. *Oncotarget.* 2015 Oct 13;6(31):31740-57.
9. Di Mitri D, Sambucci M, Loiarro M, De Bardi M, **Volpe E.**, Cencioni MT, Gasperini C, Centonze D, Sette C, Akbar AN, Borsellino G, Battistini L. The p38 mitogen-activated protein kinase cascade modulates T helper type 17 differentiation and functionality in multiple sclerosis. *Immunology.* 2015 Oct;146(2):251-63.

10. La Rosa P, Bielli P, Compagnucci C, Cesari E, **Volpe E**, Farioli Vecchioli S, Sette C. Sam68 promotes self-renewal and glycolytic metabolism in mouse neural progenitor cells by modulating Aldh1a3 pre-mRNA 3'-end processing. *eLife* 2016
11. **Volpe E**, Sambucci M, Battistini L, Borsellino G. Fas–Fas Ligand: Checkpoint of T Cell Functions in Multiple Sclerosis. *Front Immunol.* 2016
12. Pattarini L, Trichot C, Bogiatzi S, Grandclaude M, Meller S, Keuylian Z, Durand M, **Volpe E**, Madonna S, Cavani A, Chiricozzi A, Romanelli M, Hori T, Hovnanian A, Homey B, Soumelis V. TSLP-activated dendritic cells induce human T follicular helper cell differentiation through OX40-ligand. *J Exp Med.* 2017
13. Chiricozzi A, Romanelli P, **Volpe E**, Borsellino G, Romanelli M. Scanning the Immunopathogenesis of Psoriasis. *Int J Mol Sci.* 2018
14. Bielli P, Panzeri V, Lattanzio R, Mutascio S, Pieraccioni M, **Volpe E**, Pagliarulo V, Piantelli M, Giannantoni A, Di Stasi SM, Sette C. The splicing factor PTBP1 promotes expression of oncogenic splice variants and predicts poor prognosis in patients with non-muscle invasive bladder cancer. *Clin Cancer Res.* 2018
15. **Volpe E**, Cesari E, Mercatelli N, Cicconi R, De Bardi M, Capone A, Bonvissuto D, Fraziano M, Mattei M, Battistini L, Paronetto MP, Sette C. The RNA binding protein Sam68 controls T helper 1 differentiation and anti-mycobacterial response through modulation of miR-29. *Cell Death Differ.* 2018
16. Becher J, Simula L, **Volpe E**, Procaccini C, La Rocca C, D'Acunzo P, Cianfanelli V, Strappazon F, Caruana I, Nazio F, Weber G, Gigantino V, Botti G, Ciccocanti F, Borsellino G, Campello S, Mandolesi G, De Bardi M, Fimia GM, D'Amelio M, Ruffini F, Furlan R, Centonze D, Martino G, Braghetta P, Chrisam M, Bonaldo P, Matarese G, Locatelli F, Battistini L, Cecconi F. AMBRA1 Controls Regulatory T-Cell Differentiation and Homeostasis Upstream of the FOXO3-FOXP3 Axis. *Dev Cell.* 2018

#### **Fondi attualmente disponibili per svolgere il programma di ricerca.**

Ministero della Salute (Giovani Ricercatori) 2019-2021

Patient-Centered Outcomes Research Institute 2017-2022

#### **Collaborazioni con laboratori nazionali ed internazionali**

Vassili Soumelis, MD, PhD, Hopital Saint Louis, Parigi (Francia)

Carlotta De Filippo, PhD Istituto di Biologia e Biotecnologia Agraria Consiglio Nazionale delle Ricerche, Pisa (Italia)

Valeria Studer MD, PhD, Fondazione IRCCS Istituto Neurologico "Carlo Besta", Milano (Italia)

Claudio Sette PhD, Università Cattolica del Sacro Cuore, Rome (Italia)

Roberta Magliozzi PhD, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata Verona (Italia) and Imperial College, Londra (Regno Unito)