

MODULISTICA

MODULO 1 - Dati generali

TITOLO DEL PROGETTO

**RETE NAZIONALE PER STUDI CLINICI E DI STRUTTURE GMP PER LE BIOTERAPIE
DEI TUMORI**

COSTO COMPLESSIVO DEL PROGETTO	3.059.017
FINANZIAMENTO RICHIESTO AD ACC/ISS	794.609
RISORSE PROPRIE	2.264.408
COFINANZIAMENTI :	--

DURATA (in mesi, massimo 36) : /_3/_6_/

COORDINATORI DEL PROGETTO:

nominativo: **Giorgio Parmiani**

struttura di appartenenza : Fondazione S. Raffaele del Monte Tabor (HSR)

funzione: **Direttore, Unità Immuno-Bioterapia Tumori Solidi**

indirizzo: **via Olgettina, 58- 20132 – Milano**

N. tel 0226437440

N. fax: 02-2643 4861

indirizzo E-mail : **parmiani.giorgio@hsr.it**

nominativo: **Enrico Proietti**

struttura di appartenenza: Istituto Superiore di Sanità (ISS)

funzione: **Direttore del Reparto di Immunoregolazione**

indirizzo: **viale Regina Elena, 299 00161 - Roma**

N. tel: 0649903356

N. fax: 0649903641

indirizzo E-mail: **enrico.proietti@iss.it**

ELENCO DELLE UNITÀ OPERATIVE COINVOLTE:

Istituzione di appartenenza

Nominativo del rappresentante legale

UO1 - M. Maio	Azienda Ospedaliera Universitaria Senese - Siena	Giovanni Del Ben
UO2 - M. Ferrantini	Istituto Superiore di Sanità - Roma	Enrico Garaci
UO3 - G. Parmiani	Fondazione S. Raffaele del Monte Tabor - Milano	Renato Botti
UO4 - C. Pintus	Agenzia Italiana Farmaco – Roma	Nello Martini
UO5 - L. Rivoltini	Istituto Tumori di Milano - Milano	Stefano Zurrada
UO6 - P. Nisticò	Istituti Fisioterapici Ospedalieri - Roma	Marino Nonis
UO7 - M. Rescigno	Istituto Europeo di Oncologia - Milano	Carlo Ciani
UO8 - E. Proietti	Istituto Superiore di Sanità - Roma	Enrico Garaci
UO9 - M.P. Protti	Fondazione S. Raffaele del Monte Tabor - Milano	Renato Botti
UO10 - M. Maio	Centro Riferimento Oncologico – Aviano	Giovanni del Ben
UO11 - A. Meneguz	Istituto Superiore di Sanità - Roma	Enrico Garaci
UO12 - P. Ascierto	Istituto Tumori “G. Pascale” - Napoli	Mario Luigi Santangelo
UO13 - G. Migliaccio	Istituto Superiore di Sanità - Roma	Enrico Garaci
UO14 - M.C. Galli	Istituto Superiore di Sanità - Roma	Enrico Garaci
UO15 - R. Ridolfi	Istituto Scientifico Studio e Cura Tumori - Forli	Massimo Bucci
UO16 - B. Parodi	Istituto Tumori di Genova - Genova	Gianfranco Ciappina
UO17 - P. Rebulla	Ospedale Maggiore Policlinico - Milano	Giuseppe Di benedetto
UO18 – R. Maccario	Policlinico San Matteo - Pavia	Alberto Guglielmo
UO19 - C. Rozera	Istituto Superiore di Sanità - Roma	Enrico Garaci

MODULO 2 - DESCRIZIONE DEL PROGETTO

BASE DI PARTENZA E MOTIVAZIONI (max 50 righe)

Di recente, in editoriali su riviste internazionali di grande prestigio, è stata sottolineata l'importanza di promuovere le terapie sperimentali antitumorali su base biologica come disciplina specifica, evidenziandone le potenzialità di ricaduta e le caratteristiche peculiari, e suggerendo iniziative idonee a garantirne il pieno sviluppo. Il trasferimento alla sperimentazione clinica dei risultati della ricerca nel settore delle bioterapie innovative contro i tumori è stato rilevante in alcuni paesi Europei, in Giappone e, in modo particolare, negli Stati Uniti, mentre in Italia si registrano notevoli ritardi e carenze in questo processo. Tale situazione ha motivato il riconoscimento, in documenti e riunioni recenti, della necessità della creazione in Italia di una rete nazionale per la promozione della ricerca clinica/traslazionale nel settore delle bioterapie e dell'immunoterapia dei tumori e per la realizzazione di infrastrutture a supporto di tale sperimentazione. A tale riguardo, è interessante sottolineare, che proprio ricercatori americani leader nel settore dell'immunoterapia hanno recentemente evidenziato i problemi specifici (carenza di coordinamento e cooperazione sia tra le diverse istituzioni pubbliche che operano nel campo, sia tra enti pubblici e privati; complessità della regolamentazione riguardo alle procedure per la preparazione di prodotti cellulari per uso clinico) che limitano il trasferimento di approcci sperimentali bioterapeutici in applicazioni cliniche, identificando nello sviluppo di collaborazioni strategiche tra le diverse istituzioni operanti in questo settore la base di partenza per superare le barriere che ostacolano il pieno sviluppo delle grandi potenzialità applicative di questi approcci terapeutici. Infatti, per il loro ottimale sviluppo clinico, queste nuove modalità terapeutiche devono prevedere il coinvolgimento di più figure professionali che operano in ambito clinico e pre-clinico, regolatorio e industriale, che possano interagire culturalmente e, soprattutto, operativamente. Ciò rende indispensabile uno sforzo unitario per poter portare in clinica nuove modalità terapeutiche valutandone con tempestività, appropriatezza e rigore clinico-scientifico l'efficacia. Infine, la bioterapia dei tumori consolidandosi sempre più come ulteriore strategia clinica “strutturata” nel percorso terapeutico del paziente oncologico, pone nuove e specifiche problematiche di tipo procedurale, etico e medico-legale, sia nella sperimentazione terapeutica che nella pratica clinica. Sulla base di queste considerazioni, gruppi di ricercatori italiani operanti in ambito pre-clinico e clinico hanno costituito nel settembre 2004 un'associazione, il Network Italiano per la Bioterapia dei Tumori (NIBIT) che persegue i seguenti obiettivi: i) promuovere interazioni scientifiche tra figure professionali operanti nel campo delle bioterapie dei tumori (accademia, industria, agenzie regolatorie); ii) sviluppare strategie e studi clinici multicentrici a livello nazionale nel settore delle terapie innovative dei tumori; iii) sviluppare iniziative tese ad informare i pazienti sul potenziale terapeutico delle nuove terapie biologiche antitumorali. In particolare, in seguito al recepimento delle direttive europee sulla sperimentazione clinica e sull'armonizzazione della legislazione dei prodotti farmaceutici, esiste la necessità di facilitare l'accesso a laboratori in grado di preparare farmaci biologici in condizioni di cGMP (current Good Manufacturing Practices), come imposto dalle direttive europee. Tale esigenza appare particolarmente urgente per quanto riguarda i prodotti medicinali avanzati, basati su cellule. Inoltre, lo sviluppo e la standardizzazione di metodiche per il monitoraggio della risposta alle bioterapie e all'immunoterapia sono particolarmente cogenti per l'identificazione di biomarcatori predittivi della risposta biologica e clinica. Si ritiene quindi opportuna la realizzazione di una rete nazionale per la promozione della ricerca clinica e di strutture di produzione GMP nel settore delle bioterapie dei tumori, che veda la partecipazione di tutti gli “attori” potenzialmente coinvolti, compresi i rappresentanti di agenzie regolatorie in grado di svolgere un ruolo di consulenza e orientamento per il trasferimento alla clinica dei risultati generati dagli IRCCS e altri istituti di ricerca pubblici.

Gli studi clinici di bioterapie, ed in particolare di immunoterapia, devono però essere sostenuti da un accurato e dettagliato monitoraggio della risposta biologica che il trattamento innesca in vivo, finalizzato all'identificazione di parametri che si associno all'efficacia terapeutica del trattamento. Per quanto diverse metodiche siano attualmente disponibili per l'identificazione e la caratterizzazione di tale risposta, non esiste, al momento, un consenso riguardo all'approccio tecnologico ottimale di monitoraggio, che peraltro dipende strettamente dalla tipologia di terapia biologica (vaccini, anticorpi, immunoterapia cellulare, etc..) in valutazione. Inoltre, alcune delle metodologie di monitoraggio soffrono di variabilità tecnica molto ampia, che richiede quindi una competente standardizzazione e validazione. Un accurato monitoraggio immunobiologico richiede infine competenze specifiche non facilmente istituibili a livello capillare nei diversi centri coinvolti nella sperimentazione clinica di bio-immunoterapie.

Nel complesso risulta quindi cruciale poter costituire una rete che permetta, anche in stretta cooperazione con il NIBIT, lo sbocco verso la clinica delle notevoli esperienze in ambito preclinico maturate in Italia nel campo delle bioterapie dei tumori.

PRECEDENTI AGGREGAZIONI REALIZZATE (max 20 righe)

Il NIBIT rappresenta il primo esempio in Italia di rete nazionale per la promozione e lo sviluppo clinico di nuove e più efficaci strategie di bioterapia delle neoplasie maligne, attraverso il coinvolgimento di figure professionali che operano in ambito clinico e pre-clinico, regolatorio, industriale, etc. Il NIBIT ha i seguenti obiettivi principali.

- 1) Favorire e sviluppare l'interazione scientifica, professionale ed operativa tra professionisti di vari settori (accademia, industria, agenzie regolatorie) e appartenenti a istituzioni diverse coinvolti nella bioterapia dei tumori, al fine di attivare studi clinici innovativi e creare una massa critica di ricercatori interessati a questi approcci terapeutici;
- 2) Mettere a punto e condurre studi clinici di bioterapia dei tumori multicentrici capaci di reclutare rapidamente anche un numero elevato di pazienti necessari per i diversi studi;
- 3) Sviluppare iniziative tese ad indirizzare ed informare i pazienti oncologici sui protocolli clinici attivi nel network.

Pertanto il NIBIT rappresenta la base di partenza per la realizzazione di una rete più ampia per la promozione della ricerca clinica nel settore delle bioterapie e dell'immunoterapia dei tumori e per la realizzazione di infrastrutture a supporto di tale sperimentazione clinica.

OBIETTIVO PRINCIPALE ED EVENTUALI OBIETTIVI SECONDARI DEL PROGETTO (max 50 righe)

L'obiettivo principale del presente progetto è quello di realizzare in Italia una rete nazionale per la promozione della ricerca clinica nel settore delle bioterapie e dell'immunoterapia dei tumori e per la realizzazione di infrastrutture a supporto di tale sperimentazione clinica. Tale obiettivo sarà perseguito attraverso lo sviluppo di iniziative a molteplici livelli che hanno i seguenti scopi.

1. Promuovere la ricerca italiana sulle bioterapie dei tumori attraverso organizzazione di “meetings” e “workshops”, al fine di generare documenti consensus ed iniziative specifiche su temi di particolare coerenza per favorire la competitività della ricerca clinica nazionale e la sua integrazione nel contesto internazionale. Il coinvolgimento di giovani medici e ricercatori con esperienza in ricerca traslazionale e protocolli clinici sarà indispensabile per attuare una fase di educazione ai metodi da utilizzare per il disegno e la conduzione di studi clinici nel settore delle nuove bioterapie antitumorali.
2. Sviluppo e standardizzazione di metodi e tecnologie per la definizione di marcatori di risposta biologica e clinica e per il monitoraggio delle risposte biologiche e immunologiche a trattamenti di bioterapia e/o immunoterapia.
3. Definizione di un documento *consensus* e preparazione di linee guida su nuovi piani di sviluppo clinico e farmaceutico per prodotti da utilizzare per la bioterapia dei tumori, con particolare riferimento ai prodotti medicinali avanzati. Tali obiettivi verranno realizzati attraverso:
 - i) organizzazione di incontri, “workshops”, e conferenze;
 - ii) attività di formazione e informazione per gli aspetti tecnici e regolatori sullo sviluppo di medicinali per bioterapia e sulle procedure autorizzative, mediante la creazione di un ufficio di riferimento (“contact point-help desk”) e collegamento con AIFA.
4. Sviluppo di un network di strutture GMP, identificando le risorse disponibili in termini di metodologie, programmi attualmente in corso, autorizzazioni esistenti o programmate, competenze e potenziale di attrazione di finanziamenti e di offerta di servizi.
5. Realizzazione di studi di fattibilità e di convalida per metodiche, materiali e standard di riferimento, relativamente alla produzione, caratterizzazione/controllo di qualità, e conservazione GMP di prodotti medicinali avanzati.

METODOLOGIA (max 100 righe)

Il presente progetto comprende 5 Work Packages (WP).

WP 1. Promozione della ricerca sulle bioterapie dei tumori attraverso la promozione della comunicazione. Responsabili: Maria Ferrantini (ISS), Michele Maio (NIBIT)

Uno strumento importante, complementare agli altri identificati dal presente progetto di rete nazionale, per la promozione della ricerca traslazionale italiana nel settore delle bioterapie dei tumori è rappresentato dalla efficiente comunicazione tra i diversi attori coinvolti in tale settore, quali ricercatori di laboratorio e clinici, rappresentanti di agenzie regolatorie, partner industriali, e pazienti. Obiettivo principale del WP1 è di promuovere tale comunicazione attraverso la realizzazione di convegni e “workshops”. Tali strumenti operativi saranno finalizzati alla elaborazione di documenti consensus sia su temi generali sia su aspetti specifici ritenuti di importanza prioritaria per l'individuazione di iniziative atte a favorire la competitività della ricerca clinica nazionale e la sua integrazione nel contesto internazionale.

Task 1. “Workshops” e meetings dedicati alla comunicazione interna alla rete su argomenti specifici selezionati in base alle indicazioni derivanti dagli altri WP del progetto.

Task 2. Comunicazione esterna: organizzazione di incontri per la presentazione e la discussione di risultati scientifici e clinici e di quei documenti generati dalla rete sui quali si intende elaborare documenti consensus da proporre alla comunità

scientifico, alle agenzie regolatorie, ai referenti pubblici responsabili delle politiche di istruzione e di sanità, ai referenti dell'industria farmaceutica, alle associazioni dei pazienti e ai cittadini.

WP 2. Definizione e divulgazione di metodi per il disegno e la conduzione di trias clinici di bioterapia dei tumori attraverso convegni, workshops tematici e corsi di formazione. Responsabili: G. Parmiani (HSR/NIBIT), C. Pintus (AIFA)

Nell'intento di accelerare il processo di promozione della ricerca clinica nel settore delle bioterapie e dell'immunoterapia dei tumori, è necessario affrontare i problemi critici peculiari di questo settore che differisce nei suoi aspetti applicativi da quelli consueti della farmacologia classica. La differenza più evidente consiste nel fatto che la maggior parte degli studi proposti si pone come finalità quelle di ottenere nell'uomo informazioni utili a chiarire nuovi meccanismi di azione e a definire nuove strategie terapeutiche, piuttosto che registrare prodotti definitivi da immettere sul mercato. Si tratta, perlopiù, di studi “proof of concept” con finalità e criticità peculiari che necessitano ancora di approfondimento e confronto tra i ricercatori e le autorità regolatorie e possono costituire materia di insegnamento per quanti, soprattutto tra giovani medici e ricercatori, vogliono intraprendere l'attività di programmazione e conduzione di sperimentazioni cliniche di bioterapia dei tumori.

WP 3. Costruzione di una rete per lo sviluppo e la standardizzazione di metodiche per il monitoraggio immunologico e l'identificazione di biomarcatori della risposta alla bioterapia dei tumori. Responsabili: P. Nisticò (IFO/NIBIT), L. Rivoltini (INT Milano/NIBIT)

La bioterapia dei tumori sta recentemente rivelando una delle strategie più promettenti nell'ambito del trattamento della patologia neoplastica. Gli studi clinici di bioterapie, ed in particolare di immunoterapia, devono però essere supportati da un accurato e dettagliato monitoraggio della risposta biologica che il trattamento innesca in vivo, finalizzato all'identificazione di parametri che si associno all'efficacia terapeutica del trattamento. Per quanto diverse metodiche siano attualmente disponibili per l'identificazione e la caratterizzazione di tale risposta, non esiste però al momento un consenso riguardo all'approccio tecnologico ottimale di monitoraggio, che peraltro dipende strettamente dalla tipologia di terapia biologica (vaccini, anticorpi, immunoterapia cellulare, etc..) in valutazione. Inoltre, alcune delle metodologie di monitoraggio soffrono di variabilità tecnica molto ampia, che richiede quindi una competente standardizzazione e validazione. Un accurato monitoraggio immuno-biologico richiede infine competenze specifiche non facilmente istituibili a livello capillare nei diversi centri coinvolti nella sperimentazione clinica di bio-immunoterapie. Nel complesso risulta quindi cruciale poter costituire una rete per lo sviluppo e la standardizzazione di metodiche per il monitoraggio immunologico e l'identificazione di biomarcatori della risposta alla bioterapia dei tumori. Tale rete verrebbe istituita all'interno del NIBIT (Network Italiano di Bioterapie), con la finalità di poter trasferire a livello dei diversi centri del Network o esterni le competenze tecnico-scientifiche necessarie ed il supporto per lo svolgimento di un monitoraggio immunobiologico unificato e qualificato.

Questo workpackage prevede quindi

1. la definizione di protocolli standardizzati per le varie metodiche di monitoraggio (quali Elispot, HLA-tetramer staining, CD107a mobilization assay, Limiting Dilution Assay e microcolture, valutazione della risposta anticorpale, approcci di tipo multiparametrico, analisi di frequenza e funzione di Tregs e cellule mieloidi soppressorie (MSC), monitoraggio molecolare)
2. Organizzazione di workshops su monitoraggio immunologico nell'ambito di studi clinici di immunoterapia
3. Offerta di periodi di training presso le unità competenti per le varie metodiche, di personale tecnico-sperimentale dedicato al monitoraggio
4. Organizzazione di Proficiency Panels
5. Organizzazione di un Database (Nibit-based) e forum su questioni tecniche (trouble shooting)

WP 4. Sviluppo di documenti consensus, di linee guida e documenti divulgativi degli aspetti regolatori. Informazioni sulla normativa (Help Desk). Responsabili: A.R. Meneguz (ISS), P. Ascierio (Pascale/NIBIT)

La sperimentazione di una bioterapia antitumorale è un processo integrato in cui le tre componenti, qualità, sicurezza ed efficacia svolgono un ruolo complementare ed indispensabile l'uno all'altra. Dal punto di vista regolatorio il processo autorizzativo assume una rilevanza fondamentale durante lo sviluppo del prodotto e può rallentarlo, se non affrontato adeguatamente. Tale processo è regolato dal Decreto Legislativo 211/2003, che recepisce la Direttiva europea 2001/20/EC la quale introduce un cambiamento estremamente significativo rispetto alla situazione precedente e rallenta lo sviluppo proprio dei prodotti non industriali derivati da indagini di investigatori indipendenti a causa della mancanza di esperti regolatori. Per far fronte a questa carenza, questo WP si pone la finalità di raccogliere tutta la documentazione pertinente agli aspetti regolatori e alle procedure di avvio e attuazione di sperimentazioni cliniche di fase I, e di provvedere alla sua divulgazione attraverso convegni e documenti consensus. Sarà, inoltre, attivato un contatto diretto con esperti del settore per venire incontro alle esigenze specifiche dei singoli ricercatori che vogliono intraprendere studi di bioterapia antitumorale nell'uomo,

WP 5. Supporto alla realizzazione di una rete di laboratori GMP per la produzione di prodotti medicinali avanzati. Responsabile: Giovanni Migliaccio (ISS)

L'introduzione della direttiva europea 2001/20 che estende l'obbligatorietà della produzione in condizioni GMP anche ai prodotti medicinali sperimentali ha portato in questi ultimi anni ad una riduzione di 2-3 volte nel numero delle sperimentazioni cliniche basate su bioterapie dei tumori in Europa. Tale effetto è da attribuirsi alle difficoltà logistiche,

burocratiche e di costi elevati, che il rispetto della normativa pone per la produzione di farmaci biologici, in particolar modo di prodotti cellulari e vettori per trasferimento genico. Tali difficoltà sono particolarmente sentite in Italia, dove dal 2004 il DL211/2003 sulla Buona Pratica Clinica, che recepisce la direttiva europea, stabilisce che i prodotti medicinali sperimentali devono essere prodotti in officine farmaceutiche autorizzate. In Italia, esiste un numero molto limitato di strutture fisiche che rispettano i criteri delle GMP farmaceutiche e questo ha portato ad un forte rallentamento della ricerca clinica nel settore delle bioterapie dei tumori. In particolare, istituzioni pubbliche quali IRCCS, ospedali ed istituti di ricerca incontrano ostacoli di varia natura per l’allestimento di strutture GMP adeguate. L’importanza di sviluppare in Italia iniziative di coordinamento di laboratori GMP per le bioterapie antitumorali è esplicitamente emersa in riunioni del Network Italiano di Bioterapie dei Tumori (NIBIT). Inoltre, l’esigenza di creazione in Europa di network di strutture GMP per le bioterapie è stata di recente sostanziata dalla “roadmap” elaborata dallo European Strategy Forum for Research Infrastructure (ESFRI) che ha inserito tra le sue raccomandazioni quella della realizzazione dell’infrastruttura europea “Infrastructure for Clinical Trials and Biotherapy Facilities” (bando INFRA-2007-2.2.1.18, Preparatory phase for the projects in the 2006 ESFRI roadmap).

In base alle considerazioni sopra esposte e al contesto europeo illustrato, appare urgente intraprendere iniziative a livello nazionale italiano con il duplice obiettivo di evitare inutili frammentazioni e duplicazioni, particolarmente onerose in considerazione della complessità logistica e burocratica e dei costi associati alla produzione di farmaci biologici per uso clinico, e di sviluppare strategie di sinergismo tra le varie strutture GMP esistenti o in allestimento.

Il WP 5 verrà strutturato nei seguenti sotto-programmi.

WP5a. Formazione e informazione per gli aspetti tecnici e regolatori sullo sviluppo di prodotti medicinali avanzati per bioterapie.

Task 1. Organizzazione di corsi di formazione, in collaborazione con AIFA, finalizzati alla qualificazione professionale di giovani ricercatori e operatori afferenti alle strutture GMP e agli IRCCS. I corsi saranno dedicati alla formazione generale e specifica per la fabbricazione e per lo sviluppo del medicinale per bioterapia. Sarà inoltre incentivata la formazione pratica attraverso brevi stage presso aziende certificate per la fabbricazione di medicinali per bioterapia.

Task 2. Creazione di un ufficio di riferimento (“contact point-help desk”) in collegamento con AIFA dedicato alla diffusione di: a) informazioni tecnico-regolatorie sullo sviluppo di medicinali per bioterapia; b) informazioni regolatorie sulle procedure autorizzative; c) informazioni sulle risorse interne del network.

WP5b. Studi di convalida su aspetti specifici di produzione e controllo di prodotti medicinali per bioterapie. Uno degli obiettivi principali della creazione della rete di laboratori GMP per le bioterapie dei tumori è identificare strutture di riferimento per la produzione di singoli tipi di biofarmaci. Tale obiettivo deve essere raggiunto attraverso una convalida e standardizzazione di metodi e procedure, utilizzando al meglio le conoscenze sviluppate in seno a singoli gruppi che devono essere condivise tra i partecipanti alla rete.

RISULTATI ATTESI (max 20 righe)

Il progetto contribuirà significativamente alla promozione della ricerca traslazionale e clinica portata avanti da istituzioni pubbliche italiane nel settore delle bioterapie e dell’immunoterapia dei tumori. In particolare si prevede di generare i seguenti risultati.

Sviluppo di iniziative tese alla promozione e al coordinamento della ricerca clinica italiana nell’ambito delle bioterapie dei tumori, quali convegni e “workshops”;

Preparazione di documenti “consensus” su nuove linee guida per il disegno e l’esecuzione di studi clinici di bioterapie dei tumori;

Sviluppo di iniziative atte ad implementare l’informazione ai pazienti sulle nuove strategie terapeutiche antitumorali basate su prodotti biologici;

Realizzazione presso l’Istituto Superiore di Sanità di una struttura di informazione per medici e ricercatori riguardante le problematiche regolatorie da affrontare per la realizzazione di studi clinici di fase I nell’ambito delle bioterapie dei tumori;

Preparazione di linee guida per la standardizzazione del monitoraggio immunologico e dell’identificazione di biomarcatori di risposta in pazienti sottoposti a trattamenti antitumorali bioterapeutici nell’ambito di studi clinici;

Preparazione di linee guida per la standardizzazione e la validazione di procedure GMP per la preparazione di prodotti cellulari per terapie antitumorali.

TRASFERIBILITA' DEI RISULTATI E DEI PRODOTTI (max 20 righe)

I risultati previsti per questo progetto avranno una ricaduta di carattere generale sia per le istituzioni italiane che svolgono attività cliniche nell'ambito delle terapie biologiche antitumorali sia per i pazienti ammalati di tumore. In particolare, le attività di “meetings”, “workshops” saranno finalizzate alla generazione di documenti consensus che implementeranno la ricerca clinica nazionale, favorendone la sua competitività. Le attività di formazione per gli aspetti tecnici e regolatori sullo sviluppo di medicinali per bioterapia e sulle procedure autorizzative, saranno indispensabili per l'avanzamento professionale di giovani medici e ricercatori con esperienza in ricerca traslazionale, la preparazione di linee guida per protocolli clinici sarà indispensabile per attuare una fase di educazione ai metodi da utilizzare per il disegno e la conduzione di studi clinici nel settore delle nuove bioterapie antitumorali. Infine, lo sviluppo di un network di strutture GMP permetterà di realizzare studi di fattibilità e di convalida per metodiche, materiali e standard di riferimento, relativamente alla produzione, caratterizzazione/controllo di qualità, e conservazione GMP di prodotti medicinali avanzati.

RILEVANZA AI FINI DELLA REALIZZAZIONE E INTEGRAZIONE DI RETI REGIONALI, INTERREGIONALI, O EUROPEE (max 20 righe)

La “Rete nazionale per studi clinici e di strutture GMP per le bioterapie dei tumori” potrà collegarsi all'infrastruttura europea “Infrastructure for Clinical Trials and Biotherapy Facilities” prevista dallo European Strategy Forum for Research Infrastructure (ESFRI) (bando INFRA-2007-2.2.1.18, Preparatory phase for the projects in the 2006 ESFRI roadmap), attraverso la partecipazione al programma European Clinical Research Infrastructure Network (ECRIN), che fungerà da modello e “core” iniziale per la realizzazione della infrastruttura europea, e che comprende reti nazionali già identificate da altri paesi europei.

CRONOGRAMMA DEL PROGETTO

Le attività previste in questo progetto non saranno sviluppate in progressione temporale ma inizieranno tutte contemporaneamente fino alla scadenza del progetto stesso.

COSTI DI COORDINAMENTO DEL PROGETTO

Coordinatore #1 (Giorgio Parmiani, HSR, NIBIT)

<u>Voci di costo e breve descrizione</u>	<u>Totale</u> EURO	<u>di cui a carico dei fondi ministeriali</u> EURO
1. Personale dipendente	6.000	NULLA

2. Personale a contratto/consulenza/borsa di studio	3.700	3.700

3. Missioni	1.775	1.775

4. Attrezzature (solo a noleggio o leasing):	_____	_____

5. Materiale di consumo	1.000	1.000

6. Pubblicazioni / organizzazione convegni, ecc.	1.000	1.000

7. Elaborazione dati (specificare)	_____	_____

8. Spese generali delle strutture coinvolte (specificare)	830	830

TOTALE	14.305	8.305

COSTI DI COORDINAMENTO DEL PROGETTO

Coordinatore #2 (Enrico Proietti, ISS)

<u>Voci di costo e breve descrizione</u>	<u>Totale</u> EURO	<u>di cui a carico dei fondi ministeriali</u> EURO
1. Personale dipendente <i>2 Dirigenti medici, 1 dirigenti biologo e 1 tecnico laboratorio</i>	24.170	NULLA
2. Personale a contratto/consulenza/borsa di studio <i>2 borsisti biologi e 1 tecnico di laboratorio</i>	0	0
3. Missioni	3.700	3.700
4. Attrezzature (solo a noleggio o leasing):	0	0
5. Materiale di consumo <i>Materiale disposable, tetrameri, peptidi, anticorpi, radioattivo, kit ELISA, etc.</i>	4.604	4.604
6. Pubblicazioni / organizzazione convegni, ecc.	0	0
7. Elaborazione dati (specificare)	0	0
8. Spese generali delle strutture coinvolte (specificare)	0	0
TOTALE	32.474	8.304

COMPOSIZIONE DEL COSTO COMPLESSIVO DEL PROGETTO

<u>Voci di costo e breve descrizione</u>	<u>Totale</u>	<u>di cui a carico dei fondi ministeriali</u>
1. Personale dipendente	1.703.408	NULLA
2. Personale a contratto/consulenza/borsa di studio	642.700	349.700
3. Missioni	90.475	70.475
4. Attrezzature	26.500	11.500
5. Materiale di Consumo	401.604	197.604
6. Pubblicazioni/ organizzazione convegni, ecc.	160.500	139.500
7. Elaborazione dati (specificare)	12.000	7.000
8. Spese generali delle strutture coinvolte (specificare)	21.830	18.830
TOTALE	3.059.017	794.609

Curriculum Vitae dei Coordinatori del progetto

(max 1 pagina per ciascun CV)

(PERIODO DI RIFERIMENTO: ULTIMI 5 ANNI; INDICARE ANCHE LE 10 PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE RITENUTE PIÙ SIGNIFICATIVE, CON PARTICOLARE RIFERIMENTO A QUELLE DELL'AREA TEMATICA SCIENTIFICA SULLA QUALE INSISTE IL PROGETTO)

Giorgio Parmiani

Data e luogo di nascita: 24.10.1938, Sesto San Giovanni (MI).

Titoli di Studio

'64 Laurea in Medicina e Chirurgia 108/110 (Università Statale di Milano)
'76 Specializzazione in Oncologia presso l'Università degli Studi di Pavia (cum laude).

Attività di carriera e professionale

1968-1970 Visiting Scientist presso il Laboratory of Tumor Immunology, Institute for Cancer Research, Filadelfia, USA.
1981-1987 Direttore della Divisione di Oncologia Sperimentale B, Istituto Nazionale Tumori, Milano.
1987-1998 Direttore della Divisione di Oncologia Sperimentale D, Istituto Nazionale Tumori, Milano.
1988 Visiting Professor, Department of Immunology, University of California, Los Angeles (USA).
1991-1992 Professore a contratto di Immunologia, Facoltà di Medicina, Università degli Studi di Brescia.
1996-2004 Vice-Direttore Scientifico, Istituto Nazionale Tumori, Milano.
1998-2006 Direttore Unità Operativa di Immunoterapia dei Tumori Umani, INT.
1999 Eletto membro dell'Academy of Tumor Immunology di New York.
2001-2007 Professore a contratto di Oncologia - Scuola Specializzazione in Oncologia, Università degli Studi di Milano.
2007 Responsabile Programma di Immuno-Bioterapia dei Tumori Solidi presso Fondazione San Raffaele, Milano.

Membro di Comitati di Redazione di riviste scientifiche

- Journal of Immunology, Cancer Immunity; Human Immunology; Melanoma Research (Editore Associato); Tumori; Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica (APMIS).

Revisore ad hoc delle più importanti riviste scientifiche internazionali di immunologia e oncologia.

Selezione delle pubblicazioni più significative degli ultimi anni

1. Belli F, Testori A, Rivoltini L, Maio M, Andreola G, Sertoli MR, Gallino P, Piris A, Cattelan A, Lazzari I, Carrabba M, Scita G, Santantonio C, Pilla L, Tragni G, Lombardo C, Arienti F, Marchianò A, Bertolini F, Cova A, Lamaj E, Ascani L, Camerini R, Corsi M, Cascinelli N, Srivastava PK, Lewis JJ, **Parmiani G**. Vaccination of metastatic melanoma patients with autologous tumor-derived heat shock protein peptide-complex-96: clinical and immunological findings. *J. Clin Oncol* 20: 4169-4180, 2002.
2. **Parmiani G**, Testori A, Maio M, **Castelli C**, **Rivoltini L**, **Pilla L**, Belli F, Mazzaferro V, Coppa J, Patuzzo R, Sertoli MR, Hoos A, Srivastava PK, Santinami M. Heat-shock proteins and their use as anti-cancer vaccines. *Clin Cancer Res* 10: 8142-8146, 2004
3. Novellino L, Castelli C, **Parmiani G**. A listing of human tumor antigens: March 2004 update. *Cancer Immunol Immunother*. 54: 187-207, 2005
4. **Parmiani G**. Tumor-infiltrating lymphocytes: Friends of foes of cancer cells? *New England Journal of Medicine* 353:2640-2641, 2005
5. Pilla L, Patuzzo R, Rivoltini L, Maio M, Pennacchioli E, Lamaj E, Maurichi A, Massarut S, Marchianò A, Santantonio C, Tosi D, Arienti F, Cova A, Sovena G, Piris A, Nonaka D, Bersani I, Di Florio A, Srivastava PK, Hoos A, Santinami M, **Parmiani G**. A phase ii trial of vaccination with autologous, tumor-derived heat-shock protein peptide complexes gp96, in combination with GM-CSF and interferon- α in metastatic melanoma patients. *Cancer Immunol Immunother* 55: 958-968, 2006
6. Hoos A, **Parmiani G**, Hege K, Sznol M, Loibner H, Eggermont A, Urba W, Blumenstein B, Sacks N, Keilholz U, Geoffrey N; for the Cancer Vaccine Clinical Trial Working Group (CVCTWG). *A clinical development paradigm for cancer vaccines and related biologics*. *J Immunother* 2007; 30: 1-15
7. **Parmiani G**, DiFilippo A, Novellino L, Castelli C. *Unique tumor antigens: Immunobiology and use in clinical trials*. *J Immunol* 2007; 178: 1975-79
8. Dalerba P, Dylla SJ, Park I-K, Wang X, Liu R, Cho R, Hoey T, Gurney A, Huang EH, Simeone DM, **Parmiani G**, Castelli C, Clarke MF. *Phenotypic and molecular characterization of human colorectal "Cancer Stem Cells"*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; in press

Curriculum Vitae del Responsabile Scientifico dell’Unità Operativa (max 1 pagina)
(PERIODO DI RIFERIMENTO: ULTIMI 5 ANNI; INDICARE ANCHE LE 10 PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE RITENUTE PIÙ SIGNIFICATIVE, CON PARTICOLARE RIFERIMENTO A QUELLE DELL’AREA TEMATICA SCIENTIFICA SULLA QUALE INSISTE IL PROGETTO)

Dott. Enrico Proietti

Nato a Roma il 9 Aprile 1953

1978: Università di Roma “La Sapienza” Laurea in Medicina e Chirurgia (con lode)

1981: Università di Roma “La Sapienza” Specializzazione in Immunologia Clinica

1991: Università di Roma “La Sapienza” Specializzazione in Oncologia Medica

Formazione e incarichi

1982 Nomina a ricercatore di ruolo presso il Laboratorio di Virologia dell’Istituto Superiore di Sanità.

1990 Incarico di direttore del reparto “Infezioni virali dell’apparato respiratorio” del Laboratorio di Virologia dell’Istituto Superiore di Sanità (incarico mantenuto fino al 1995)

1992 Nomina a Primo Ricercatore presso il Laboratorio di Virologia dell’Istituto Superiore di Sanità

2000 Nomina a Dirigente di Ricerca presso il Laboratorio di Virologia dell’Istituto Superiore di Sanità

2004 Incarico di direttore del reparto di “Immunoregolazione” del Dipartimento di Biologia Cellulare e Neuroscienze dell’Istituto Superiore di Sanità

Formazione all’estero

1988-1990 Permanenza presso il Laboratorio di Oncologia Virale (CNRS UPR 274) a Villejuif (Parigi), diretto dal prof. Ion Gresser. Il soggiorno è stato finanziato grazie a una borsa di studio CNR/NATO e ad una borsa di studio della Fondation pour la Recherche Médicale.

Esperienza lavorativa

Dal 1991 ad oggi è stato responsabile di diverse linee e progetti di ricerca tra cui:

“Sviluppo di nuove strategie di immunoterapia e terapie combinate contro i tumori” promosso dal Ministero della Sanità, nell’ambito del piano di ricerca finalizzata 2002, (coordinatore).

Attualmente svolge attività di ricerca e come esperto per la farmacotossicologia e il protocollo clinico per la commissione mista (Min. Salute-ISS) per la autorizzazione degli studi clinici di terapia genica e cellulare

Principali pubblicazioni attinenti l’area di interesse del progetto

1. Nistico’ P., **E. Proietti** et al. Dacarbazine treatment enhances vaccine-mediated antitumor immunity in melanoma patients. Submitted for publication.
2. Bracci L., Moschella F., **Proietti E.** et al. Cyclophosphamide enhances the antitumor efficacy of adoptively transferred immune cells through the induction of cytokine expression, B and T cell homeostatic proliferation and specific tumor infiltration. 2007. Clin Cancer Res. 13: 644-53.
3. Schiavoni, **Proietti, E.** et al. Type I IFN protects permissive macrophages from *Legionella pneumophila* infection through an IFN-gamma-independent pathway. 2004, Journal of Immunology, 173: 1266-1275.
4. **Proietti E.**, et al. Type I Interferon as a natural adjuvant for a protective immune response: lessons from the influenza vaccine model. 2002, Journal of Immunology, 169: 375-383.
5. Belardelli F, **Proietti E.**, et al. Interferon-alpha in tumor immunity and immunotherapy. 2002, Cytokine Growth Factor Rev. 13: 119-34.
6. Gallo D., **Proietti E.**, et al. Anti-tumour activity of a panel of taxanes toward a cellular model of human cervical cancer. 2000, Cancer Chemotherapy and Pharmacology, 45: 127-132.
7. Schiavoni G **E. Proietti** et al. Cyclophosphamide induces type I interferon and augments the number of CD44^{hi} T lymphocytes in mice: implications for strategies of chemoimmunotherapy of cancer. 2000, Blood, 95: 2024-2030.
8. Rozera C., **E. Proietti.**, et al. Murine IFN- α - β gene -transduced ESb tumor cells rejected by host-mediated mechanisms despite the resistance of the parental tumor to IFN- α / β therapy. 1999, Cancer Gene Therapy 3: 246-253.
9. Belardelli F, **E. Proietti.**, et al. The induction of in vivo proliferation of long-lived CD44^{hi} CD8⁺ T cells after the injection of tumor cells expressing IFN-alpha1 into syngeneic mice. 1998, Cancer Res. 58, 5795-5802.
10. **Proietti E.**, et al. Importance of cyclophosphamide-induced bystander effect on T cells for a successful tumor eradication in response to adoptive immunotherapy in mice. 1998, J. Clinical Investigation, 101, 429-441.

MODULO 2 BIS: DESCRIZIONE DEL CONTRIBUTO DI CIASCUNA UNITÀ OPERATIVA

UNITA' OPERATIVA 1 : COMUNICAZIONE INTERNA ALLA RETE

Work Package 1. Promozione della ricerca sulle bioterapie dei tumori attraverso la promozione della comunicazione
(Responsabili: Maria Ferrantini - Michele Maio)

RESPONSABILE SCIENTIFICO: nominativo: **MICHELE MAIO**

struttura di appartenenza: UOC Immunoterapia Oncologica, Azienda Ospedaliera Universitaria Senese funzione: Direttore

indirizzo: Strada delle Scotte 14 53100 - Siena

N. tel: 0577-586336

N. fax: 0577-586303

indirizzo E-mail: mmaio@cro.it

RAPPRESENTANTE LEGALE: nominativo: DR. CARLO RINALDO TOMASSINI

CONTRIBUTO SPECIFICO FORNITO AL PROGETTO (max 20 righe)

Il contributo specifico al progetto fornito da questa UO consisterà nella realizzazione di iniziative ed eventi dedicati alla promozione della comunicazione interna alla rete, laddove per rete si intende il NIBIT. In particolare, l'UO si occuperà della diffusione nell'ambito della rete delle informazioni sulle iniziative e sui risultati operativi dei differenti WP del progetto e della organizzazione di “workshops” e incontri dedicati alla discussione sia dei risultati delle attività dei WP sia di quegli argomenti di carattere scientifico, tecnico-procedurale, regolatorio e burocratico di interesse per la rete stessa. Tali eventi rappresenteranno lo strumento operativo attraverso il quale si realizzerà il necessario flusso di informazioni su risultati pre-clinici e clinici generati nell'ambito della rete e del progetto, l'integrazione delle attività pre-cliniche e cliniche tra le varie componenti professionali che fanno parte della rete, la comunicazione della rete con le componenti del progetto dedicate agli aspetti regolatori e di formazione. In aggiunta, la costruzione e l'aggiornamento progressivo di un sito internet permetterà la divulgazione dell'informazione su argomenti di interesse generale per la comunità scientifica e non, con particolare riguardo all'applicazione clinica di nuove strategie e metodologie di bioterapia dei tumori.

METODOLOGIA (MAX 50 RIGHE)

Per promuovere in modo ottimale la comunicazione all'interno della rete, in continuità con quanto avvenuto negli anni scorsi, sarà organizzato un “meeting” scientifico annuale aperto alle Unità già partecipanti alla rete, nonché ad altre fattivamente impegnate nella bioterapia dei tumori che ne faranno espressa richiesta, o eventualmente identificate dai componenti della rete. Le riunioni prevedranno, così come in passato, la presenza di componenti “accademiche”, delle Agenzie Regolatorie, dell'Industria farmaceutica e biotecnologica, nonché dei pazienti oncologici tramite le loro associazioni. La presenza contestuale di tutte le componenti professionali coinvolte nello sviluppo di programmi pre-clinici e clinici connessi con la bioterapia dei tumori faciliterà lo sviluppo di programmi collaborativi altamente integrati al fine di ottimizzare l'interscambio di informazioni su specifici ambiti di competenza, tutti indispensabili alla più efficace traslazione clinica di nuovi approcci di bioterapia del cancro.

Sempre in continuità con il passato, saranno organizzati “workshop” annuali “ristretti” a componenti selezionate della rete, che verteranno su tematiche specifiche emergenti o di particolare interesse per il settore della bioterapia dei tumori. Ciò al fine di discutere in dettaglio e di attivare iniziative *ad hoc* su argomenti di particolare rilevanza e criticità per promuovere lo sviluppo e l'applicazione della bioterapia dei tumori con modalità più incisive rispetto al passato e per diffonderne quindi l'informazione.

La progressiva implementazione di un sito internet, per il quale è già stato acquisito un dominio web, permetterà di veicolare in modo organico e tempestivo ai componenti della rete, nonché più in generale alla comunità scientifica e non, quanto sviluppato all'interno sia della rete sia dei WP del presente progetto. Attraverso il sito sarà inoltre possibile pubblicizzare eventi (convegni, workshop, corsi) dedicati ad argomenti correlati alla bioterapia dei tumori, così come diffondere informazioni di carattere regolatorio, tecnico, scientifico e medico di interesse dei vari attori operanti nel settore della bioterapia del cancro, quali ricercatori di laboratorio e clinici, rappresentanti delle autorità regolatorie, professionisti del disegno e monitoraggio di studi clinici di bioterapia. Il sito potrà inoltre essere utilizzato per l'attivazione di forum di discussione su aspetti critici legati alla sperimentazione pre-clinica e clinica, alla formazione di nuove figure professionali e all'aggiornamento di quelle già esistenti, alla normativa e all'etica, al fine di favorire la elaborazione di documenti *consensus* da sottoporre alla comunità scientifica e a tutti gli attori di riferimento nel settore della bioterapia del cancro. Scopo ulteriore del sito sarà quello di informare adeguatamente i pazienti oncologici sulla disponibilità di nuove strategie di bioterapia e sulle sedi dove queste sono attuate a livello nazionale e internazionale.

RISORSE UMANE

Personale dedicato alle attività del progetto (in mesi-uomo):

- | | |
|---|---|
| 1. tipologia: interna
competenza: Medico
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Direttore UOC
mesi-uomo dedicati: 3 |
| 2. tipologia: interna
competenza: Biologo
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Dir. I Livello
mesi-uomo dedicati: 12 |
| 3. tipologia: esterna
competenza: Data Manager (Biologo)
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Contrattista
mesi-uomo dedicati: 12 |

COMPOSIZIONE DEI COSTI DELL'UNITÀ OPERATIVA

<u>Voci di costo e breve descrizione</u>	<u>Totale</u> EURO	<u>di cui a carico dei fondi ministeriali</u> EURO
1. Personale dipendente <i>Medico</i> <i>Biologo</i>	66.000	NULLA
2. Personale a contratto/consulenza/borsa di studio <i>Data manager (Biologo)</i> <i>Biologo o Biotecnologo o Psicologo (contratto)</i> <i>Informatico (consulenza)</i>	59.000	30.000
3. Missioni	2.000	2.000
4. Attrezzature (solo a noleggio o leasing):	0	0
5. Materiale di consumo	5.000	5.000
6. Pubblicazioni / organizzazione convegni, ecc. <i>Meeting annuali</i> <i>Workshop</i> <i>Pubblicazioni divulgative e scientifiche</i>	21.000	21.000
7. Elaborazione dati (specificare) <i>Attivazione e gestione sito internet</i>	2.000	2.000
8. Spese generali delle strutture coinvolte (specificare)	0	0
TOTALE	155.000	60.000

Curriculum Vitae del Responsabile Scientifico dell'Unità Operativa

(max 1 pagina)

(PERIODO DI RIFERIMENTO: ULTIMI 5 ANNI; INDICARE ANCHE LE 10 PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE RITENUTE PIÙ SIGNIFICATIVE, CON PARTICOLARE RIFERIMENTO A QUELLE DELL'AREA TEMATICA SCIENTIFICA SULLA QUALE INSISTE IL PROGETTO)

Dott. Michele Maio

Academic Studies: 1982, M.D. degree, 2nd School of Medicine, Naples, Italy, magna cum laude; 1985, Board Certified - Hematology, magna cum laude; 1991, Board Certified - Oncology.

Employment: 2003-present, Director, Division of Medical Oncology and Immunotherapy, Dept. of Oncology, University Hospital, Siena, Italy and Coordinator, Cancer Bioimmunotherapy Unit, CRO, Aviano, Italy; 1993-03, Head, Cancer Bioimmunotherapy Unit, Dept. of Medical Oncology, C.R.O., Aviano, Italy; 1990-92, Associate Director, Division of Exp. Oncology 2, C.R.O., Aviano, Italy; 1987-88, Assistant, Division of Exp. Oncology 2, Tumor Immunology Section, C.R.O., Aviano, Italy; 1984-87, Post-Doctoral Fellow, Department of Microbiology and Immunology, NYMC, Valhalla, NY, U.S.A.; 1982-84, Post-Doctoral Fellow, Chair of Immunology, 2nd School of Medicine, Naples, Italy; 1978-82, Pre-Doctoral Fellow, *Immunology Chair, 2nd School of Medicine, Naples, Italy.*

Clinical and Research Activities: Principal Investigator of clinical trials with biological response modifiers (e.g. anti-idiotypic monoclonal antibodies, immunogenic peptides, gene-transduced neoplastic cells) and new pharmacologic agents in patients with solid malignancies. Pre-clinical studies on the antigenic profile of human melanoma cells and their interaction with the immune system, on the regulation and functional role of cell adhesion molecules on neoplastic cells, on signal transduction in normal and neoplastic cells, on the functional role of complement regulatory proteins in solid malignancies, and on the immunologic role of DNA hypomethylating agents and of inhibitors of histone deacetylase to develop new chemo-immunotherapeutic treatments in cancer patients.

Academic Activities: 1987-present, Lecturer in Immunology, Udine Medical School, Italy; 1989-2000, Adjunct Associate Professor of Immunology, NYMC, Valhalla, USA; 2002-present, Adjunct Professor, College of Science and Biotechnology, Temple University, Philadelphia, PA, USA.

Societies: AACR, ASCO, Italian Cooperative Group for Immunology, Italian Tumor Society, EORTC-Melanoma Group, GIME, Scientific Advisory Board - Sbarro Health Research Organization-U.S.A., Network Italiano per la Bioterapia dei Tumori, International Melanoma Working Group.

Editorial Boards: Seminars in Oncology, Journal of Immunotherapy, Women's Oncology Reviews, Journal of Translational Medicine, Journal of Experimental and Clinical Cancer Research (Reviews Editor), Supportive and Palliative Cancer Care.

Extramural Grants: AIRC, FIRC, CNR, ISS, Italian Health Ministry, Italian Research Ministry, European Union, NCI-Bethesda-MD-USA, Industry.

Pubblicazioni

1. Sigalotti L, Coral S, Nardi G, Spessotto A, Cortini E, Cattarossi I, Colizzi F, Altomonte M, and Maio M. Promoter methylation controls the expression of MAGE-2, -3 and -4 genes in human cutaneous melanoma. *J. Immunother.*, 25: 16-26, 2002.
2. Sigalotti L, Coral S, Altomonte M, Natali L, Gaudino G, Cacciotti P, Libener R, Colizzi F, Vianale G, Martini F, Tognon M, Jungbluth A, Cebon J, Maraskovsky E, Mutti L, Maio M. Cancer Testis Antigens expression in mesothelioma: role of DNA methylation and bioimmunotherapeutic implications. *Brit. J. Cancer*, 86: 979-982, 2002.
3. Coral S, Sigalotti L, Altomonte M, Engelsberg A, Colizzi F, Cattarossi I, Maraskovsky E, Jager E, Seliger B, Maio M. 5-AZA-2'-deoxycytidine-induced expression of functional cancer testis antigens in human renal cell carcinoma: immunotherapeutic implications. *Clin. Can. Res.*, 8: 2690-2695, 2002.
4. Sigalotti L, Altomonte M, Colizzi F, Degan M, Rupolo M, Zagonel V, Pinto A, Gattei V, Maio M. 5-Aza-2'-deoxycytidine (decitabine) treatment of hematopoietic malignancies: a multimechanism therapeutic approach? *Blood*, 101: 4644-4646, 2003.
5. Fonsatti E, Sigalotti L, Coral S, Colizzi F, Altomonte M, Maio M. Methylation-regulated expression of HLA class I antigens in melanoma. *Int. J. Cancer*, 105: 430-431, 2003.
6. Sigalotti L., Fratta E., Coral S., Tanzarella S., Colizzi F., Fonsatti E., Traversari C., Altomonte M., Maio M. Intratumor heterogeneity of cancer/testis antigens expression in human cutaneous melanoma is methylation-regulated and functionally reverted by 5-aza-2'-deoxycytidine. *Cancer Res.*, 64: 9167-9171, 2004.
7. Calabrò L, Fonsatti E, Altomonte M, Pezzani L, Colizzi F, Sigalotti L, Maio M. Methylation-regulated expression of Cancer Testis Antigens in Primary Effusion Lymphoma: immunotherapeutic implications. *J. Cell. Physiol.*, 202: 474-477, 2005.
8. Sigalotti L, Coral S, Fratta E, Lamaj E, Danielli R, Di Giacomo AM, Altomonte M, Maio M. Epigenetic modulation of solid tumors as a novel approach for cancer immunotherapy. *Semin. Oncol.*, 32: 473-478, 2005.
9. Gattei V, Fonsatti E, Sigalotti L, Degan M, Di Giacomo AM, Altomonte M, Calabrò L, Maio M. Epigenetic immunomodulation of hematopoietic malignancies. *Semin. Oncol.*, 32: 503-510, 2005.
10. Coral S, Sigalotti L, Colizzi F, Spessotto A, Nardi G, Cortini E, Pezzani L, Fratta E, Fonsatti E, Di Giacomo AM, Nicotra MR, Natali PG, Altomonte M, Maio M. Phenotypic and functional changes of human melanoma xenografts induced by DNA hypomethylation: immunotherapeutic implications. *J. Cell. Physiol.*, 207: 58-66, 2006.

UNITÀ OPERATIVA 2: COMUNICAZIONE ESTERNA

Work Package 1. Promozione della ricerca sulle bioterapie dei tumori attraverso la promozione della comunicazione
(Responsabili: Maria Ferrantini - Michele Maio)

RESPONSABILE SCIENTIFICO: nominativo: **MARIA FERRANTINI**

struttura di appartenenza: Istituto Superiore di Sanità, Dip. di Biologia Cellulare e Neuroscienze funzione: Direttore di reparto

indirizzo: Viale Regina Elena 299, 00161 Roma

N. tel:+39 06 49906087

N. fax:+39 06 49902140

indirizzo E-mail: maria.ferrantini@iss.it

RAPPRESENTANTE LEGALE: nominativo: **PROF. ENRICO GARACI**

CONTRIBUTO SPECIFICO FORNITO AL PROGETTO (max 20 righe)

Una efficiente comunicazione tra ricercatori di laboratorio, ricercatori clinici, autorità regolatorie, e industria farmaceutica e delle biotecnologie, rappresenta uno dei requisiti fondamentali per un rapido trasferimento dei risultati della ricerca alla sperimentazione clinica, particolarmente nel settore della bioterapia dei tumori, nel quale molti sono gli aspetti sperimentali legati allo sviluppo pre-clinico e clinico dei biofarmaci, e gli aspetti normativi ed etici ancora da definire e sui quali è urgente giungere ad un'opinione di consenso tra i diversi attori coinvolti.

Il contributo di questa UO al progetto sarà l'attuazione di iniziative atte a promuovere la comunicazione tra la rete italiana oggetto del presente progetto e gli altri referenti che a livello nazionale e internazionale sono coinvolti nel settore delle bioterapie dei tumori. Una particolare attenzione sarà dedicata al coinvolgimento di referenti di progetti europei dedicati ad azioni di coordinamento della ricerca traslazionale e clinica nell'area dell'oncologia. Ciò sarà fortemente facilitato dalla partecipazione del responsabile di questa UO e del responsabile del WP 5, Giovanni Migliaccio, al progetto europeo EUROCAN+PLUS “*Feasibility Study for Coordination of National Cancer Research Activities*” coordinato da Peter Boyle (Direttore dello IARC), nel quale l'ISS, rappresentato da Filippo Belardelli, costituisce il partner per l'Italia. Tra gli obiettivi di cui il gruppo dell'ISS è responsabile nel contesto dell'EUROCAN+PLUS vi sono la definizione di specifiche linee guida per studi pilota nell'area delle bioterapie, l'analisi dei progetti in corso nelle istituzioni pubbliche e private dei differenti paesi membri riguardo allo sviluppo di vaccini preventivi, e l'analisi degli approcci correnti per testare e valutare l'efficacia di vaccini antitumorali e strategie di bio-immunoterapia in pazienti oncologici al fine di raggiungere un *consensus* su “endpoints”/metodologie/marcatori per il disegno e il monitoraggio delle risposte biologiche, immunologiche e cliniche. Nei “working groups” che il gruppo dell'ISS ha costituito per raggiungere tali obiettivi sono già coinvolti, tra altri, anche vari membri del NIBIT. È opportuno infine menzionare il recente coinvolgimento dell'ISS nelle proposte per le fasi preparatorie delle infrastrutture ECRIN (Maria Ferrantini, per il WP sulle “GMP facilities” per le bioterapie) ed EATRIS (Filippo Belardelli e Giovanni Migliaccio, per il WP sugli aspetti regolatori).

METODOLOGIA (MAX 50 RIGHE)

Verranno organizzati convegni per la presentazione e la discussione di risultati della ricerca di base, traslazionale e clinica maturati in seno alla comunità internazionale operante nel settore dell'immunobiologia dei tumori e della bio-immunoterapia del cancro. Nel contesto di tali eventi oppure di “workshop” dedicati verranno discussi temi di particolare rilevanza per il progresso del settore, quali:

- a) la formazione di figure professionali in grado di eseguire tutte le fasi necessarie alla conduzione di una sperimentazione clinica di bioterapia del cancro in conformità alle linee guida esistenti o che verranno man mano elaborate a livello nazionale ed europeo (disegno dello studio clinico, preparazione del protocollo, interazione con le autorità responsabili dell'autorizzazione del protocollo, esecuzione, gestione e monitoraggio dello studio);
- b) la definizione dei piani di sviluppo pre-clinico e clinico di particolari tipi di biofarmaci, con particolare riferimento a prodotti medicinali avanzati;
- c) i criteri, le metodologie, l'organizzazione infrastrutturale per la gestione e condivisione dei dati derivanti dagli studi clinici;
- d) l'ottimizzazione della interazione con l'industria a livello nazionale ed europeo;

Nella pianificazione di tali eventi verranno recepite le indicazioni derivanti dall'attività della UO 1 di questo WP dedicata alla comunicazione interna alla rete e quindi, per suo tramite, dagli altri WP del presente progetto. Tra gli obiettivi degli incontri

sarà compreso quello della presentazione e discussione di quei documenti generati dalla rete italiana sui quali si intende elaborare documenti *consensus* da proporre alla comunità scientifica, alle agenzie regolatorie, ai referenti pubblici responsabili delle politiche di istruzione e di sanità, ai referenti dell’industria farmaceutica e biotecnologica, alle associazioni dei pazienti e ai cittadini.

L’elaborazione di tali documenti verrà implementata mediante la costituzione di gruppi di lavoro, formati dai responsabili dei vari WP che avranno il compito di preparare documenti preliminari che le due UO del WP1 faranno circolare all’interno della rete e che questa UO diffonderà a scopo di consultazione ad un gruppo di esperti definito dagli stessi responsabili dei WP. La fase di consultazione e di successiva elaborazione dei documenti preliminari verranno realizzate mediante l’utilizzo di diversi strumenti operativi nelle diverse fasi, quali comunicazione per via telematica, teleconferenze, incontri ristretti o allargati. Seguirà quindi una fase di consultazione inclusiva di tutti i potenziali interessati mediante diffusione dei documenti sul sito internet realizzato dalla UO del WP1 dedicata alla comunicazione interna alla rete. Si cercherà, ogniqualvolta possibile e appropriato, di coinvolgere direttamente nella fase di discussione allargata tutti i soggetti pubblici e privati che possano contribuire a identificare fin dalle prime fasi proposte condivisibili da parte dei diversi attori coinvolti.

Terminata l’elaborazione dei documenti *consensus*, questi verranno diffusi da parte di questa UO per conto dei coordinatori del presente progetto, previa traduzione in inglese se del caso, a quelle istituzioni, agenzie ed enti pubblici e privati, nazionali ed internazionali che si riterrà opportuno coinvolgere. Per alcuni aspetti e temi particolari, è possibile prevedere anche la comunicazione alla stampa.

I risultati conseguiti dal presente progetto alla sua conclusione verranno inoltre elaborati sotto la forma che verrà ritenuta più adeguata per i diversi aspetti o temi (articoli, rapporti tecnici, editoriali) che la rete come tale sottometterà a riviste scientifiche nazionali e internazionali.

RISORSE UMANE

Personale dedicato alle attività del progetto (in mesi-uomo):

- | | |
|---|---|
| 1. tipologia: (interna/esterna) interna
competenza: biologo
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Primo Ricercatore
mesi-uomo dedicati: 3 |
| 2. tipologia: (interna/esterna) interna
competenza: biologo
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Ricercatore
mesi-uomo dedicati: 6 |
| 3. tipologia: (interna/esterna) interna
competenza: attività di segreteria
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: CAER
mesi-uomo dedicati: 12 |

COMPOSIZIONE DEI COSTI DELL'UNITÀ OPERATIVA

Voci di costo e breve descrizione

	<u>Totale</u> EURO	<u>di cui a carico dei fondi ministeriali</u> EURO
1. Personale dipendente	71.300	NULLA
2. Personale a contratto/consulenza/borsa di studio	0	0
3. Missioni	4.000	4.000
4. Attrezzature (solo a noleggio o leasing):	0	0
5. Materiale di consumo	11.000	11.000
6. Pubblicazioni / organizzazione convegni, ecc.	45.000	45.000
7. Elaborazione dati (specificare)	0	0
8. Spese generali delle strutture coinvolte (specificare)	0	0
TOTALE	131.300	60.000

Curriculum Vitae del Responsabile Scientifico dell'Unità Operativa (max 1 pagina)

(PERIODO DI RIFERIMENTO: ULTIMI 5 ANNI; INDICARE ANCHE LE 10 PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE RITENUTE PIÙ SIGNIFICATIVE, CON PARTICOLARE RIFERIMENTO A QUELLE DELL'AREA TEMATICA SCIENTIFICA SULLA QUALE INSISTE IL PROGETTO)

Dott.ssa Maria Ferrantini

Nata a Roma il 08/04/1959

1984: Laurea in Scienze Biologiche, Università degli studi “La Sapienza” di Roma, votazione di 110/110 e lode.

1987-89: frequenta il laboratorio del Dr. Lewis T. Williams presso la University of California, San Francisco.

1991: frequenta il laboratorio di Oncologia Virale del CNRS di Villejuif, diretto dal Dr. Ion Gresser.

1992-2001: Ricercatore presso il Laboratorio di Virologia, Reparto “Biologia e Genetica dei Virus Animali”, Istituto Superiore di Sanità (ISS).

Dicembre 2001-marzo 2004: Primo Ricercatore presso lo stesso Laboratorio e Reparto.

Da marzo 2004 a ottobre 2006, Primo Ricercatore presso il Dip. di Biologia Cellulare e Neuroscienze, Reparto di Terapia Genica e Cellulare, ISS.

Da ottobre 2006 ad oggi, Direttore del Reparto di Immunoterapia Sperimentale, Dipartimento di Biologia Cellulare e Neuroscienze, ISS.

Membro del Comitato Scientifico e Organizzatore dei seguenti eventi internazionali:

1999, “Conference on Cancer Vaccines (15-16 novembre, Istituto Superiore di Sanità);

2002, “Cytokines as natural adjuvants: perspectives for vaccine development” (22-24 aprile, Istituto Superiore di Sanità);

2004, “International Meeting on Cancer Vaccines” (19-20 aprile, Istituto Superiore di Sanità);

2006, “Immunotherapy of Cancer: Challenges and Needs” (24-25 aprile, Istituto Superiore di Sanità).

Pubblicazioni selezionate

1. **Ferrantini M**, Capone I, Marincola FM, Parmiani G, Belardelli F. International meeting "Immunotherapy of cancer: challenges and needs". *Cancer Immunol Immunother.* 56:581-585, 2007.
2. Di Pucchio T, Pilla L, Capone I, **Ferrantini M**, Montefiore E, Urbani F, Patuzzo R, Pennacchioli E, Santinami M, Cova A, Sovena G, Arienti F, Lombardo C, Lombardi A, Caporaso P, D'Atri S, Marchetti P, Bonmassar E, Parmiani G, Belardelli F, Rivoltini L. Immunization of stage IV melanoma patients with Melan-A/MART-1 and gp100 peptides plus IFN-alpha results in the activation of specific CD8+ T cells and monocyte/dendritic cell precursors. *Cancer Res.* 66:4943-4951, 2006.
3. Belardelli F, **Ferrantini M**, Parmiani G, Schlom J, Garaci E. International meeting on cancer vaccines: how can we enhance efficacy of therapeutic vaccines? *Cancer Res.* 64:6827-6830, 2004.
4. Chaput N, Scharzt NE, Andre F, Taieb J, Novault S, Bonnaventure P, Aubert N, Bernard J, Lemonnier F, Merad M, Adema G, Adams M, **Ferrantini M**, Carpentier AF, Escudier B, Tursz T, Angevin E, Zitvogel L. Exosomes as potent cell-free peptide-based vaccine. II. Exosomes in CpG adjuvants efficiently prime naive Tc1 lymphocytes leading to tumor rejection. *J Immunol.* 172:2137-2146, 2004.
5. Santodonato L, D'Agostino G, Nisini R, Mariotti S, Monque DM, Spada M, Lattanzi L, Perrone MP, Andreotti M, Belardelli F, **Ferrantini M**. Monocyte-derived dendritic cells generated after a short-term culture with IFN-alpha and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor stimulate a potent Epstein-Barr virus-specific CD8+ T cell response. *J Immunol.* 170:5195-5202, 2003.
6. Rizza P, **Ferrantini M**, Capone I, Belardelli F. Cytokines as natural adjuvants for vaccines: where are we now? *Trends Immunol.* 23:381-383, 2002.
7. Matarrese P, Di Biase L, Santodonato L, Straface E, Mecchia M, Ascione B, Parmiani G, Belardelli F, **Ferrantini M**, Malorni W. Type I interferon gene transfer sensitizes melanoma cells to apoptosis via a target activity on mitochondrial function. *Am J Pathol.* 160:1507-1520, 2002.
8. Padovan E, Spagnoli GC, **Ferrantini M**, Heberer M. IFN-alpha2a induces IP-10/CXCL10 and MIG/CXCL9 production in monocyte-derived dendritic cells and enhances their capacity to attract and stimulate CD8+ effector T cells. *J Leukoc Biol.* 71:669-676, 2002.
9. Belardelli F, **Ferrantini M**. Cytokines as a link between innate and adaptive antitumor immunity. *Trends Immunol.* 23:201-208, 2002.
10. Belardelli F, Ferrantini M, Proietti E, Kirkwood JM. Interferon-alpha in tumor immunity and immunotherapy. *Cytokine Growth Factor Rev.* 13:119-134, 2002.

UNITÀ OPERATIVA 3: Unità di Immuno-Bioterapia dei Tumori Solidi

RESPONSABILE SCIENTIFICO: nominativo: **GIORGIO PARMIANI**

struttura di appartenenza : Istituto Scientifico Fondazione San Raffaele del Monte Tabor

indirizzo Via Olgettina, 58–20132 Milano

N. tel: 02 2643 7440

N. fax 02 2643 4861

indirizzo E-mail: parmiani.giorgio@hsr.it

RAPPRESENTANTE LEGALE: nominativo: **ROBERTO BOTTI**

CONTRIBUTO SPECIFICO FORNITO AL PROGETTO (max 20 righe)

Bioterapia e immunoterapia dei tumori sono diventate una realtà della ricerca traslazionale in tutto il mondo. Nel nostro paese la ricerca sulle bioterapie dei tumori è ancora limitata pur in presenza di centri di eccellenza della ricerca pre-clinica e di ottimi gruppi di ricerca clinica in oncologia. Le due componenti della ricerca bio-terapeutica restano però ancora troppo separate ed è necessario invece che si incontrino e si contaminino per favorire nuove proposte di studio di bioterapia dei tumori. Tra le carenze che non hanno ancora consentito l'attivazione se non di un numero insufficiente di studi traslazionali e clinici di bioterapia, è anche la mancanza di figure di medici/ricercatori capaci di lavorare in laboratorio e di simultaneamente di contribuire alla stesura di protocolli traslazionali di ricerca clinica e alla loro gestione (raccolta dati in accordo alle procedure approvate, interpretazione dei risultati, ecc.).

Il contributo specifico di questa Unità operativa sarà focalizzato come segue:

1. Promuovere la ricerca italiana sulle bioterapie dei tumori attraverso organizzazione di incontri/convegni al fine di favorire scambi di informazione e promuovere programmi comuni tra ricerca pre-clinica e clinica aumentando così la competitività della ricerca clinica nazionale e la sua integrazione nel contesto internazionale. A tale scopo si elaborerà un documento di possibile revisione delle regole che devono essere adottate per l'approvazione di questi protocolli da parte delle autorità regolatorie nella ipotesi che gli studi clinici di immuno-bioterapia debbano avere un percorso diverso da quelli relativi ai farmaci tardizionali.
2. Coinvolgere giovani medici e ricercatori con esperienza in ricerca traslazionale e protocolli clinici attraverso una fase di educazione ai metodi da utilizzare per il disegno, la conduzione e la gestione dell'aspetto scientifico di studi clinici nel settore delle nuove bioterapie antitumorali.

METODOLOGIA (MAX 50 RIGHE)

- Si procederà alla creazione di gruppi di lavoro distinti a seconda dell'esperienza dei partecipanti per approfondire le conoscenze scientifiche pre-cliniche e cliniche nell'ambito della immuno-bioterapia dei tumori ed elaborare un documento da offrire alla discussione dei diversi gruppi afferenti al NIBIT e agli esperti dei attività regolatorie per costruire una proposta di modifica delle regole di approvazione di protocolli clinici traslazionali di immuno-bioterapia dei tumori che consentano una più celere approvazione e attivazione degli stessi ;
- Si organizzerà un corso residenziale annuale con docenti italiani e stranieri e si raccoglierà il risultato di questi corsi di formazione in una pubblicazione disponibile anche per via elettronica sul sito NIBIT;
- Saranno attivati corsi di formazione mirati a divulgare le conoscenze scientifiche e metodologiche sulle bioterapie dei tumori tra i giovani ricercatori italiani laureati in medicina

RISORSE UMANE

Personale dedicato alle attività del progetto (in mesi-uomo):

- | | |
|---|---|
| 1. tipologia: (interna/esterna) Interna
competenza: Medico
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Dirigente di UO

mesi-uomo dedicati: 3 |
| 2. tipologia: (interna/esterna) Esterna
competenza: Medico
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Contrattista

mesi-uomo dedicati: 6 |
| 3. tipologia: (interna/esterna) Interna
competenza: Biologo
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Contrattista

mesi-uomo dedicati: 9 |

COMPOSIZIONE DEI COSTI DELL'UNITÀ OPERATIVA

<u>Voci di costo e breve descrizione</u>	<u>Totale</u>	<u>di cui a carico dei fondi ministeriali</u>
1. Personale dipendente	35.000	NULLA

2. Personale a contratto/consulenza/borsa di studio	35.000	35.000

3. Missioni	2.500	2.500

4. Attrezzature (solo a noleggio o leasing):	_____	_____

5. Materiale di consumo	_____	_____

6. Pubblicazioni / organizzazione convegni, ecc.	30.000	30.000

7. Elaborazione dati (specificare)	_____	_____

8. Spese generali delle strutture coinvolte (specificare)	7.500	7.500

TOTALE	110.000	75.000

Curriculum Vitae del Responsabile Scientifico dell'Unità Operativa (max 1 pagina)
(PERIODO DI RIFERIMENTO: ULTIMI 5 ANNI; INDICARE ANCHE LE 10 PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE RITENUTE PIÙ SIGNIFICATIVE, CON PARTICOLARE RIFERIMENTO A QUELLE DELL'AREA TEMATICA SCIENTIFICA SULLA QUALE INSISTE IL PROGETTO)

Giorgio Parmiani

Data e luogo di nascita: 24.10.1938, Sesto San Giovanni (MI).

Titoli di Studio

'64 Laurea in Medicina e Chirurgia 108/110 (Università Statale di Milano)
'76 Specializzazione in Oncologia presso l'Università degli Studi di Pavia (cum laude).

Attività di carriera e professionale

1968-1970 Visiting Scientist presso il Laboratory of Tumor Immunology, Institute for Cancer Research, Filadelfia, USA.
1981-1987 Direttore della Divisione di Oncologia Sperimentale B, Istituto Nazionale Tumori, Milano.
1987-1998 Direttore della Divisione di Oncologia Sperimentale D, Istituto Nazionale Tumori, Milano.
1988 Visiting Professor, Department of Immunology, University of California, Los Angeles (USA).
1991-1992 Professore a contratto di Immunologia, Facoltà di Medicina, Università degli Studi di Brescia.
1996-2004 Vice-Direttore Scientifico, Istituto Nazionale Tumori, Milano.
1998-2006 Direttore Unità Operativa di Immunoterapia dei Tumori Umani, INT.
1999 Eletto membro dell'Academy of Tumor Immunology di New York.
2001-2007 Professore a contratto di Oncologia - Scuola Specializzazione in Oncologia, Università degli Studi di Milano.
2007 Responsabile Programma di Immuno-Bioterapia dei Tumori Solidi presso Fondazione San Raffaele, Milano.

Membro di Comitati di Redazione di riviste scientifiche

- Journal of Immunology, Cancer Immunity; Human Immunology; Melanoma Research (Editore Associato); Tumori; Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica (APMIS).

Revisore ad hoc delle più importanti riviste scientifiche internazionali di immunologia e oncologia.

Selezione delle pubblicazioni più significative degli ultimi anni

9. Belli F, Testori A, Rivoltini L, Maio M, Andreola G, Sertoli MR, Gallino P, Piris A, Cattelan A, Lazzari I, Carrabba M, Scita G, Santantonio C, Pilla L, Tragni G, Lombardo C, Arienti F, Marchianò A, Bertolini F, Cova A, Lamaj E, Ascani L, Camerini R, Corsi M, Cascinelli N, Srivastava PK, Lewis JJ, **Parmiani G**. Vaccination of metastatic melanoma patients with autologous tumor-derived heat shock protein peptide-complex-96: clinical and immunological findings. *J. Clin Oncol* 20: 4169-4180, 2002.
10. **Parmiani G**, Testori A, Maio M, **Castelli C**, **Rivoltini L**, **Pilla L**, Belli F, Mazzaferro V, Coppa J, Patuzzo R, Sertoli MR, Hoos A, Srivastava PK, Santinami M. Heat-shock proteins and their use as anti-cancer vaccines. *Clin Cancer Res* 10: 8142-8146, 2004
11. Novellino L, Castelli C, **Parmiani G**. A listing of human tumor antigens: March 2004 update. *Cancer Immunol Immunother*. 54: 187-207, 2005
12. **Parmiani G**. Tumor-infiltrating lymphocytes: Friends of foes of cancer cells? *New England Journal of Medicine* 353:2640-2641, 2005
13. Pilla L, Patuzzo R, Rivoltini L, Maio M, Pennacchioli E, Lamaj E, Maurichi A, Massarut S, Marchianò A, Santantonio C, Tosi D, Arienti F, Cova A, Sovena G, Piris A, Nonaka D, Bersani I, Di Florio A, Srivastava PK, Hoos A, Santinami M, **Parmiani G**. A phase ii trial of vaccination with autologous, tumor-derived heat-shock protein peptide complexes gp96, in combination with GM-CSF and interferon- α in metastatic melanoma patients. *Cancer Immunol Immunother* 55: 958-968, 2006
14. Hoos A, **Parmiani G**, Hege K, Sznol M, Loibner H, Eggermont A, Urba W, Blumenstein B, Sacks N, Keilholz U, Geoffrey N; for the Cancer Vaccine Clinical Trial Working Group (CVCTWG). *A clinical development paradigm for cancer vaccines and related biologics*. *J Immunother* 2007; 30: 1-15
15. **Parmiani G**, DiFilippo A, Novellino L, Castelli C. *Unique tumor antigens: Immunobiology and use in clinical trials*. *J Immunol* 2007; 178: 1975-79
16. Dalerba P, Dylla SJ, Park I-K, Wang X, Liu R, Cho R, Hoey T, Gurney A, Huang EH, Simeone DM, **Parmiani G**, Castelli C, Clarke MF. *Phenotypic and molecular characterization of human colorectal "Cancer Stem Cells"*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; in press

UNITÀ OPERATIVA N. 4: Agenzia Italiana del Farmaco

WP2. Definizione e divulgazione di metodi per il disegno e la conduzione di trias clinici di bioterapia dei tumori attraverso meetings, workshops tematici e corsi di formazione. Responsabili: G. Parmiani (HSR/NIBIT), C. Pintus (AIFA)

RESPONSABILE SCIENTIFICO: nominativo: **CRISTINA PINTUS**

struttura di appartenenza : Agenzia Italiana del Farmaco

indirizzo Via della Sierra Nevada, 60 – 00144 Roma

N. tel: 06 5978 4302

N. fax 06 5978 4554

indirizzo E-mail: c.pintus@aifa.gov.it

RAPPRESENTANTE LEGALE: nominativo: DOTT. NELLO MARTINI

CONTRIBUTO SPECIFICO FORNITO AL PROGETTO (max 20 righe)

I prodotti di bioterapia sono medicinali molto innovativi perché costituiti da sostanze non più di sintesi chimica farmaceutica, ma a base di cellule e derivati cellulari. Inoltre sono fabbricati principalmente in ambiti ospedalieri da parte di piccoli gruppi di ricercatori e non in industrie con grandi risorse e scopi commerciali.

La farmacologia non clinica convenzionale e gli studi di tossicologia non sono sempre ritenuti idonei per questo tipo di prodotti e non si ottengono i risultati predittivi per gli effetti nell'uomo, quali la sicurezza, la farmacodinamica e farmacocinetica, la definizione della giusta dose e l'efficacia come con le sostanze chimico farmaceutiche.

Saranno quindi necessari nuovi criteri per la definizione di protocolli di ricerca clinica che comprendano la revisione ed ottimizzazione della scelta dei pazienti, l'identificazione di biomarkers e test clinici idonei a fornire una “proof of concept” e la definizione dei meccanismi d'azione specifici delle bioterapie.

Dovranno essere definiti nuovi sistemi di farmacovigilanza, a lungo termine, che servano a monitorare anche possibili reazioni tardive. Piani di sorveglianza speciale e di risk management dovranno diventare parte integrante dei protocolli clinici. Per quanto sopra esposto si ritiene di grande importanza aggregare i ricercatori nel settore delle bioterapie

- per raccogliere le conoscenze ed esperienze cliniche già acquisite
- per partecipare alla realizzazione di nuove linee guida tecnico scientifiche specifiche (“first in man”)
- per programmare studi coordinati
- per organizzare eventi formativi

METODOLOGIA (max 50 righe)

- creazione di gruppi di lavoro per approfondire le conoscenze dei nuovi meccanismi d'azione
- stesura di linee guida per la conduzione di sperimentazioni cliniche con prodotti di bioterapia
- creazione di un data base per raccogliere i risultati ottenuti dai singoli centri
- creazione di un portale dedicato, che serva come punto di riferimento per reperire normative, linee guida e nuovi modelli e protocolli standard, di supporto a chi vuole pianificare e condurre sperimentazioni cliniche
- corsi di formazione mirati a divulgare le conoscenze regolatorie, metodologiche e scientifiche ai ricercatori
- organizzazione di convegni nel settore per scambi e acquisizioni nel campo specifico della ricerca

RISORSE UMANE

Personale dedicato alle attività del progetto (in mesi-uomo):

- | | |
|---|--|
| 1. tipologia: (interna/esterna) Interna
competenza: Biologo
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Dirigente di Ufficio
mesi-uomo dedicati: 3 |
| 2. tipologia: (interna/esterna) Esterna
competenza: Farmacista
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Stagista
mesi-uomo dedicati: 6 |
| 3. tipologia: (interna/esterna) Interna
competenza: Farmacista
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Dirigente
mesi-uomo dedicati: 9 |

COMPOSIZIONE DEI COSTI DELL'UNITÀ OPERATIVA

Voci di costo e breve descrizione

Totale
EURO

di cui a carico dei fondi ministeriali
EURO

1. Personale dipendente	35.000	NULLA

2. Personale a contratto/consulenza/borsa di studio	20.000	20.000,00

3. Missioni	_____	_____

4. Attrezzature (solo a noleggio o leasing):	_____	_____

5. Materiale di consumo	_____	_____

6. Pubblicazioni / organizzazione convegni, ecc.	_____	_____

7. Elaborazione dati (specificare)	_____	_____

8. Spese generali delle strutture coinvolte (specificare)	_____	_____

TOTALE	55.000	20.000

Curriculum Vitae del Responsabile Scientifico dell’Unità Operativa

(max 1 pagina)

(PERIODO DI RIFERIMENTO: ULTIMI 5 ANNI; INDICARE ANCHE LE 10 PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE RITENUTE PIÙ SIGNIFICATIVE, CON PARTICOLARE RIFERIMENTO A QUELLE DELL’AREA TEMATICA SCIENTIFICA SULLA QUALE INSISTE IL PROGETTO)

Dott.ssa Cristina Pintus

Nata a Viterbo il 18.1.53

Posizione attuale

Dirigente dell’ufficio Rapporti con l’EMEA e con le altre Agenzie dell’UE presso l’Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA) a Roma

Cronologia del curriculum vitae

1979	Laurea in Scienze Biologiche – Università degli Studi di Milano
1976 – 1980	Borsista presso l’Istituto Mario Negri, Milano
1980 – 1982	Research Visiting Fellow presso il National Cancer Institute di Bethesda, MD (USA)
1984 – 2003	Schering-Plough S.p.A., Milano
1984 – 1990	Monitor
1990 – 1991	Responsabile del Servizio di Farmacovigilanza
1991 – 1995	Quality Assurance Manager per GLP e GCP
1995 – 2003	Compliance & Clinical Quality Assurance Manager
2002 – 2003	International Compliance Manager

2003 - 2004 Dirigente di seconda fascia con l’incarico di consulenza, studio e ricerca presso la Direzione Generale dei Farmaci e dei Dispositivi Medici al Ministero della Salute per occuparmi principalmente delle problematiche relative alla sperimentazione clinica dei farmaci e alla farmacovigilanza negli studi clinici.

2005 ad oggi Dirigente dell’ufficio Rapporti con l’EMEA e con le altre agenzie dell’UE presso l’Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA).

Dal 2005 sono componente della Commissione per la valutazione dell’ammissibilità alla sperimentazione di fase I istituita presso l’ISS ai sensi dell’articolo 7 del DPR 21 settembre 2001, n.439.

Da settembre 2006 coordino il progetto “Terapie Avanzate” di AIFA-ISS-CNT e sono membro del Cell Based Products Working Group presso l’EMEA.

Affiliazioni –Pubblicazioni –Cconsulenze

1993 – 1997 Rappresentante italiana nella Federazione Europea di Quality Assurance (FERQAS).

1992 – 2002 Consigliere della Società di Scienze Farmacologiche Applicate (SSFA) e membro del gruppo di lavoro SSFA di Quality Assurance.

Oltre trenta pubblicazioni su riviste scientifiche italiane e straniere. Co-autrice di quattro libri sulla qualità nella ricerca clinica.

Dal 2000 incarichi di docenza universitaria presso le Università di Milano e di Pavia per Good Clinical Practice e Quality Assurance in ricerca clinica.

UNITÀ OPERATIVA 5: MONITORAGGIO DELLA RISPOSTA IMMUNOLOGICA ANTITUMORALE

Work Package 3. Costruzione di una rete per lo sviluppo e la standardizzazione di metodiche per il monitoraggio immunologico e l'identificazione di biomarcatori della risposta alla bioterapia dei tumori. (Responsabili: Paola Nisticò-Licia Rivoltini)

RESPONSABILE SCIENTIFICO: nominativo: **LICIA RIVOLTINI**

struttura di appartenenza : fondazione IRCCS Istituto Nazionale Tumori funzione: Direttore di Unità Operativa

indirizzo : Via G. Venezian 1, 20133 Milano

tel: 02.23903245 fax: 02.23902154

indirizzo E-mail: licia.rivoltini@istitutotumori.mi.it

RAPPRESENTANTE LEGALE: nominativo: STEFANO ZURRIDA

CONTRIBUTO SPECIFICO FORNITO AL PROGETTO (max 20 righe)

L'Unità di Immunoterapia dei Tumori Umani dell'Istituto Nazionale dei Tumori di Milano (INT) ha un'esperienza più che decennale nella conduzione di studi di vaccinazione ed immunoterapia dei tumori e nell'esecuzione del relativo monitoraggio immunologico, finalizzato ad identificare gli effetti determinati dal trattamento sul sistema immunitario e l'associazione di tali effetti con beneficio clinico per il paziente. L'unità, nell'ambito del presente progetto, mette a disposizione le proprie competenze, principalmente ma non esclusivamente all'interno del NIBIT, per fornire servizi ed organizzare attività mirate a: 1) standardizzare e validare le metodiche di monitoraggio immunologico nell'ambito delle bioterapie effettuate a livello nazionale; 2) promuovere il confronto costruttivo dei vari approcci utilizzati per tale monitoraggio, al fine di delineare specifiche linee guida; 3) mediante il coordinamento con le altre Unità del Progetto, favorire la formazione del personale dedicato agli studi immunologici di pazienti sottoposti a bioterapie. A tale scopo, ed in collaborazione con l'altra Unità Coordinatrice (Dr.ssa Nisticò), ci occuperemo di organizzare all'interno del NIBIT workshops a scadenza annuale, focalizzati sulla discussione dei risultati di monitoraggio ottenuti nel corso di protocolli di bioterapie basate su simili approcci di trattamento. Ciò permetterà di poter definire le strategie che più identificano risposte immunitarie associate ad un beneficio clinico, e di stilare specifiche linee guida e protocolli standardizzati. Verranno inoltre presentate e coordinate le offerte a livello della presente e delle altre Unità del Progetto, per brevi periodi di “training” di ricercatori o personale tecnico proveniente dai diversi centri presenti a livello nazionale che vogliano acquisire competenze specifiche nei diversi settori di “immune monitoring”. I centri all'interno del NIBIT e non potranno poi partecipare a dei “proficiency panels” per verificare l'uniformità e la riproducibilità delle varie tecniche di monitoraggio a livello nazionale. I risultati man mano ottenuti verranno condivisi su un sito dedicato (NIBIT) per un continuo confronto a livello del Network.

METODOLOGIA (MAX 50 RIGHE)

L'Unità INT ha negli ultimi anni, attraverso la partecipazione a networks internazionali (come il Cancer Vaccine Consortium del Sabin Institute, e la International Society of Biological Therapy), standardizzato e validato la metodica di Elispot per l'identificazione dei linfociti T effettori presenti a livello del sangue periferico o nei linfonodi drenanti di pazienti affetti da neoplasia e sottoposti a trattamenti di tipo immunologico. Tale metodica, che può soffrire di diverse variabili tecniche, risulta infatti efficace ed affidabile solo se effettuata da personale dedicato e formato. Le metodiche di Elispot permette di quantificare la frequenza di cellule secernenti citochine (quali IFN-gamma, TNF-alfa ed interleuchina 2) in risposta a stimoli specifici rappresentati dagli antigeni vaccinali, e da cellule tumorali autologhe o allogeniche HLA-compatibili.

Una seconda metodologia di monitoraggio in cui l'Unità INT ha acquisito negli anni una notevole esperienza è rappresentata dall'utilizzo di tetrametri HLA, complessi solubili che mimano il complesso antigenico somministrato mediante il trattamento vaccinale ed espresso sulle cellule tumorali del paziente. Attraverso un'analisi citofluorimetrica, la colorazione con tetrametri permette di identificare e di quantificare a livello del sangue periferico o nei linfonodi drenanti la frequenza di linfociti T CD8+ specifici per determinati antigeni tumorali. Tale metodica può essere associata a colorazioni per citochine intracellulari (quali IFN-gamma) o per molecole citotossiche (perforina, granzyme B, CD107a) che permettono di valutare anche lo stato funzionale dei linfociti identificati.

Indicazione sulla capacità litica dei linfociti attivati in vivo dal trattamento verrà inoltre ricercata mediante il test di mobilitazione del CD107a, una molecola lisosomiale espressa a livello dei granuli citotossici dei linfociti T e di altre cellule con funzione litica, che viene mobilitata in cellule in grado di distruggere mediante lisi la loro cellula bersaglio (quale ad esempio la cellula tumorale).

Verranno inoltre proposte tecniche di valutazione del profilo citochinico dei linfociti attivati dalla vaccinazione, di tipo multiparametrico, quali CBA, Luminex e Searchlight Array. Ciò permetterà di ottenere informazioni più complete riguardo il potenziale pro-infiammatorio delle sottopopolazioni immunitarie attivate dal trattamento, escludendo simultaneamente l'induzione di pathways soppressori.

Infine verranno considerate valutazioni fenotipiche e funzionali di cellule del sistema immunitario di tipo regolatorio-negativo (quali T reg e cellule mieloidi soppressorie), che recentemente sono state dal nostro gruppo e da altri identificate come in grado di limitare l'effetto immunizzante del trattamento immunologico o vaccinale. Dal momento che molti dei protocolli di

Alleanza Contro il Cancro (ACC) – Istituto Superiore di Sanità (ISS)

Art.3 DM 21 luglio 2006 - Programma Straordinario di Ricerca Oncologica 2006

Programma 2 “Integrazione delle attività di ricerca attraverso la costruzione di strutture e reti di collaborazione interistituzionali”

bioterapia attualmente includono la somministrazione di farmaci (quali la ciclofosfamide a basse dosi) potenzialmente attivi su questi subsets cellulari, verranno condivise tecniche in grado di fornire una quantificazione nonché una valutazione funzionale di tali cellule.

RISORSE UMANE

Personale dedicato alle attività del progetto (in mesi-uomo):

1.	tipologia: (interna/esterna): competenza (giurista; statistico; economista; medico; ..)	Interno Medico	qualifica: mesi-uomo dedicati	Dirigente Medico e Responsabile UO 6
2.	tipologia: (interna/esterna): competenza (giurista; statistico; economista; medico; ..)	Interno Biologo	qualifica: mesi-uomo dedicati	Dirigente Biologo 12
3.	tipologia: (interna/esterna): competenza (giurista; statistico; economista; medico; ..)	Interno Tecnico di laboratorio	qualifica: mesi-uomo dedicati	Tecnico strutturato 12
4.	tipologia: (interna/esterna): competenza (giurista; statistico; economista; medico; ..)	Interno Statistico	qualifica: mesi-uomo dedicati	Dirigente Medico 6
5.	tipologia: (interna/esterna): competenza (giurista; statistico; economista; medico; ..)	Interno Biologo	qualifica: mesi-uomo dedicati	Borsista 18

COMPOSIZIONE DEI COSTI DELL'UNITÀ OPERATIVA

<u>Voci di costo e breve descrizione</u>	<u>Totale</u> EURO	<u>di cui a carico dei fondi ministeriali</u> EURO
1. Personale dipendente <i>2 Dirigenti medici, 1 dirigenti biologo e 1 tecnico laboratorio</i>	180.000	NULLA
2. Personale a contratto/consulenza/borsa di studio <i>1 borsista biologo e 1 tecnico di laboratorio</i>	120.000	30.000
3. Missioni	0	0
4. Attrezzature (solo a noleggio o leasing):	0	0
5. Materiale di consumo <i>Materiale disposable, tetrameri, peptidi, anticorpi, radioattivo, kit ELISA, etc.</i>	45.000	20.000
6. Pubblicazioni / organizzazione convegni, ecc.	3.000	0
7. Elaborazione dati (specificare)	0	0
8. Spese generali delle strutture coinvolte (specificare)	0	0
TOTALE	348.000	50.000

Curriculum Vitae del Responsabile Scientifico dell'Unità Operativa

(max 1 pagina)

(PERIODO DI RIFERIMENTO: ULTIMI 5 ANNI; INDICARE ANCHE LE 10 PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE RITENUTE PIÙ SIGNIFICATIVE, CON PARTICOLARE RIFERIMENTO A QUELLE DELL'AREA TEMATICA SCIENTIFICA SULLA QUALE INSISTE IL PROGETTO)

Dott.ssa Licia Rivoltini

- 1986: Laurea in Medicina e Chirurgia
1989: Abilitazione alla professione di medico (Italia e Comunità Europea)
2000-2006: Dirigente Medico, Responsabile del Laboratorio di Monitoraggio Immunologico - Unità Operativa Immunoterapia dei Tumori Umani (Direttore: Dr G. Parmiani) - Istituto Nazionale Tumori, Milano
2007-oggi Responsabile UO Immunoterapia dei Tumori - Fondazione IRCCS Istituto Nazionale Tumori, Milano

Aree di interesse

- Analisi della potenziale correlazione tra suscettibilità alla lisi linfocitaria e chemioresistenza in cellule tumorali di diverso istotipo.- Valutazione dell'attività di "purging" midollare da parte di cellule LAK autologhe. - Studio sull'effetto dell'inoculo locale di IL-2 e cellule LAK sui linfonodi regionali di pazienti con tumore della testa e del collo.
- Studi sull'attività antitumorale di granulociti eosinofili dopo attivazione in vivo con IL-2. Studi clinici sull'efficacia terapeutica della somministrazione sottocutanea di IL-2 in pazienti con microcitoma. Valutazione dell'attività antitumorale in vivo di linfociti armati con anticorpi bispecifici in pazienti con carcinoma ovarico.
- Isolamento di cloni T CD4+ and CD8+ reattivi verso antigeni comuni espressi da cellule di melanoma. Caratterizzazione degli antigeni di melanoma riconosciuti da linfociti T helper CD4+. Identificazione dell'antigene di melanoma MART-1. Analisi dell'espressione HLA allelica in cloni di melanoma. Studio sull'immunogenicità di peptidi immunodominanti derivati dall'antigene MART-1 e caratterizzazione della risposta verso questo antigene in pazienti con melanoma rispetto a donatori sani. Valutazione dell'affinità di legame all'HLA e dell'immunogenicità di peptidi derivati da antigeni di melanoma, nel contesto di diversi sottotipi HLA-A2.
- Studi preclinici e clinici di vaccinoterapia con peptidi sintetici derivati da antigeni tumorali o con cellule di melanoma geneticamente modificate. Analisi degli analoghi naturali del peptide immunodominante MART-1(27-35) nella regolazione in vitro ed in vivo della risposta T anti-MART-1. Studio dei meccanismi di tumor immune escape, principalmente di quelli coinvolgenti le molecole pro-apoptiche Fas/FasL.

La dr.ssa Rivoltini è una esperta internazionale nel campo dell'immunologia dei tumori e da anni conduce ricerche in questo settore attraverso studi di base e clinici traslazionali.

Nel corso dei suoi studi, ha contribuito significativamente alla caratterizzazione della risposta del sistema immune contro antigeni di differenziazione del melanoma e ha poi collaborato in studi clinici di vaccinazioni in pazienti con melanoma e carcinoma del colon-retto metastatico, aprendo così la via a nuove e meno tossiche terapie del cancro. Da 5 anni la dr.ssa Rivoltini dirige il laboratorio di Monitoraggio Immunologico (dell'Unità di Immunoterapia dei tumori umani), organizzando il lavoro clinico e di ricerca di 10 collaboratori (tra tecnici e laureati). È autrice di oltre 100 pubblicazioni su riviste scientifiche internazionali, ricercatore responsabile per diversi progetti di ricerca finanziati da varie fonti, e revisore per riviste scientifiche quali Cancer Research, J. Immunology e Blood. È membro attivo dell'International Society of Biological Therapy.

Principali pubblicazioni 2002-2007

1. Belli et al. Vaccination of metastatic melanoma patients with autologous tumor-derived heat shock protein gp96-peptide complexes: clinical and immunologic findings. *J Clin Oncol.* 2002; 20,4169-80.
2. Andreola et al. Induction of lymphocyte apoptosis by tumor cell secretion of FasL-bearing microvesicles. *J Exp Med.* 2002; 195,1303-16.
3. Carrabba et al. Suboptimal activation of CD8(+) T cells by melanoma-derived altered peptide ligands: role of Melan-A/MART-1 optimized analogues. *Cancer Res.* 2003; 63,1560-7.
4. Mazzaferro et al. Vaccination with autologous tumor derived heat-shock protein gp96 after liver resection for metastatic colorectal cancer. *Clin. Cancer Res.* 2003;9,3235-45.
5. Rivoltini et al. Human tumor-derived Heat Shock Protein 96 mediates in vitro activation and in vivo expansion of melanoma and colon carcinoma-specific T cells. *J Immunol.* 2003;171,3467-74
6. Tosi et al. Role of cross-talk between IFN-alpha-induced monocyte-derived dendritic cells and NK cells in priming CD8+ T cell responses against human tumor antigens. *J Immunol.* 2004;172,5363-70.
7. Pilla et al. NK and NK-like T cell activation in colorectal carcinoma patients treated with autologous tumor-derived HSP96. *Cancer Res.* 2005;65,3942-9.
8. Huber et al. Human colorectal cancer cells induce t cell death through release of pro-apoptotic microvesicles: role in immune escape. *Gastroenterology* 2005;128,1796-804.

9. Valenti et al. Human tumor-released microvesicles promote the differentiation of myeloid cells with transforming growth factor-beta-mediated suppressive activity on T lymphocytes. *Cancer Res.* 2006;66,9290-8.
10. Di Pucchio et al. Immunization of stage IV melanoma patients with Melan-A/MART-1 and gp100 peptides plus IFN-alpha results in the activation of specific CD8(+) T cells and monocyte/dendritic cell precursors. *Cancer Res.* 2006: 66,4943-51.
11. Filipazzi et al. Identification of a new subset of myeloid suppressor cells in peripheral blood of melanoma patients and modulation by a GM-CSF-based anti-tumor vaccine. *J Clin Oncol*, in press, 2007.

UNITÀ OPERATIVA 6: MONITORAGGIO DELLA RISPOSTA IMMUNOLOGICA ANTITUMORALE

Work Package 3. Costruzione di una rete per lo sviluppo e la standardizzazione di metodiche per il monitoraggio immunologico e l'identificazione di biomarcatori della risposta alla bioterapia dei tumori. (Responsabili: Paola Nisticò-Licia Rivoltini)

RESPONSABILE SCIENTIFICO: nominativo: **PAOLA NISTICO'**

struttura di appartenenza : Istituto Regina Elena – Laboratorio Immunologia funzione: Group Leader

indirizzo : Via delle Messi D'Oro 156, 00158 Roma

N. tel: +39-06-52662539-2527

N. fax: +39-06-52662600

indirizzo E-mail: nistico@ifo.it

RAPPRESENTANTE LEGALE: nominativo: Dr. MARINO NONIS

CONTRIBUTO SPECIFICO FORNITO AL PROGETTO (max 20 righe)

Questa Unità operativa, in collaborazione con l'Unità Coordinata dalla Dr.ssa Rivoltini, ha quale obiettivo principale quello di contribuire alla formazione di una rete di collaborazione tra vari Istituti e il NIBIT. La rete ha lo scopo grazie alle competenze specifiche e all'esperienza dei gruppi coordinati, di standardizzare e implementare metodiche di monitoraggio immunologico nel sangue periferico, nei linfonodi e ,quando possibile , nel tessuto tumorale di pazienti per valutare gli effetti di bioterapie sul sistema immunitario dell'ospite, sempre in relazione all'efficacia terapeutica. Le unità coordinatrici (Rivoltini/Nisticò) valuteranno metodologie già impiegate sul territorio nazionale e implementeranno le tecniche di monitoraggio immunologico con nuovi approcci metodologici. Questa unità si occuperà, in particolare, di implementare la tecnica di ELISPOT computer-assistito per la quale ha già maturato una discreta esperienza e di affinare le tecniche di caratterizzazione dell'infiltrato tumorale mediante tecniche di immunoistochimica e di micro laser capture assay.

L'organizzazione di workshops annuali all'interno del NIBIT, permetterà di stilare delle linee guida che potranno essere di grande utilità per una corretta valutazione della risposta immunitaria dell'ospite al fine di giungere alla comprensione dei meccanismi e del ruolo del sistema immunitario dell'ospite per modularne l'efficacia anti-tumorale.

Considerando la dinamica reciprocità di interazione tra il sistema immunitario, il microambiente tumorale e le cellule tumorali, queste Unità operative si propongono anche di definire nuove metodologie di valutazione “in situ” della componente linfocitaria infiltrante il tumore.

I risultati ottenuti nell'ambito della continua interazione tra i vari centri coinvolti e saranno condivisi in rete su un sito che verrà creato dal NIBIT e che permetterà una continua comunicazione necessaria sul territorio nazionale per una sempre maggiore conoscenza dei meccanismi coinvolti nella risposta immunitaria in pazienti neoplastici

METODOLOGIA (max 50 righe)

Nella nostra unità operativa abbiamo standardizzato metodologie che definiscono criteri di raccolta di campioni biologici che comprendono, quando possibile, tessuti, plasma, linfociti di pazienti arruolati in diversi trials clinici di bioterapia. Una banca di tessuti congelati, il plasma e i linfociti autologhi rappresentano una grande risorsa per la comprensione dei meccanismi coinvolti nella interazione tumore/sistema immunitario dell'ospite. Da qui la necessità di correlare la risposta immunitaria valutata nel sangue periferico, con un'ampia caratterizzazione del tumore e del suo infiltrato linfocitario, mediante tecniche di immunoistochimica e di micro laser capture assay.

In riferimento a metodologie di monitoraggio di linfociti del sangue periferico abbiamo standardizzato, in collaborazione anche con centri internazionali quali il Ludwig Cancer Center la metodologia dell'ELISPOT/Computer assistito che, anche se di relativa semplicità di esecuzione, necessita di una elevata professionalità considerate le diverse variabili tecniche che possono influenzare la validità del test.

Il test di ELISPOT per la produzione di diverse citochine, in particolare la più frequentemente valutata l'IFN- γ , è già stato ampiamente standardizzato e verrà effettuato sia in linfociti CD8+ isolati ex vivo dal sangue periferico che in linfociti stimolati per un breve periodo in vitro. Inoltre saggi di inibizione con anticorpi anti-HLA di classe I completeranno la valutazione della restrizione HLA dei linfociti. La lettura degli spots specifici viene valutata mediante sistema KS Elispot Zeiss.

In parallelo a tale metodologia il laboratorio ha inoltre standardizzato e valutato la colorazione con molecole tetrameriche HLA-A2, che impieghino il complesso antigenico utilizzato per la vaccino terapia. Tale analisi sarà effettuata sulla popolazione CD8+ purificata ex-vivo mediante metodi immunomagnetici da PBMC isolati da sangue periferico e non sottoposti ad alcuna manipolazione *in vitro*. Tale metodologia permette di discriminare la popolazione di linfociti T CD8+ peptide-specifica offrendo un'analisi quantitativa di altissima specificità e purezza, oltre che una facile esecuzione e un rapido risultato. Inoltre, misurando la capacità di associazione/dissociazione della popolazione tetramero-specifica alla molecola

tetramerica, sarà possibile definire anche l’affinità e l’avidità di tale popolazione nei confronti dello specifico antigene tumorale.

Tale Unità Operativa inoltre si propone di standardizzare nuove metodologie che permettono mediante tecniche di micro laser capture assay la valutazione della attività funzionale di cellule infiltranti il tumore primitivo di pazienti con una potenziale elegibilità a trattamenti bioterapeutici.

Il nostro laboratorio potrà essere il riferimento nella rete per la divulgazione/insegnamento teorico e pratico delle metodologie sopra descritte ospitando personale dei vari centri nazionali che necessitino di specifico training e si farà carico con l’unità coordinatrice Dr.ssa Rivoltini di organizzare Workshops per la formazione di personale e la divulgazione dei dati

RISORSE UMANE

Personale dedicato alle attività del progetto (in mesi-uomo):

- | | |
|--|---|
| 1. tipologia: (interna/esterna) interna
competenza: Medico
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Dirigente I Livello
mesi-uomo dedicati: 6 |
| 2. tipologia: (interna/esterna) interna
competenza: Biologo
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Dirigente I Livello
mesi-uomo dedicati: 6 |
| 3. tipologia: (interna/esterna) interna
competenza: Biologo
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Contrattista
mesi-uomo dedicati: 12 |
| 4. tipologia: (interna/esterna) interna
competenza: Tecnico
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Contrattista
mesi-uomo dedicati: 6 |
| 5. tipologia: (interna/esterna) interna
competenza: Tecnico
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Contrattista
mesi-uomo dedicati: 12 |

COMPOSIZIONE DEI COSTI DELL'UNITÀ OPERATIVA

<u>Voci di costo e breve descrizione</u>	<u>Totale</u> EURO	<u>di cui a carico dei fondi ministeriali</u> EURO
1. Personale dipendente <i>2 dirigenti medici, 1 dirigente biologo</i>	110.000,00	NULLA
2. Personale a contratto/consulenza/borsa di studio <i>4 collaboratori</i>	80.000,00	36.000,00
3. Missioni	2.000,00	2.000,00
4. Attrezzature (solo a noleggio o leasing):	_____	_____
5. Materiale di consumo	30.000,00	10.000,00
6. Pubblicazioni / organizzazione convegni, ecc.	2.000,00	2.000,00
7. Elaborazione dati (specificare)	_____	_____
8. Spese generali delle strutture coinvolte (specificare)	_____	_____
TOTALE	224.000,00	50.000,00

Curriculum Vitae del Responsabile Scientifico dell’Unità Operativa

(max 1 pagina)

(PERIODO DI RIFERIMENTO: ULTIMI 5 ANNI; INDICARE ANCHE LE 10 PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE RITENUTE PIÙ SIGNIFICATIVE, CON PARTICOLARE RIFERIMENTO A QUELLE DELL’AREA TEMATICA SCIENTIFICA SULLA QUALE INSISTE IL PROGETTO)

CURRICULUM VITAE

Name **PAOLA NISTICO'**
 Date and place of birth 30/07/1958 Catanzaro
 Position Senior Researcher
 Doctoral Degree Medical Doctor
 Date of Doctoral Degree 30/3/1983

EDUCATION AND TRAINING (INCLUDE DEGREES AND POST-DOCTORAL TRAINING)

YEARS	INSTITUTION AND LOCATION	DEGREE	FIELD OF STUDY
1976-83	University of Rome “La Sapienza”	MD summa cum laude	Medicine
1981-83	Regina Elena Cancer Institute	Intern Student	Tumor Immunology
1983-86	Regina Elena Cancer Institute	Research Fellows	Tumor Immunology
1984	Memorial Sloan Kettering New York, Dept. of Pathology	Visiting Scientist	Tumor Immunopathology Pathology
1985-89	University of Parma	Postgrad. Degree	Tumor Immunology
1986-to date	Regina Elena Cancer Institute Immunology Laboratory	Senior Researcher	
1987	University of Torino Laboratory Cell Biology	Guest Researcher	Production of bispecific monoclonal antibodies Tumor Immunology and
1995	University of Mainz Medizinische Klinik und Poliklinik Johannes Gutenberg	Guest Researcher	ELISPOT assay SEREX approach in breast cancer
1999	Ludwig Cancer Institute at Memorial Sloan Kettering, New York	Guest Researcher	

RESEARCH AND PROFESSIONAL EXPERIENCE:

1981-83 Intern, Immunology Laboratory. Regina Elena Cancer Institute, Rome.
 1983 Guest Researcher, Immunology Lab., Regina Elena Cancer Institute, Rome
 1983-86 Research Fellowship, Immunology Lab., Regina Elena Cancer Institute, Rome.
 1983 Visiting Scientist, Department of Pathology, Memorial Sloan Kettering, New York, N.Y., USA.
 1987-to date Senior Researcher, Dept. Of Experimental Research, Regina Elena Cancer Institute, Rome
 1995 Visiting Scientist, Medizinische Klinik und Poliklinik, Johannes Gutenberg- Univ., Mainz, Germany
 1999 Visiting Scientist, Ludwig Institute for Cancer Research at Memorial Sloan- Kettering, New York.

AWARDS:

1993 Awarded SIC, Italian Society of Cancer Research

EDITORIAL

J.

BOARD:
 Immunotherapy

PROFESSIONAL SOCIETIES:

Network Italiano per la Bioterapia dei Tumori (NIBIT)
 Italian Society of Cancerology (SIC)
 Society of Immunology (SI)
 American Association for Cancer Research (AACR)
 Participant and contributor of the SEREX Program of the Ludwig Cancer Institute

1. Nistico' P, Natali PG, Palermo B, Del Bello D, Imberti L, Ferraresi V, Cognetti F, Ciccarese M, Vercillo G, Valentini M, Bracci L, Moschella F, Aricò E, Marincola F, Roselli M, Fossile E, Belardelli F, Capone I, Proietti E. Immune adjuvant activity of dacarbazine on the antitumor CD8+ T cell response in melanoma patients treated with a peptide-based vaccine. Submitted.
2. Di Modugno F, DeMonte L, Balsamo M, Bronzi G, Nicotra MR, Alessio M, Jager E, Condeelis JS, Santoni A, Natali PG and Nisticò P. *Cancer Research*, 67(6), 2007.
3. Di Modugno F, Mottolese M, Di Benedetto a, Conidi A, Novelli F, Perracchio L, Venturo I, Botti Jager E, Santoni A, Natali PG, Nisticò P. *Clin. Cancer Res.*, 12(5), 2006.
4. Di Modugno F, Bronzi G, Scanlan MJ, Del Bello D, Cascioli S, Venturo I, Botti C, Nicotra MR, Mottolese M, Natali PG, Santoni A, Jager E, Nisticò P. *Int. J. Cancer*, 109: 909-918, 2004.
5. Di Modugno F, Buglioni S, Mottolese M, Del Bello D, Cascioli S, Chersi A, Santoni A, Nisticò P. *J. Immunother.*, 24: 221-231, 2001.

UNITÀ OPERATIVA 7: ANALISI MULTIPARAMETRICA DELLA RISPOSTA ANTITUMORALE

Work Package 3. Costruzione di una rete per lo sviluppo e la standardizzazione di metodiche per il monitoraggio immunologico e l'identificazione di biomarcatori della risposta alla bioterapia dei tumori. (Responsabili: Paola Nisticò-Licia Rivoltini)

RESPONSABILE SCIENTIFICO: nominativo: **DOTT.SSA MARIA RESCIGNO**

struttura di appartenenza : Istituto Europeo di Oncologia funzione: Group Leader

indirizzo :Via Ripamonti, 435 - 20141 Milano

N. tel: 02/57489925 N. fax: 02/57489851

indirizzo E-mail: maria.rescigno@ifom-ieo-campus.it

RAPPRESENTANTE LEGALE: nominativo: DOTT. CARLO CIANI

CONTRIBUTO SPECIFICO FORNITO AL PROGETTO (max 20 righe)

L' utilizzo delle bioterapie nella pratica standard è estremamente costoso e rischia di piegare il sistema sanitario nazionale. Inoltre, se l'effetto della chemioterapia può essere monitorato in tempi brevi perché è pressoché immediato, possono passare anche diversi mesi per avere una prova tangibile dell'efficacia della bioterapia. E' quindi necessario sviluppare degli strumenti di monitoraggio che permettano di valutare in tempi brevi l'efficacia della bioterapia. Questo permetterebbe di decidere se e' vantaggioso per il paziente (ed anche per il SSN) di continuare il trattamento o di procedere ad una strategia alternativa.

A tale scopo, l'attività di questa unità sarà finalizzata alla standardizzazione dell'analisi multiparametrica che valuta simultaneamente la presenza di linfociti e anticorpi tumore-specifici e la presenza di citochine circolanti. L'interazione con gli altri IRCCs sarà necessaria per ottenere un'uniformità di monitoraggio e per confrontare l'efficacia dei vari approcci sperimentali.

METODOLOGIA (MAX 50 RIGHE)

In questa Unità Operativa stiamo mettendo a punto diversi sistemi di monitoraggio che permettano di valutare l'efficacia di vari approcci di immunoterapia.

1. Analisi multiparametrica. Nell'analisi multiparametrica diversi parametri sono considerati per lo stesso paziente. Presenza di linfociti e anticorpi tumore-specifici circolanti e citochine. Le tecniche sono quelle standard (tetrameri, staining intracellulare, Elisa).
2. Analisi di cellule T tumore-specifiche in situ. L'analisi si può effettuare sia su tessuto tumorale che su biopsia di DTH (ipersensibilità di tipo ritardato). Il tessuto deve essere congelato non appena exciso in OCT a conservato a -80° C fino all'utilizzo. Le sezioni di 5um di spessore sono ottenute mediante taglio al criostato. Le sezioni sono fissate in paraformaldeide al 3% e poi si procede al bloccaggio mediante PBS-BSA 3%. La presenza di linfociti T tumore specifici viene evidenziata mediante analisi con tetrameri coniugati a fluorocromi caricati con i peptidi di interesse. Il legame avviene a 4 C per tempi variabili, da 1 ora a overnight. La presenza di cellule positive per il segnale di fluorescenza correla con un'infiltrato linfocitario tumore specifico.
3. Screening di anticorpi per monitoraggio. Nel nostro istituto sono state generate delle librerie fagiche di anticorpi a singolo dominio VHH a partire dal lama. La caratteristica e' che questi anticorpi sono di dimensioni molto ridotte e permettono diversi tipi di manipolazione (mutazione per affinità, legame con molecole radioattive). Mediante una semplice selezione della libreria con cellule di interesse e' possibile identificare anticorpi specifici per una determinata popolazione cellulare. Con questi anticorpi sarà possibile seguire la presenza anche di un numero molto limitato di cellule tumorali nel sangue ed in altri distretti tissutali.

RISORSE UMANE

Personale dedicato alle attività del progetto (in mesi-uomo):

- | | |
|---|--|
| 1. tipologia: (interna/esterna) interna
competenza: Biologo
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Group Leader

mesi-uomo dedicati: 3 |
| 2. tipologia: (interna/esterna) interna
competenza: Biologo
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Borsista

mesi-uomo dedicati: 12 |
| 3. tipologia: (interna/esterna) interna
competenza: Tecnico di Laboratorio
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Tecnico

mesi-uomo dedicati: 12 |

COMPOSIZIONE DEI COSTI DELL'UNITÀ OPERATIVA

<u>Voci di costo e breve descrizione</u>	<u>Totale</u> EURO	<u>di cui a carico dei fondi ministeriali</u> EURO
1. Personale dipendente	45.000	NULLA
2. Personale a contratto/consulenza/borsa di studio	51.000	15.000
3. Missioni	0	0
4. Attrezzature (solo a noleggio o leasing):	0	0
5. Materiale di consumo <i>Materiale disposable, anticorpi, kits PCR, terreni di coltura etc.</i>	40.000	12.000
6. Pubblicazioni / organizzazione convegni, ecc.	0	0
7. Elaborazione dati (specificare)	0	0
8. Spese generali delle strutture coinvolte (specificare)	3000	3000
TOTALE	139.000	30.000

Curriculum Vitae del Responsabile Scientifico dell'Unità Operativa

(max 1 pagina)

(PERIODO DI RIFERIMENTO: ULTIMI 5 ANNI; INDICARE ANCHE LE 10 PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE RITENUTE PIÙ SIGNIFICATIVE, CON PARTICOLARE RIFERIMENTO A QUELLE DELL'AREA TEMATICA SCIENTIFICA SULLA QUALE INSISTE IL PROGETTO)

Dott.ssa Maria Rescigno

Nata a Napoli il 1° febbraio 1968

2000: SAB Scuola di specialità in biotecnologie, Università di Milano, votazione 50/50 cum laude.

1999: PhD Farmacologia e Tossicologia, Università di Milano, giudizio: eccellente.

1994: Abilitazione alla professione di Biologo

1990: Laurea in Biologia, Università di Milano, votazione 110/110 cum laude.

Attività scientifica

2001-oggi : Istituto Europeo di Oncologia: Direttore dell'unità 8 di Oncologia Sperimentale.

Oct 1999-2001: Università degli studi di Milano-Bicocca : Post-doctoral fellow

Oct 1995-1999: CNR, Consiglio Nazionale delle Ricerche: Dottorato di Ricerca in Farmacologia e Tossicologia

Oct 1993-1995: CNR, Consiglio Nazionale delle Ricerche: SAB, Scuola di Applicazioni in Biotecnologie

Oct 1991-1993: University of Cambridge, U.K Post-doctoral Fellow Department of Biochemistry,

Oct 1990-1991: Università di Milano: "Tirocinio pratico per l'esercizio della professione del Biologo"

Oct 1989-1990: Università di Milano: Sviluppo della tesi di Laurea.

Interesse di ricerca attuale

L'attività di ricerca della nostra unità operativa è focalizzata sullo sviluppo di nuovi approcci immunoterapici antitumorali aventi come bersaglio le cellule dendritiche sia in vitro che in vivo.

Pubblicazioni

1. Rescigno M., Urbano M., Valzasina B, Francolini M., Bonasio R., Kraehenbuhl JP, Granucci F, Ricciardi-Castagnoli P. Dendritic cells express occludin, establish junctions with gut epithelial cells and sample bacteria preserving epithelial barrier integrity. (2001) Nat Immunol. 2:361-367.
2. Rescigno, M., B. Valzasina, R. Bonasio, M. Urbano, and P. Ricciardi-Castagnoli. Dendritic cells loaded with recombinant bacteria expressing tumor antigens induce a protective tumor-specific response. (2001) Clinical Cancer Research., 7:865-870.
3. Rotta G., Edwards EW, Sangaletti S., Bennett C., Ronzoni S., Colombo M.P., Steinman RM, Randolph G.J., and Rescigno M. Lipopolysaccharide or whole bacteria block the conversion of inflammatory monocytes into dendritic cells in vivo. (2003) J Exp Med. 198:1253-63.
4. B. Kelsall and Rescigno M. Mucosal Dendritic Cells in Immunity and Inflammation (2004) Nat Immunol. 5:1091-1095
5. Avogadri F, Martinoli C, Petrovska L, Chiodoni C, Transidico P, Colombo MP, Dougan G, Rescigno M Cancer immunotherapy based on killing of Salmonella-infected tumour cells (2005) Cancer Res. 65:3920-7
6. Rimoldi, M., Chieppa, M., Vulcano, M., Allavena, P., Rescigno, M. Dendritic cells activated by bacteria or by bacteria-stimulated epithelial cells are functionally different. (2005) Blood. Jul 19; [Epub ahead of print]
7. Rescigno M, Chieppa M. Gut-level decisions in peace and war. (2005) Nat Med. 11:254-5.
8. Lucignani G, Rescigno M. The role of molecular imaging in the development of dendritic cell-based cancer vaccines. (2005) Eur J Nucl Med Mol Imaging. 32:725-30.
9. Rimoldi, M., Chieppa, M., Salucci, V., Sonzogni, A., Nespoli, A., Viale, G., Allavena, P., Rescigno, M. Intestinal immune homeostasis is regulated by the cross-talk between epithelial cells and dendritic cells. (2005) Nat Immunol. 6:507-14.
10. Lucignani G, Ottobrini L, Martelli C, Rescigno M, Clerici M. Molecular imaging of cell-mediated cancer immunotherapy. (2006) Trends Biotechnol. 24(9):410-8

UNITÀ OPERATIVA 8: ANALISI MOLECOLARE DELLA RISPOSTA ANTITUMORALE

Work Package 3. Costruzione di una rete per lo sviluppo e la standardizzazione di metodiche per il monitoraggio immunologico e l'identificazione di biomarcatori della risposta alla bioterapia dei tumori. (Responsabili: Paola Nisticò-Licia Rivoltini)

RESPONSABILE SCIENTIFICO: nominativo: **DOTT. ENRICO PROIETTI**

struttura di appartenenza : ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ funzione: DIRIGENTE DI RICERCA

indirizzo : VIALE REGINA ELENA 299 00161 ROMA

N. tel: 06 4990 3356

N. fax:06-49903641

indirizzo E-mail: enrico.proietti@iss.it

RAPPRESENTANTE LEGALE: nominativo: PROF. ENRICO GARACI

CONTRIBUTO SPECIFICO FORNITO AL PROGETTO (max 20 righe)

Questa unità operativa si propone di contribuire alla standardizzazione di metodi molecolari, con particolare riferimento alla real-time PCR, per la valutazione delle risposte alle bioterapie dei tumori e dei biomarcatori.

La real-time PCR è una metodologia ampiamente utilizzata per l'identificazione di marcatori predittivi della risposta biologica e clinica alle bioterapie. E' una tecnica di facile esecuzione, ad alta prestazione che combina elevata sensibilità, specificità e accuratezza nella quantificazione dell'espressione genica anche con quantità molto limitate di materiale di partenza. Tra le sue applicazioni in clinica figurano ad esempio l'analisi dell'espressione degli antigeni tumorali su biopsie che prelevano quantità minime di tessuto (fine needle aspirates) non sufficienti per l'applicazione di metodiche convenzionali; l'individuazione di cellule tumorali circolanti nel sangue di pazienti oncologici, che consente il monitoraggio della malattia residua minima e la valutazione della progressione tumorale. La real-time PCR permette inoltre la valutazione dell'espressione di geni indicativi dell'attivazione di una risposta immune antitumorale efficace (citochine indicative di risposte Th1) ovvero di marcatori di una risposta soppressiva (Foxp3). Numerose variabili sperimentali possono tuttavia inficiare l'attendibilità e la riproducibilità dei risultati; inoltre, l'evoluzione della tecnologia ha consentito l'introduzione di diversi reagenti, strumentazioni e metodi di analisi che rendono difficile paragonare i risultati ottenuti in diversi laboratori. L'obiettivo di questa unità operativa è quello di promuovere un confronto fra diversi laboratori per ottenere una standardizzazione delle modalità di prelievo e conservazione del sangue e dei tessuti, della preparazione dell'RNA, una definizione delle condizioni sperimentali migliori della reazione di amplificazione e delle modalità di analisi dei risultati.

METODOLOGIA (MAX 50 RIGHE)

Ricognizione dei laboratori che utilizzano real-time PCR per il monitoraggio delle bioterapie avanzate nel cancro.

La promozione dello scambio di informazioni tra diversi laboratori prevede innanzitutto l'identificazione dei laboratori competenti a stabilire gli elementi critici da sottoporre a confronto ed i criteri comuni da adottare.

Identificazione dei punti critici nella esecuzione della real-time PCR

Per ottenere dati quantitativi affidabili e riproducibili, diversi sono i punti che richiedono una standardizzazione di metodiche; tra questi la definizione di procedure operative per la raccolta e conservazione ottimale dei campioni biologici che minimizzi la probabilità che i risultati ottenuti siano compromessi da una non accurata manipolazione. I profili di espressione genica dei PBMC possono essere, infatti, significativamente alterati durante le fasi successive al prelievo a causa sia della rapida degradazione dell'RNA sia dall'induzione *ex vivo* di numerosi geni. Per quanto riguarda l'analisi di tessuti, è importante minimizzare il tempo che intercorre tra l'asportazione chirurgica del tessuto ed il suo congelamento ed utilizzare reagenti in grado di limitare la degradazione dell'RNA. Occorre quindi creare una stretta collaborazione tra clinici e ricercatori che permetta la standardizzazione di un valido metodo per la stabilizzazione dei campioni dopo il prelievo. L'isolamento dell'RNA totale da quantità piccole di tessuto è difficile e inefficiente utilizzando i metodi tradizionali; è necessario quindi un confronto dei diversi kit disponibili in commercio per l'identificazione del metodo che permetta l'estrazione di RNA con massime rese. L'innesco della reazione di retroscrittura può essere effettuato utilizzando diverse sonde, random primers, oligo(dT), o primers specifici per il gene di interesse. La scelta della sonda può causare marcate variazioni nel numero di copie di mRNA misurate e rendere non comparabili i risultati ottenuti con i differenti metodi. Inoltre, la scelta dei primers da utilizzare per l'amplificazione deve essere eseguita secondo regole che assicurino la specificità, la sensibilità e l'efficienza di reazione. Per poter paragonare risultati ottenuti in diversi laboratori, è auspicabile ottenere un consenso sui primers e sulle condizioni di reazione ottimali per ciascun gene di interesse e creare un database che consenta ai diversi laboratori di utilizzare reagenti e protocolli standardizzati. Per quanto riguarda l'analisi dei risultati ottenuti, fondamentale è l'identificazione di un

valido riferimento da usare per la normalizzazione dei dati. Il gene più comunemente utilizzato per la normalizzazione è GAPDH; tuttavia è stato recentemente dimostrato che i livelli di mRNA per GAPDH non sono costanti in tutti i tessuti, è necessario quindi identificare per ciascun tessuto da analizzare il normalizzatore, o il pannello di normalizzatori, più appropriato.

Promozione dello scambio di informazioni e del confronto tra gruppi di ricerca

Per poter discutere i diversi punti sin qui indicati questa unità operativa si propone di promuovere incontri informali, che coinvolgano sia gli sperimentatori che i clinici; di istituire dei forum di discussione su internet che permettano lo scambio di protocolli tra i diversi laboratori; di organizzare workshops che permettano di confrontare le metodiche utilizzate nei diversi laboratori e di dettare le linee guida da seguire per una analisi standardizzata. Infine si propone di realizzare un database dei primers da utilizzare per ciascun gene di interesse e dei geni housekeeping più appropriati per ciascun tessuto.

RISORSE UMANE

Personale dedicato alle attività del progetto (in mesi-uomo):

- | | |
|--|---|
| 1. tipologia: (interna/esterna) Interno
competenza: Medico
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Dirig. di Ric., Dir. Di Reparto

mesi-uomo dedicati: 6 |
| 2. tipologia: (interna/esterna) Interno
competenza: Biologo
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Ricercatore

mesi-uomo dedicati: 9 |
| 3. tipologia: (interna/esterna) Interno
competenza: Biologo
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Ricercatore

mesi-uomo dedicati: 9 |
| 4. tipologia: (interna/esterna) Interno
competenza: Biologo
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Ricercatore

mesi-uomo dedicati: 9 |

COMPOSIZIONE DEI COSTI DELL'UNITÀ OPERATIVA

<u>Voci di costo e breve descrizione</u>	<u>Totale</u> EURO	<u>di cui a carico dei fondi ministeriali</u> EURO
1. Personale dipendente <i>2 Dirigenti medici, 1 dirigenti biologo e 1 tecnico laboratorio</i>	97.000	NULLA
2. Personale a contratto/consulenza/borsa di studio <i>2 borsisti biologi e 1 tecnico di laboratorio</i>	0	0
3. Missioni	6.000	6.000
4. Attrezzature (solo a noleggio o leasing):	0	0
5. Materiale di consumo <i>Materiale disposable, tetrameri, peptidi, anticorpi, radioattivo, kit ELISA, etc.</i>	26.000	23.000
6. Pubblicazioni / organizzazione convegni, ecc.	1.000	1.000
7. Elaborazione dati (specificare)	0	0
8. Spese generali delle strutture coinvolte (specificare)	0	0
TOTALE	130.000	30.000

Curriculum Vitae del Responsabile Scientifico dell'Unità Operativa (max 1 pagina)

(PERIODO DI RIFERIMENTO: ULTIMI 5 ANNI; INDICARE ANCHE LE 10 PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE RITENUTE PIÙ SIGNIFICATIVE, CON PARTICOLARE RIFERIMENTO A QUELLE DELL'AREA TEMATICA SCIENTIFICA SULLA QUALE INSISTE IL PROGETTO)

Dott. Enrico Proietti

Nato a Roma il 9 Aprile 1953

1978: Università di Roma “La Sapienza” Laurea in Medicina e Chirurgia (con lode)

1981: Università di Roma “La Sapienza” Specializzazione in Immunologia Clinica

1991: Università di Roma “La Sapienza” Specializzazione in Oncologia Medica

Formazione e incarichi

1982 Nomina a ricercatore di ruolo presso il Laboratorio di Virologia dell'Istituto Superiore di Sanità.

1990 Incarico di direttore del reparto “Infezioni virali dell'apparato respiratorio” del Laboratorio di Virologia dell'Istituto Superiore di Sanità (incarico mantenuto fino al 1995)

1992 Nomina a Primo Ricercatore presso il Laboratorio di Virologia dell'Istituto Superiore di Sanità

2000 Nomina a Dirigente di Ricerca presso il Laboratorio di Virologia dell'Istituto Superiore di Sanità

2004 Incarico di direttore del reparto di “Immunoregolazione” del Dipartimento di Biologia Cellulare e Neuroscienze dell'Istituto Superiore di Sanità

Formazione all'estero

1988-1990 Permanenza presso il Laboratorio di Oncologia Virale (CNRS UPR 274) a Villejuif (Parigi), diretto dal prof. Ion Gresser. Il soggiorno è stato finanziato grazie a una borsa di studio CNR/NATO e ad una borsa di studio della Fondation pour la Recherche Médicale.

Esperienza lavorativa

Dal 1991 ad oggi è stato responsabile di diverse linee e progetti di ricerca tra cui:

“Sviluppo di nuove strategie di immunoterapia e terapie combinate contro i tumori” promosso dal Ministero della Sanità, nell'ambito del piano di ricerca finalizzata 2002, (coordinatore).

Attualmente svolge attività di ricerca e come esperto per la farmacotossicologia e il protocollo clinico per la commissione mista (Min. Salute-ISS) per la autorizzazione degli studi clinici di terapia genica e cellulare

Principali pubblicazioni attinenti l'area di interesse del progetto

1. Nistico P., **E. Proietti** et al. Dacarbazine treatment enhances vaccine-mediated antitumor immunity in melanoma patients. Submitted for publication.
2. Bracci L., Moschella F., **Proietti E.** et al. Cyclophosphamide enhances the antitumor efficacy of adoptively transferred immune cells through the induction of cytokine expression, B and T cell homeostatic proliferation and specific tumor infiltration. 2007. Clin Cancer Res. 13: 644-53.
3. Schiavoni, **Proietti, E.** et al. Type I IFN protects permissive macrophages from *Legionella pneumophila* infection through an IFN-gamma-independent pathway. 2004, Journal of Immunology, 173: 1266-1275.
4. **Proietti E.**, et al. Type I Interferon as a natural adjuvant for a protective immune response: lessons from the influenza vaccine model. 2002, Journal of Immunology, 169: 375-383.
5. Belardelli F, **Proietti E.**, et al. Interferon-alpha in tumor immunity and immunotherapy. 2002, Cytokine Growth Factor Rev. 13: 119-34.
6. Gallo D., **Proietti E.**, et al. Anti-tumour activity of a panel of taxanes toward a cellular model of human cervical cancer. 2000, Cancer Chemotherapy and Pharmacology, 45: 127-132.
7. Schiavoni G **E. Proietti** et al. Cyclophosphamide induces type I interferon and augments the number of CD44^{hi} T lymphocytes in mice: implications for strategies of chemoimmunotherapy of cancer. 2000, Blood, 95: 2024-2030.
8. Rozera C., **E. Proietti.**, et al. Murine IFN- α - β gene -transduced ESb tumor cells rejected by host-mediated mechanisms despite the resistance of the parental tumor to IFN- α / β therapy. 1999, Cancer Gene Therapy 3: 246-253.
9. Belardelli F, **E. Proietti.**, et al. The induction of in vivo proliferation of long-lived CD44^{hi} CD8⁺ T cells after the injection of tumor cells expressing IFN-alpha1 into syngeneic mice. 1998, Cancer Res. 58, 5795-5802.
10. **Proietti E.**, et al. Importance of cyclophosphamide-induced bystander effect on T cells for a successful tumor eradication in response to adoptive immunotherapy in mice. 1998, J. Clinical Investigation, 101, 429-441.

UNITÀ OPERATIVA 9: ANALISI MULTIPARAMETRICA DELLA RISPOSTA ANTITUMORALE

Work Package 3. Costruzione di una rete per lo sviluppo e la standardizzazione di metodiche per il monitoraggio immunologico e l'identificazione di biomarcatori della risposta alla bioterapia dei tumori. (Responsabili: Paola Nisticò-Licia Rivoltini)

RESPONSABILE SCIENTIFICO: nominativo: **DOTT.SSA MARIA PIA PROTTI**

struttura di appartenenza : Fondazione Centro San Raffaele del Monte Tabor, Milano

funzione: Responsabili di Unità di Ricerca

indirizzo: via Olgettina 58, 20132 Milano

N. tel: + 02-2643.4185

N. fax: 02-2643.4786

indirizzo E-mail: m.protti@hsr.it

RAPPRESENTANTE LEGALE: nominativo: **DOTT. RENATO BOTTI**

CONTRIBUTO SPECIFICO FORNITO AL PROGETTO (max 20 righe)

Protocolli di vaccinazione specifica verso antigeni tumorali per diverse neoplasie sono in corso di sperimentazione anche nel nostro Istituto. Al fine di comprendere l'effettiva possibilità di arrivare ad un'efficacia clinica di tali terapie innovative è importante valutare in modo complessivo lo stato della risposta immunitaria antitumorale e dei meccanismi di sfuggita dal sistema immunitario che mettono in atto i tumori. E' quindi molto importante arrivare alla messa a punto di strategie di monitoraggio immunologico standardizzate, confrontabili tra diversi centri. A tale scopo il contributo specifico della nostra Unità Operativa riguarda strategie e tecniche di monitoraggio immunologico di risposte immunitarie sostenute da linfociti T CD4+ e CD8+ specifici per antigeni tumorali. Le metodiche sono state messe a punto per il rilevamento di risposte spontanee o indotte da vaccinazioni antitumorali atte ad indurre una risposta T specifica verso antigeni tumorali noti o non definiti. Ci proponiamo di definire criteri di standardizzazione applicati alle seguenti attività: Attività 1. Monitoraggio di risposte immunitarie tumore specifiche mediante valutazione dell'attività proliferativa e multiparametrica delle citochine prodotte da linfociti T ristimolati in vitro con peptidi tumorali sintetici o naturali; Attività 2. Monitoraggio immunologico di risposte tumore-specifiche in pazienti trattati con immunoterapia attiva, mediante allestimento di tests semiquantitativi microculturali.

METODOLOGIA (max 50 righe)

Attività 1. Monitoraggio di risposte immunitarie tumore specifiche mediante valutazione dell'attività proliferativa e multiparametrica delle citochine prodotte da linfociti T ristimolati in vitro con peptidi tumorali sintetici o naturali

Screening per l'identificazione di soggetti responsivi. Linfociti T CD4⁺ e CD8⁺ purificati sono stimolati in piastre da 96-wells in diversi replicati con monociti autologhi da soli (livello basale di attività) o caricati con peptidi tumorali sintetici o naturali, peptidi di controllo corrispondenti ad epitopi di influenza e EBNA2, proteina di controllo (KLH), o PHA (controllo positivo di produzione di multiple citochine). Al 5°-7° giorno viene aggiunta IL-2 (20 U/ml) per altri 5-7 giorni. Al 10°-14° giorno sono valutate l'incorporazione di ³H-timidina e il rilascio di citochine (IFN- γ , TNF- α , IL-4, IL-5, IL-10, GM-CSF, IL-13, perforina, granzyme) nel surnatante di coltura. Le risposte proliferative sono significative per differenze tra la media dei replicati in presenza o in assenza del peptide con $p < 0,05$, determinato dal test *t* di Student ad una coda per dati non appaiati. Il rilascio di citochine è positivo quando i valori ottenuti nei surnatanti di cellule stimolate con il peptide eccede il valore minimo definito dalle curve standard ed almeno due volte il valore ottenuto nei surnatanti dei linfociti T in presenza dei soli monociti.

Valutazione della percentuale di risposte specifiche. Nei casi responsivi il test viene ripetuto ed al 10°-14° giorno i linfociti sono lavati, e ristimolati con cellule presentanti l'antigene autologhe in presenza o in assenza del peptide rilevante e la percentuale di cellule specifiche valutata mediante colorazione intracellulare. Il test viene eseguito valutando la secrezione delle citochine identificate nello screening.

Attività 2. Monitoraggio immunologico di risposte tumore-specifiche in pazienti trattati con immunoterapia attiva, mediante allestimento di tests semiquantitativi microculturali.

Scopo dell'attività è di caratterizzare quantitativamente e qualitativamente le popolazioni linfocitarie CD8⁺ tumore-specifiche, generate nel corso di un trattamento immunoterapico. La caratterizzazione sarà eseguita mediante allestimento di microcolture tra linfociti T CD8⁺ del sangue periferico prelevato pre e post-terapia, e peptidi sintetici di antigeni tumorali e/o cellule autologhe esprimenti un antigene tumorale e/o cellule tumorali autologhe, precedentemente stabilizzate in vitro. Cellule mononucleate ottenute da sangue periferico mediante ficoll, saranno coltivate in vitro in presenza dei peptidi o cellule autologhe esprimenti un antigene tumorale o di cellule tumorali autologhe irradiate (100 Gy), in presenza di basse dosi di

rhIL-2 (10 U/ml). Dopo 10-12 giorni di coltura, ogni microcoltura sarà divisa in 4 replicati e testata contro cellule autologhe target esprimenti l'antigene o caricate con i peptidi, cellule tumorali autologhe e relativi controlli (K562, cellule target non caricate, etc.). Dopo 24 ore di coltura, saranno raccolti 100 µl di surnatante da ogni singola microcoltura, ed il rilascio di una o più citochine (IFN- γ , IL-10, IL-5, etc.), sarà misurato mediante test ELISA.

Valutazione dei risultati. Ogni microcoltura sarà considerata positiva se il rilascio della citochina testata sulle cellule target, sarà uguale o superiore al 50% del rilascio sulle cellule controllo. Il rilascio spontaneo delle popolazioni cellulari da sole sarà sottratto. La Deviazione Standard (SD), calcolata sui duplicati, permetterà di considerare validi i risultati di rilascio con SD inferiori al 50% rispetto alla media dei duplicati. Allo scopo di ulteriormente validare i risultati ottenuti, saranno eseguiti tests ELISA anche su un successivo round di stimolazione *in vitro*. L'aumento dei precursori linfocitari CD8⁺ peptidi/tumore-specifici, arbitrariamente definita come numero di microcolture positive sul totale di microcolture allestite e testate, nei campioni di sangue pre- e post-trattamento, sarà valutato come positivo se i seguenti criteri saranno soddisfatti: 1) Numero di microcolture positive nel prelievo post-trattamento 3 volte superiore al numero di microcolture ottenute nel prelievo pre-trattamento; 2) Analogo incremento deve essere dimostrato in 2 prelievi post-trattamento, eseguiti a distanza di tempo.

RISORSE UMANE

Personale dedicato alle attività del progetto (in mesi-uomo):

- | | |
|--|--|
| 1. tipologia: (interna/esterna) Interna
competenza: Medico
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Dirigente I livello

mesi-uomo dedicati: 3 |
| 2. tipologia: (interna/esterna) Interna
competenza: Medico
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Dirigente I livello

mesi-uomo dedicati: 3 |
| 3. tipologia: (interna/esterna) Interna
competenza: Biologo
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Dirigente I livello

mesi-uomo dedicati: 15 |
| 4. tipologia: (interna/esterna) Interna
competenza: Tecnico
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Tecnico di laboratorio

mesi-uomo dedicati: 9 |
| 5. tipologia: (interna/esterna) Interna
competenza: Tecnico
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Tecnico di laboratorio

mesi-uomo dedicati: 9 |

COMPOSIZIONE DEI COSTI DELL'UNITÀ OPERATIVA

<u>Voci di costo e breve descrizione</u>	<u>Totale</u> EURO	<u>di cui a carico dei fondi ministeriali</u> EURO
1. Personale dipendente <i>2 Dirigenti medici, 1 dirigenti biologo e 1 tecnico laboratorio</i>	165.438,00	NULLA
2. Personale a contratto/consulenza/borsa di studio <i>2 borsisti biologi e 1 tecnico di laboratorio</i>	25.000,00	NULLA
3. Missioni	7.000,00	7.000,00
4. Attrezzature (solo a noleggio o leasing):	0	0
5. Materiale di consumo <i>Materiale disposable, tetrameri, peptidi, anticorpi, kit ELISA e CBA, etc.</i>	20.000,00	20.000,00
6. Pubblicazioni / organizzazione convegni, ecc.	0	0
7. Elaborazione dati (specificare)	0	0
8. Spese generali delle strutture coinvolte (specificare)	3.000,00	3.000,00
TOTALE	220.438,00	30.000,00

Curriculum Vitae del Responsabile Scientifico dell'Unità Operativa (max 1 pagina)

(PERIODO DI RIFERIMENTO: ULTIMI 5 ANNI; INDICARE ANCHE LE 10 PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE RITENUTE PIÙ SIGNIFICATIVE, CON PARTICOLARE RIFERIMENTO A QUELLE DELL'AREA TEMATICA SCIENTIFICA SULLA QUALE INSISTE IL PROGETTO)

Dott.ssa Maria Pia Protti

Nata a Napoli il 19/02/1957

Cittadinanza italiana

1975: Diploma di maturità scientifica, Liceo scientifico "A.VOLTA", MILANO

1983: Laurea in Medicina e Chirurgia con lode, Università degli Studi di MILANO

1989: Specialità in Medicina Interna, Università degli Studi di Milan

Esperienza professionale

1985-1986: Istituto Scientifico H. San Raffaele (HSR), Borsista

1986-1990: Department of Biochemistry, Post-doctoral Associate e Fellow of MD (Sydney Blackmere Award), University of Minnesota, USA

1991-2001: Laboratorio di Immunologia dei Tumori, Ricercatore e Dirigente I Livello HSR

1998-oggi: Programma di Immunoterapia e Terapia Genica dei tumori-HSR, Group leader

2001-oggi: Unità di Immunologia dei Tumori-HSR, Head of Unit

Riconoscimenti

1989-1990: SIDNEY BLACKMERE AWARD OF THE MUSCULAR DYSTROPHY ASSOCIATION OF AMERICA

Pubblicazioni

1. Tassi E, Facchinetti V, Seresini S, Borri A, Dell'antonio G, Garavaglia C, Casorati G, Protti MP. Peptidome from renal cell carcinoma contains antigens recognized by CD4+ T cells and shared among tumors of different histology. Clin Cancer Res. 2006 Aug 15;12(16):4949-57.
2. Crosti M, Longhi R, Consogno G, Melloni G, Zannini P, Protti MP. Identification of novel subdominant epitopes on the carcinoembryonic antigen recognized by CD4+ T cells of lung cancer patients. J Immunol. 2006 Apr 15;176(8):5093-9.
3. Moro M, Cecconi V, Martinoli C, Dallegno E, Giabbai B, Degano M, Glaichenhaus N, Protti MP, Dellabona P, Casorati G. Generation of functional HLA-DR*1101 tetramers receptive for loading with pathogen- or tumour-derived synthetic peptides. BMC Immunol. 2005 Dec 5;6:24.
4. Facchinetti V, Seresini S, Longhi R, Garavaglia C, Casorati G, Protti MP. CD4+ T cell immunity against the human papillomavirus-18 E6 transforming protein in healthy donors: identification of promiscuous naturally processed epitopes. Eur J Immunol. 2005 Mar;35(3):806-15.
5. Feau S, Facchinetti V, Granucci F, Citterio S, Jarrossay D, Seresini S, Protti MP, Lanzavecchia A, Ricciardi-Castagnoli P. Dendritic cell-derived IL-2 production is regulated by IL-15 in humans and in mice. Blood. 2005 Jan 15;105(2):697-702. Epub 2004 Sep 7.
6. Campi G, Crosti M, Consogno G, Facchinetti V, Conti-Fine BM, Longhi R, Casorati G, Dellabona P, Protti MP. CD4(+) T cells from healthy subjects and colon cancer patients recognize a carcinoembryonic antigen-specific immunodominant epitope. Cancer Res. 2003 Dec 1;63(23):8481-6.
7. Consogno G, Manici S, Facchinetti V, Bachi A, Hammer J, Conti-Fine BM, Rugarli C, Traversari C, Protti MP. Identification of immunodominant regions among promiscuous HLA-DR-restricted CD4+ T-cell epitopes on the tumour antigen MAGE-3. Blood. 2003 Feb 1;101(3):1038-44. Epub 2002 Sep 19.
8. Manici S, Sturniolo T, Imro MA, Hammer J, Sinigaglia F, Noppen C, Spagnoli G, Mazzi B, Bellone M, Dellabona P, Protti MP. Melanoma cells present a MAGE-3 epitope to CD4(+) cytotoxic T cells in association with histocompatibility leukocyte antigen DR11. J Exp Med. 1999 Mar 1;189(5):871-6.
9. Imro MA, Manici S, Russo V, Consogno G, Bellone M, Rugarli C, Traversari C, Protti MP. Major histocompatibility complex class I restricted cytotoxic T cells specific for natural melanoma peptides recognize unidentified shared melanoma antigen(s). Cancer Res. 1999 May 15;59(10):2287-91.
10. Sturniolo T, Bono E, Ding J, Radrizzani L, Tuereci O, Sahin U, Braxenthaler M, Gallazzi F, Protti MP, Sinigaglia F, Hammer J. Generation of tissue-specific and promiscuous HLA ligand databases using DNA microarrays and virtual HLA class II matrices. Nat Biotechnol. 1999 Jun;17(6):555-61.

UNITÀ OPERATIVA 10: MONITORAGGIO DELLA RISPOSTA IMMUNITARIA UMORALE

Work Package 3. Costruzione di una rete per lo sviluppo e la standardizzazione di metodiche per il monitoraggio immunologico e l'identificazione di biomarcatori della risposta alla bioterapia dei tumori. (Responsabili: Paola Nisticò-Licia Rivoltini)

RESPONSABILE SCIENTIFICO: nominativo: **DOTT. MICHELE MAIO**

struttura di appartenenza : CRO Aviano-UOC Bioimmunoterapia dei Tumori funzione: Coordinatore

indirizzo: via F. Gallini, 2 33081 – Aviano (PN)

N. tel: 0434-659342

N. fax: 0434-659566

indirizzo E-mail: mmaio@cro.it

RAPPRESENTANTE LEGALE: nominativo: DR. GIOVANNI DEL BEN

CONTRIBUTO SPECIFICO FORNITO AL PROGETTO (max 20 righe)

Il contributo specifico al progetto fornito dall'Unità consisterà nella messa a punto e nella standardizzazione di metodiche laboratoristiche per il monitoraggio della risposta immunitaria umorale, indotta o potenziata da differenti strategie cliniche di bioterapia per pazienti oncologici che saranno sviluppate ed attivate nella rete. In particolare, saranno messe a punto e rese disponibili all'interno del network metodiche e reagenti per l'analisi della risposta anticorpale antigene-specifica indotta dal trattamento e del possibile ruolo funzionale anti-tumorale degli anticorpi generati in corso di terapia. Inoltre, saranno sviluppate metodologie per la caratterizzazione di anticorpi indotti dal trattamento quali potenziali “surrogati” di risposta biologica alla terapia

METODOLOGIA (MAX 50 RIGHE)

L'Unità Operativa ha esperienza pluriennale nel monitoraggio sierologico della risposta anticorpale indotta in corso di bioterapia, nonché nell'analisi del ruolo funzionale degli anticorpi circolanti sviluppati a seguito del trattamento nel mediare risposte anti-tumorali del tipo antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC) e/o complement-mediated cytotoxicity (CDC). L'interazione operativa con le altre componenti pre-cliniche e cliniche della rete permetterà di identificare esigenze specifiche di monitoraggio immunologico umorale, a cui sarà fornito il supporto metodologico, tecnologico e scientifico da parte dell'Unità proponente.

Le tecnologie che saranno rese disponibili alla rete per l'analisi della specificità fine della risposta anticorpale sono rappresentate da metodiche sierologiche (es. ELISA, citofluorimetria, immunocitochimica, etc.) e biochimiche (western blotting, immunoprecipitazione seguita da SDS-PAGE, etc.). Inoltre, per l'analisi funzionale della risposta anticorpale saranno rese disponibili metodiche di ADCC e di CDC messe a punto e standardizzate dall'Unità. Più in particolare, per quanto concerne l'analisi della funzionalità in CDC degli anticorpi generati in corso di trattamento, saranno resi disponibili target cellulari generati e già validati dall'Unità (i.e., cellule neoplastiche di differente istotipo trasdotte e non con la protectina/CD59), che permetteranno anche di identificarne e caratterizzarne l'azione funzionale in base alla resistenza intrinseca alla lisi mediata dal complemento, o indotta a seguito della trasfezione con CD59, delle cellule neoplastiche.

Ulteriore contributo al programma di monitoraggio immunologico della rete deriverà dal rendere disponibili le tecnologie messe a punto dall'Unità, nonché i necessari reagenti cellulari (es. cellule neoplastiche negative per gli antigeni HLA di classe I) e molecolari (es. antigeni tumorali ricombinanti appartenenti alla categoria dei Cancer Testis Antigens quali MAGE-3 ed NY-ESO-1, della differenziazione melanocitaria quali MART-1, ed antigeni tumore-associati “over-espressi” su tumori di differente istotipo quali lo high molecular weight-melanoma associated antigen), per l'analisi della risposta anticorpale quale “surrogato” di risposta immunologica al trattamento con vaccini cellulari e/o proteici

RISORSE UMANE

Personale dedicato alle attività del progetto (in mesi-uomo):

RISORSE UMANE

Personale dedicato alle attività del progetto (in mesi-uomo):

1. tipologia: **interna**
competenza: **Medico**
(giurista; statistico; economista; medico; ..)

qualifica: **Direttore UOC**

mesi-uomo dedicati: **3**

2. tipologia: **interna**
competenza: **Medico**
(giurista; statistico; economista; medico; ..)

qualifica: **Dirigente I Livello**

mesi-uomo dedicati: **6**

3. tipologia: **esterna**
competenza: **Biologo**
(giurista; statistico; economista; medico; ..)

qualifica: **contrattista**

mesi-uomo dedicati: **9**

COMPOSIZIONE DEI COSTI DELL’UNITÀ OPERATIVA

<u>Voci di costo e breve descrizione</u>	<u>Totale</u> EURO	<u>di cui a carico dei fondi ministeriali</u> EURO
1. Personale dipendente <i>Medico</i> <i>Medico</i>	33.000	NULLA
2. Personale a contratto/consulenza/borsa di studio <i>Biologo contrattista</i> <i>Contrattista, borsista, consulenza (biologo, biotecnologo, etc)</i>	18.000 18.000	0 18.000
3. Missioni	3.000	3.000
4. Attrezzature (solo a noleggio o leasing):	0	0
5. Materiale di consumo	2.000	2.000
6. Pubblicazioni / organizzazione convegni, ecc.	2.000	2.000
7. Elaborazione dati (specificare)	0	0
8. Spese generali delle strutture coinvolte (specificare)	0	0
TOTALE	76.000	25.000

Curriculum Vitae del Responsabile Scientifico dell’Unità Operativa

(max 1 pagina)

(PERIODO DI RIFERIMENTO: ULTIMI 5 ANNI; INDICARE ANCHE LE 10 PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE RITENUTE PIÙ SIGNIFICATIVE, CON PARTICOLARE RIFERIMENTO A QUELLE DELL’AREA TEMATICA SCIENTIFICA SULLA QUALE INSISTE IL PROGETTO)

Dott. Michele Maio

Academic Studies: 1982, M.D. degree, 2nd School of Medicine, Naples, Italy, magna cum laude; 1985, Board Certified - Hematology, magna cum laude; 1991, Board Certified - Oncology.

Employment: 2003-present, Director, Division of Medical Oncology and Immunotherapy, Dept. of Oncology, University Hospital, Siena, Italy and Coordinator, Cancer Bioimmunotherapy Unit, CRO, Aviano, Italy; 1993-03, Head, Cancer Bioimmunotherapy Unit, Dept. of Medical Oncology, C.R.O., Aviano, Italy; 1990-92, Associate Director, Division of Exp. Oncology 2, C.R.O., Aviano, Italy; 1987-88, Assistant, Division of Exp. Oncology 2, Tumor Immunology Section, C.R.O., Aviano, Italy; 1984-87, Post-Doctoral Fellow, Department of Microbiology and Immunology, NYMC, Valhalla, NY, U.S.A.; 1982-84, Post-Doctoral Fellow, Chair of Immunology, 2nd School of Medicine, Naples, Italy; 1978-82, Pre-Doctoral Fellow, *Immunology Chair, 2nd School of Medicine, Naples, Italy.*

Clinical and Research Activities: Principal Investigator of clinical trials with biological response modifiers (e.g. anti-idiotypic monoclonal antibodies, immunogenic peptides, gene-transduced neoplastic cells) and new pharmacologic agents in patients with solid malignancies. Pre-clinical studies on the antigenic profile of human melanoma cells and their interaction with the immune system, on the regulation and functional role of cell adhesion molecules on neoplastic cells, on signal transduction in normal and neoplastic cells, on the functional role of complement regulatory proteins in solid malignancies, and on the immunologic role of DNA hypomethylating agents and of inhibitors of histone deacetylase to develop new chemo-immunotherapeutic treatments in cancer patients.

Academic Activities: 1987-present, Lecturer in Immunology, Udine Medical School, Italy; 1989-2000, Adjunct Associate Professor of Immunology, NYMC, Valhalla, USA; 2002-present, Adjunct Professor, College of Science and Biotechnology, Temple University, Philadelphia, PA, USA.

Societies: AACR, ASCO, Italian Cooperative Group for Immunology, Italian Tumor Society, EORTC-Melanoma Group, GIME, Scientific Advisory Board - Sbarro Health Research Organization-U.S.A., Network Italiano per la Bioterapia dei Tumori, International Melanoma Working Group.

Editorial Boards: Seminars in Oncology, Journal of Immunotherapy, Women's Oncology Reviews, Journal of Translational Medicine, Journal of Experimental and Clinical Cancer Research (Reviews Editor), Supportive and Palliative Cancer Care.

Extramural Grants: AIRC, FIRC, CNR, ISS, Italian Health Ministry, Italian Research Ministry, European Union, NCI-Bethesda-MD-USA, Industry.

Pubblicazioni

1. Sigalotti L, Coral S, Nardi G, Spessotto A, Cortini E, Cattarossi I, Colizzi F, Altomonte M, and Maio M. Promoter methylation controls the expression of MAGE-2, -3 and -4 genes in human cutaneous melanoma. *J. Immunother.*, 25: 16-26, 2002.
2. Sigalotti L, Coral S, Altomonte M, Natali L, Gaudino G, Cacciotti P, Libener R, Colizzi F, Vianale G, Martini F, Tognon M, Jungbluth A, Cebon J, Maraskovsky E, Mutti L, Maio M. Cancer Testis Antigens expression in mesothelioma: role of DNA methylation and bioimmunotherapeutic implications. *Brit. J. Cancer*, 86: 979-982, 2002.
3. Coral S, Sigalotti L, Altomonte M, Engelsberg A, Colizzi F, Cattarossi I, Maraskovsky E, Jager E, Seliger B, Maio M. 5-AZA-2'-deoxycytidine-induced expression of functional cancer testis antigens in human renal cell carcinoma: immunotherapeutic implications. *Clin. Can. Res.*, 8: 2690-2695, 2002.
4. Sigalotti L, Altomonte M, Colizzi F, Degan M, Rupolo M, Zagonel V, Pinto A, Gattei V, Maio M. 5-Aza-2'-deoxycytidine (decitabine) treatment of hematopoietic malignancies: a multimechanism therapeutic approach? *Blood*, 101: 4644-4646, 2003.
5. Fonsatti E, Sigalotti L, Coral S, Colizzi F, Altomonte M, Maio M. Methylation-regulated expression of HLA class I antigens in melanoma. *Int. J. Cancer*, 105: 430-431, 2003.
6. Sigalotti L., Fratta E., Coral S., Tanzarella S., Colizzi F., Fonsatti E., Traversari C., Altomonte M., Maio M. Intratumor heterogeneity of cancer/testis antigens expression in human cutaneous melanoma is methylation-regulated and functionally reverted by 5-aza-2'-deoxycytidine. *Cancer Res.*, 64: 9167-9171, 2004.
7. Calabrò L, Fonsatti E, Altomonte M, Pezzani L, Colizzi F, Sigalotti L, Maio M. Methylation-regulated expression of Cancer Testis Antigens in Primary Effusion Lymphoma: immunotherapeutic implications. *J. Cell. Physiol.*, 202: 474-477, 2005.
8. Sigalotti L, Coral S, Fratta E, Lamaj E, Danielli R, Di Giacomo AM, Altomonte M, Maio M. Epigenetic modulation of solid tumors as a novel approach for cancer immunotherapy. *Semin. Oncol.*, 32: 473-478, 2005.
9. Gattei V, Fonsatti E, Sigalotti L, Degan M, Di Giacomo AM, Altomonte M, Calabrò L, Maio M. Epigenetic immunomodulation of hematopoietic malignancies. *Semin. Oncol.*, 32: 503-510, 2005.
10. Coral S, Sigalotti L, Colizzi F, Spessotto A, Nardi G, Cortini E, Pezzani L, Fratta E, Fonsatti E, Di Giacomo AM, Nicotra MR, Natali PG, Altomonte M, Maio M. Phenotypic and functional changes of human melanoma xenografts induced by DNA hypomethylation: immunotherapeutic implications. *J. Cell. Physiol.*, 207: 58-66, 2006.

UNITÀ OPERATIVA 11: Attività di supporto regolatorio, revisione dello scenario normativo regolatorio nazionale ed europeo e realizzazione di *Consensus documents* e *Conference*

Work Package 4. Sviluppo di documenti consensus, di linee guida e documenti divulgativi degli aspetti regolatori. Informazioni sulla normativa (Help Desk). Responsabili: A.R. Meneguz (ISS), P. Ascierio (Fondazione G. Pascale)

RESPONSABILE SCIENTIFICO: nominativo: **DOTT.SSA ANNARITA MENEGUZ**

struttura di appartenenza : Istituto Superiore di Sanità, Dipartimento del Farmaco funzione: Direttore di Reparto

indirizzo :Viale Regina Elena 299, 00161 Roma

N. tel:06-49902880

N. fax:06-49387100

indirizzo E-mail: annamene@iss.it

RAPPRESENTANTE LEGALE: nominativo:PROF. ENRICO GARACI

CONTRIBUTO SPECIFICO FORNITO AL PROGETTO (max 20 righe)

L'impatto regolatorio che la Direttiva europea 2001/20/EC, recepita in Italia con il Decreto Legislativo 211/2003, impone anche alle sperimentazioni cliniche accademiche è estremamente significativo rispetto alla situazione pre direttiva., in accordo alla quale nessuna sperimentazione, ad eccezione di quella interventistica (studi osservazionali) è esclusa dalle norme di buona pratica regolatoria, vale a dire dai principi delle buone pratiche di fabbricazione, di laboratorio e cliniche (GMP, GLP e GCP). Durante lo sviluppo di un nuovo prodotto terapeutico gli aspetti di preparazione (GMP) ed i risultati degli studi preclinici (GLP) devono essere forniti all'Autorità Regolatoria per ottenere l'autorizzazione alla sperimentazione clinica (GCP). La conoscenza delle basi legali e delle linee guida che attualmente regolano il processo autorizzativo risulta fondamentale per il buon esito del processo e rappresentare un indispensabile strumento per sponsor non industriali, al momento della sottomissione delle richieste per condurre studi clinici, in particolare di fase I (FTIH). Queste richieste infatti, se non gestite correttamente, possono rallentare lo sviluppo di prodotti non industriali derivati da indagini di investigatori indipendenti, essendo tale attività condotta in strutture ospedaliere e cliniche universitarie, in cui la gestione dell' incrementato carico regolatorio post Direttiva europea, può risultare problematica anche a causa della mancanza di esperti di aspetti regolatori.

Obiettivi principali di questa unità operativa sono

- fornire un'attività mirata in modo specifico a coprire la carenza di esperienza regolatoria del mondo accademico e ospedaliero
- diffondere queste informazioni per consentire un dialogo e una più rapida interazione fra ricercatori clinici e autorità regolatorie per affrontare nel modo migliore possibile l'aspetto della riduzione dei tempi della ricerca translazionale e consentire un più rapido trasferimento dei risultati di laboratorio al letto del malato, senza influenzare la sicurezza del paziente.

METODOLOGIA (max 50 righe)

Creazione di un coordinamento informativo centrale per sponsor non industriali, mediante l'istituzione di gruppo di lavoro, con il compito di raccolta codificata della documentazione normativa (leggi e decreti) che ha un impatto sulle autorizzazioni di studi clinici con bioterapie antitumorali.

Censimento delle linee guida già emanate dall'agenzia europea del farmaco (EMA), e da altre agenzie internazionali (FDA), al fine di evidenziarne esclusivamente gli aspetti che specificamente si applicano alle bioterapie.

Rendere disponibili le suddette documentazioni mediante pubblicazione di rapporti informativi aggiornati e/o documenti tecnici scaricabili dal web (vedi Unità 2 WP4).

Organizzazione di workshop formativi dedicato a personale di strutture di ricerca non industriali, riguardanti specificamente aspetti regolatori

Organizzare riunioni periodiche fra ricercatori ed esperti regolatori volti anche all'elaborazione di documenti condivisi

Organizzazione di una Conferenza conclusiva, con elaborazione di un *Consensus Document* finale, contenente la raccolta della documentazione normativa esistente, la eventuale revisione delle linee guida non cliniche già emanate che si applicano alle bioterapie, ed eventuali nuove proposte operative di linee guida dedicate.

Principali risultati attesi

Alleanza Contro il Cancro (ACC) – Istituto Superiore di Sanità (ISS)

Art.3 DM 21 luglio 2006 - Programma Straordinario di Ricerca Oncologica 2006

Programma 2 “Integrazione delle attività di ricerca attraverso la costruzione di strutture e reti di collaborazione interistituzionali”

Una diffusione delle conoscenze e del corrente stato dell’arte regolatorio e normativo relativo all’autorizzazioni di trias clinici con bioprodotti.

Fornire conoscenze teorico-pratiche avanzate sull’Attività Regolatoria delle bioterapie tumorali per formare esperti regolatori nell’abito di strutture di ricerca non industriali

Proporre diverse ed accelerate procedure per accesso alla sperimentazione clinica delle bioterapie antitumorali.

RISORSE UMANE

Personale dedicato alle attività del progetto (in mesi-uomo):

- | | |
|---|--|
| 1. tipologia: (interna/esterna) interna
A. MENEGUZ
competenza: Biologo /Esperto di aspetti regolatori
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Primo Ricercatore
mesi-uomo dedicati: 6 |
| 2. tipologia: (interna/esterna) interna
competenza: Farmacista
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Ricercatore
mesi-uomo dedicati: 9 |
| 3. tipologia: (interna/esterna) interna
competenza: CTF
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Ricercatore
mesi-uomo dedicati: 9 |
| 4. tipologia: (interna/esterna) interna
competenza: Farmacologo
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Dirigente di Ricerca
mesi-uomo dedicati: 6 |
| 5. tipologia: (interna/esterna)
competenza: Raccolta e revisione
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Tecnico
mesi-uomo dedicati: 9 |
| 6. tipologia: (interna/esterna) interna
competenza: Esperto informatico
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Tecnico
mesi-uomo dedicati: 9 |
| 7. tipologia: (interna/esterna) interna
competenza: Esperto informatico
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Tecnico
mesi-uomo dedicati: 9 |

COMPOSIZIONE DEI COSTI DELL'UNITÀ OPERATIVA

<u>Voci di costo e breve descrizione</u>	<u>Totale</u> EURO	<u>di cui a carico dei fondi ministeriali</u> EURO
1. Personale dipendente _____ _____ _____	<u>150.000</u>	NULLA
2. Personale a contratto/consulenza/borsa di studio _____ _____ _____	_____	_____
3. Missioni _____ _____	<u>20.000</u>	<u>5000</u>
4. Attrezzature (solo a noleggio o leasing): _PC software dedicati_ _____ _____	<u>10.000</u>	<u>5000</u>
5. Materiale di consumo _Cartucce, toner, USB, carta A4_ _____ _____	<u>22.000</u>	_____
6. Pubblicazioni / organizzazione convegni, ecc. _Possibilità di organizzare riunioni periodiche_ _____ _____	<u>25.000</u>	<u>10000</u>
7. Elaborazione dati (specificare) _____ _____ _____	_____	_____
8. Spese generali delle strutture coinvolte (specificare) _____	_____	_____
TOTALE	<u>227.000</u>	<u>20.000</u>

Curriculum Vitae del Responsabile Scientifico dell’Unità Operativa

(max 1 pagina)

(PERIODO DI RIFERIMENTO: ULTIMI 5 ANNI; INDICARE ANCHE LE 10 PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE RITENUTE PIÙ SIGNIFICATIVE, CON PARTICOLARE RIFERIMENTO A QUELLE DELL’AREA TEMATICA SCIENTIFICA SULLA QUALE INSISTE IL PROGETTO)

Annarita Meneguz Mezzanotte, nata il 29 Ottobre 1952 a Rimini.

Attuale posizione. Primo Ricercatore, Direttore del reparto di “Farmacologia Biochimica e Unità di Coordinamento dell’Attività di Consulenza Tecnico Scientifica” del Dipartimento del Farmaco, ISS

Titolo di Studio: Laurea in Scienze Biologiche

Società Scientifiche : Membro del Consiglio Direttivo della Società Italiana di Tossicologia (SITOX)

Nomine

- Membro delle sottocommissione Procedure Comunitarie della CTS/AIFA.
- Membro della commissione di coordinamento delle BPL e inserita nella Lista ispettori/esperti della stessa
- Esperto nazionale per gli aspetti di Human Health dell’OECD, sulle linee guida per la conduzione di studi tossicologici e di “Safety” farmacologica
- Membro italiano gruppo tecnico scientifico Safety Working Party (SWP) dell’agenzia europea dei medicinali (EMA)

Publicazioni: sono di seguito riportate le pubblicazioni dal 2005

1. Buratti FM, Volpe MT, Fabrizi L, **Meneguz A**, Vittozzi L, Testai E. Kinetic parameters of OPT pesticide desulfuration by c-DNA-expressed human CYPs. *Environmental toxicology and pharmacology*. 2002;11(3-4):181-190.
2. Ricceri L, Markina N, Valanzano A, Fortuna S, Cometa MF, **Meneguz A**, Calamandrei G. Developmental exposure to chlorpyrifos alters reactivity to environmental and social cues in adolescent mice. *Toxicology and applied pharmacology*. 2003;191(3):189-201.
3. Buratti FM, Volpe MT, **Meneguz A**, Vittozzi L, Testai E. CYP-specific bioactivation of four organophosphorothioate pesticides by human liver microsomes. *Toxicology and applied pharmacology*. 2003;186(3):143-154.
4. Gribaldo L, Gennari A, Blackburn H, Clemmedson C, Deguercy A, **Meneguz A**, Pfaller W, Ruhdel I. Acute toxicity. *Alternatives to laboratory animals: ATLA*. 2005;33(Suppl 1):27-34.
5. Prieto P, Clemmedson C, **Meneguz A**, Pfaller W, Sauer UG, Westmoreland C. Subacute and subchronic toxicity. *Alternatives to laboratory animals: ATLA*. 2005;33(Suppl 1):109-116.
6. Coecke S, Blaauboer B, Elaut G, Freeman S, Freidig A, Gensmantel N, Hoet P, Kapoulas VM, Ladstetter B, Langley G, Leahy D, Mannens G, **Meneguz A**, Monshouwer M, Nemery B, Pelkonen O, Pfaller W, Prieto P, Proctor N, Rogiers V, Rostami-Hodjegan A, Sabbioni E, Steiling W, van de Sandt JJ. Toxicokinetics and metabolism. *Alternatives to laboratory animals: ATLA*. 2005;33(Suppl 1):147-175.
7. Cometa MF, Lorenzini P, Fortuna S, Volpe MT, **Meneguz A**, Palmery M. In vitro inhibitory effect of aflatoxin B1 on acetylcholinesterase activity in mouse brain. *Toxicology*. 2005;206(1):125-135.
8. Buratti FM, D’Aniello A, Volpe MT, **Meneguz A**, Testai E. Malathion bioactivation in the human liver: the contribution of different cytochrome P450 isoforms. *Drug metabolism and disposition*. 2005;33(3):295-302.
9. Di Consiglio E, **Meneguz A**, and Testai E. Organophosphorothioate pesticides inhibit bioactivation of imipramine by human hepatic cytochrome P450s. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2005; 15, 237-246.
10. Coecke S, Ahr H, Blaauboer B, Bremer S, Casati S, Castell J, Combes R, et al., **Meneguz A**, Testai E. Metabolism: a bottleneck in in vitro toxicological test development. The report and recommendations of ECVAM workshop 54. *Alternatives to laboratory animals: ATLA*. 2006; 34(1):49-84.
11. Cholinesterase inhibition and alterations of hepatic metabolism by oral acute and repeated chlorpyrifos administration to mice. *Cometa MF, Buratti FM, Fortuna S, Lorenzini P, Volpe MT, Parisi L, Testai E, Meneguz A* *Toxicology*. 2007 Feb 23.

Capitolo di Libri

1. Autorità regolatorie e processo registrativo di nuovi farmaci antineoplastici (Stefano Vella, **Annarita Meneguz**), in Sviluppo dei farmaci oncologici con bersaglio molecolare: dalla tradizione all’innovazione (a cura di Dino Amadori). Paletto editore.
2. **Meneguz A**. Valutazione preclinica dei vaccini. In: Cantelli Forti G, Hrelia P, ed. *Le biotecnologie e la qualità della vita*. Bologna: Patron editore; 2005. p. 103-128.

Pareri

- Farmaci di nuova istituzione e Sperimentazioni Cliniche di fase I (Riferimenti normativi DPR 439/2001, DL.vo 211/
- Stesura di “Assessmet Report”(AR) nell’ambito della registrazione europea dei farmaci (EMA),

ATTIVITÀ DI FORMAZIONE SU ASPETTI REGOLATORI DI PRODOTTI MEDICINALI (DOCENTE)

- Master universitari Master sicurezza innovazione e farmacovigilanza. Facoltà di farmacia Università di Bologna/Rimini. Lezione: Le sperimentazioni cliniche aspetti di sicurezza ed innovazione Rimini maggio 2004.

- Master in Sperimentazioni cliniche dei Medicinali Facoltà di Medicina Università di Tor Vergata. Lezione: Tossicologia e Safety farmacologica. Roma novembre 2002 e 2004
- Workshop: “Dal laboratorio all’applicazione clinica: la buona prassi da adottare subito per non pentirsi dopo” novembre 2005 Università degli Studi di Urbino Carlo Bo trattando i seguenti argomenti: Le certificazioni GLP e ISO e Le agenzie regolatorie per la registrazione dei farmaci
- Master Universitario per la Formazione di professionalità nell’ambito della Sperimentazione Clinica dei Medicinali Università degli Studi di Roma “Tor Vergata trattando il seguente argomento: Tossicologia, safety farmacologica e tossicocinetica.
- Master Universitario Università La Sapienza- Regione Lazio la Formazione di professionalità nell’ambito delle tecniche farmaceutiche, farmacologiche e cliniche , trattando i seguenti argomenti: Sperimentazione non clinica, Studi tossicologici per i farmaci, La normativa relativa allo sviluppo dei farmaci.
- Lezioni e attività di “tutor” alla Drug Evaluation School (DESch) **corso triennale** mirato a formare esperti in grado di valutare le domande di autorizzazione al commercio dei farmaci, in particolare nell’ambito dell’Unione Europea, organizzato dall’Istituto Mario Negri in collaborazione con AIFA (luglio 1-7 luglio 2005), trattando i seguenti argomenti relativi alla valutazione della parte di dossier riguardante la sperimentazione Non clinica(Linee guida ICH, CHMP/EMA, OECD. Metodologie di valutazione. Come muoversi dentro il CTD) .
- Convegno “Tumori “aggressivi” della tiroide: quali percorsi terapeutici innovativi ?” Montecchio Maggiore, Vicenza, 16-17 giugno 2006, Le Sperimentazioni di nuovi radiofarmaci: aspetti normativi e di buona pratica.
- Corso biennale European european school for scientific and regulatory assessment of new medicines, Università di Tor Vergata e AIFA, trattando i seguenti argomenti: Quality aspects of non clinical data (GLP, The choice of First Time in Humans (FTIH), Safety assessment, including immunotoxicity, of biological products, in particular MAB, Target organ issues : hepatotox, neurotox.
- The 7th European Preclinical Assessor Meeting (PAM) Roma (AIFA) Italia, Ottobre 2006.

UNITÀ OPERATIVA 12: Portale telematico specialistico sulla ricerca e cura del cancro con bioterapie

Work Package 4. Sviluppo di documenti consensus, di linee guida e documenti divulgativi degli aspetti regolatori. Informazioni sulla normativa (Help Desk). Responsabili: A.R. Meneguz (ISS), P. Ascierto (Fondazione G. Pascale)

RESPONSABILE SCIENTIFICO: nominativo: **DOTT. PAOLO ANTONIO ASCIERTO**

struttura di appartenenza : Istituto Nazionale Tumori - Pascale funzione: Dirigente medico

indirizzo : Via Mariano Semmola

N. tel: :+390815903841

N. fax: :+390815903841

indirizzo E-mail: pasciert@tin.it

RAPPRESENTANTE LEGALE: nominativo: MARIO LUIGI SANTANGELO

CONTRIBUTO SPECIFICO FORNITO AL PROGETTO (max 20 righe)

Il Progetto persegue l’obiettivo della creazione di un portale telematico specialistico indirizzato agli operatori sanitari coinvolti nella ricerca e cura del cancro con bioterapie volto a favorirne la formazione permanente e l’aggiornamento professionale degli stessi operatori.

Più in particolare, principali obiettivi che il progetto vuole nel tempo perseguire possono essere così sintetizzati:

- Realizzare, produrre e distribuire programmi di formazione per la professione medica ad alta qualificazione e con elevati contenuti tecnico – scientifici
- Creare e gestire un “contenitore” informativo e comunicativo in grado di raccogliere, archiviare e distribuire tutte le più significative novità e i più aggiornati riferimenti di interesse riguardo gli studi di bioterapia.
- Creare una “comunità virtuale” degli operatori interessati al comparto sanitario, in grado di interagire sistematicamente tra loro per la messa in comune di esperienze, protocolli, processi di soluzione di problematiche sanitarie, etc.
- Favorire lo sviluppo dei processi di informatizzazione e di utilizzazione delle nuove tecnologie da parte della classe medica.

METODOLOGIA (max 50 righe)

- Attivazione di una piattaforma tecnologica presso il Centro di Riferimento
- Costituzione di un network interattivo fra i diversi attori;
- Offerta di servizi, organizzazione di percorsi formativi e corsi di alta formazione impartiti
 - in sede, attraverso corsi, incontri, dimostrazioni pratiche;
 - per via rete telematica, attraverso filmati (WEB Broadcasting), trasmissioni in diretta, testi di lezioni diffusi on-line o percorsi formativi su supporto ottici, offerta di tele-consulto. Il Web verrà utilizzato per creare un collegamento virtuale e reale con il Centro di Eccellenza; ogni utente verrà identificato da un ID e password. Il Web verrà anche utilizzato per accedere alla Biblioteca e Centro Dati.

Lo scopo è quello di promuovere la formazione in oncologia specificamente per gli aspetti regolatori degli studi di bioterapia.

Lo strumento scelto è l' *e-learning* attraverso la creazione di un Network Web INTRANET tra centri di una diversa area ed un sito Internet aperto ai diretti interessati.

I risultati principali attesi sono i seguenti:

- La promozione di programmi di formazione che possono aiutare a divulgare gli aspetti regolatori e, conseguentemente, ad omogeneizzare gli standard di qualità di cura dei pazienti delle diverse istituzioni;
- il miglioramento nella disponibilità all'accesso al web come strumento di progresso scientifico;
- lo sviluppo e diffusione di linee guida specifiche per gli studi di bioterapia che tengano conto delle evidenze della letteratura;
- la promozione della cooperazione in programmi di ricerca.

RISORSE UMANE

Personale dedicato alle attività del progetto (in mesi-uomo):

- | | |
|---|--|
| 1. tipologia: (interna/esterna) Interna
competenza: Medico
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Dirigente medico

mesi-uomo dedicati: 6 |
| 2. tipologia: (interna/esterna) Esterna
competenza: Medico
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Contrattista

mesi-uomo dedicati: 15 |
| 3. tipologia: (interna/esterna) Esterna
competenza: Informatico
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Contrattista

mesi-uomo dedicati: 9 |
| 4. tipologia: (interna/esterna) Esterna
competenza: Data Manager
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Contrattista

mesi-uomo dedicati: 12 |

COMPOSIZIONE DEI COSTI DELL'UNITÀ OPERATIVA

<u>Voci di costo e breve descrizione</u>	<u>Totale</u> EURO	<u>di cui a carico dei fondi ministeriali</u> EURO
1. Personale dipendente _____ _____ _____	<u>20.000</u>	NULLA
2. Personale a contratto/consulenza/borsa di studio Contratti di collaborazione esterna per medici, informatici e data manager. _____ _____	<u>40.000</u>	<u>40.000</u>
3. Missioni _____ _____	<u>4.000</u>	<u>0</u>
4. Attrezzature (solo a noleggio o leasing): PC, software dedicati _____ _____	<u>10.000</u>	<u>0</u>
5. Materiale di consumo Cartucce stampanti, toner fotocopiatrice, carta A4 _____ _____	<u>10.000</u>	<u>3.000</u>
6. Pubblicazioni / organizzazione convegni, ecc. _____ _____	<u>3.000</u>	<u>0</u>
7. Elaborazione dati (specificare) _____ _____	<u>5.000</u>	<u>0</u>
8. Spese generali delle strutture coinvolte (specificare) _____ _____	<u>3.000</u>	<u>0</u>
TOTALE	<u>95.000</u>	<u>43.000</u>

Curriculum Vitae del Responsabile Scientifico dell'Unità Operativa (max 1 pagina)
(PERIODO DI RIFERIMENTO: ULTIMI 5 ANNI; INDICARE ANCHE LE 10 PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE RITENUTE PIÙ SIGNIFICATIVE, CON PARTICOLARE RIFERIMENTO A QUELLE DELL'AREA TEMATICA SCIENTIFICA SULLA QUALE INSISTE IL PROGETTO)

Dott. Paolo Antonio Ascierto

Nato a Solopaca (BN) l'8 novembre 1964.

Ente di appartenenza: Istituto Nazionale per lo Studio e la Cura dei Tumori di Napoli.

Qualifica: Dirigente medico della U.O.C. di Immunologia Clinica dal 28.10.93.

Titoli di studio

LUGLIO 1983: Diploma di maturità scientifica presso il Liceo Scientifico Statale "A. Romita" di Campobasso.

LUGLIO 1990: Laurea in Medicina e Chirurgia conseguita con voti 110 e lode/110 con menzione speciale per il curriculum presso la II Facoltà di Medicina e Chirurgia dell'Università degli Studi di Napoli

LUGLIO 1994: Specializzazione in Oncologia con voti 70 e lode/70 presso la Facoltà di Medicina e Chirurgia dell'Università di Napoli “Fedrico II”.

Società scientifiche

Membro di: Associazione Italiana di Oncologia Medica (AIOM), Gruppo Italiano di Citometria (GIC), International Society for Skin Imaging (ISSI), American Society of Clinical Oncology (ASCO), European Society of Medical Oncology (ESMO), European Organization for Research and Treatment of Cancer - Melanoma Cooperative Group (EORTC-MCG), Intergruppo Melanoma Italiano (IMI).

Incarichi: ottobre 2001-ottobre 2004 membro del Consiglio Direttivo dell'Intergruppo Melanoma Italiano (IMI); dal novembre 2004 a tutt'oggi Presidente Nazionale dell'Intergruppo Melanoma Italiano (IMI); dal settembre 2004 Consigliere Sezione Regionale dell'Associazione Italiana di Oncologia Medica (AIOM); dal febbraio 2006 componente della Commissione Nazionale “Tumori Cutanei” della Lega Italiana per la Lotta ai Tumori; dal giugno 2006 membro dell'International Melanoma Working Group (IMWG); dal Settembre 2006 membro del Consiglio Direttivo del Network Italiano per le Bioterapie dei Tumori (NIBIT).

Produzione scientifica

Peer-review delle seguenti riviste scientifiche: Melanoma Research, Journal of Clinical Oncology, The Lancet, British Journal of Dermatology, Acta Dermato-Venereologica, Southern Medical Journal, Expert Review of Molecular Diagnostic, Journal of Translational Medicine.

Autore di un capitolo di libro in lingua italiana, oltre 80 Comunicazioni a Congressi Internazionali e di 50 pubblicazioni recensite su riviste internazionali. Pubblicazioni scientifiche ritenute più significative:

- Palmieri G, **Ascierto PA**, Perrone F, et al. Prognostic value of circulating melanoma cells detected by reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *J Clin Oncol.* 2003 Mar 1;21(5):767-73. Review. Erratum in: *J Clin Oncol.* 2003 May 15;21(10):2048.
- **Ascierto PA**, Palmieri G, Botti G, et al. Early diagnosis of malignant melanoma: Proposal of a working formulation for the management of cutaneous pigmented lesions from the Melanoma Cooperative Group. *Int J Oncol.* 2003 Jun;22(6):1209-15.
- Casula M, **Ascierto PA**, Cossu A, et al. Mutation analysis of candidate genes in melanoma-prone families: evidences of different pathogenetic mechanisms at chromosome 9p21. *Melanoma Res* 2003 Dec;13(6):571-9.
- Casula M, Colombino M, Satta MP, Cossu A, **Ascierto PA**, et al. BRAF gene is somatically mutated but does not make a major contribution to malignant melanoma susceptibility: the Italian Melanoma Intergroup Study. *J Clin Oncol.* 2004 Jan 15;22(2):286-92.
- Scala S, Ottaiano A, **Ascierto PA**, et al. Expression of CXCR4 predicts poor prognosis in patients with malignant melanoma. *Clin Cancer Res.* 2005; 11:1835-41.
- **Ascierto PA**, Scala S, et al.: Adjuvant treatment of malignant melanoma: Where are we? *Crit Rev Oncol Hematol.* 2005 Jun 27;
- Carta F, Demuro PP, Zanini C, Santona A, Castiglia D, D'Atri S, **Ascierto PA**, et al. Analysis of candidate genes through a proteomics-based approach in primary cell lines from malignant melanomas and their metastases. *Melanoma Res.* 2005 Aug;15(4):235-44.
- **Ascierto, PA**, Scala S., Castello G., et al. Pegylated Arginine Deiminase Treatment of Subjects with Metastatic Melanoma: Results from Phase I and II Studies. *J Clin Oncol.* 2005; 23:7660-8.
- Palmieri G, Satriano SM, Budroni M, Cossu A, Tanda F, Canzanella S, Caraco C, Simeone E, Daponte A, Mozzillo N, Comella G, Castello G, **Ascierto PA**. Serial detection of circulating tumour cells by reverse transcriptase-polymerase chain reaction assays is a marker for poor outcome in patients with malignant melanoma. *BMC Cancer.* 2006 Nov 15;6:266.
- Casula M, Colombino M, Satta MP, Cossu A, Lissia A, Budroni M, Simeone E, Calemma R, Loddo C, Caraco C, Mozzillo N, Daponte A, Comella G, Canzanella S, Guida M, Castello G, **Ascierto PA**, Palmieri G; Italian Melanoma Intergroup. Factors predicting the occurrence of germline mutations in candidate genes among patients with cutaneous malignant melanoma from South Italy. *Eur J Cancer.* 2007 Jan;43(1):137-43.

Eventi scientifici organizzati

ha organizzato 5 congressi internazionali, 7 mastercourse ed, in collaborazione con la lega nazionale calcio, la giornata nazionale di raccolta fondi per la ricerca sul melanoma per gli anni 2006 e 2007.

Riconoscimenti: 02 giugno 2005: nomina a cavaliere dell'ordine al merito della repubblica italiana per meriti scientifici.

UNITA' OPERATIVA 13: Creazione di un ufficio di riferimento in collaborazione con l'Agenzia Italiana del farmaco (AIFA)

WORK PACKAGE 5. Supporto alla realizzazione di una rete di laboratori GMP per la produzione di prodotti medicinali avanzati. (Responsabile: Giovanni Migliaccio)

RESPONSABILE SCIENTIFICO: nominativo **DOTT. GIOVANNI MIGLIACCIO**

struttura di appartenenza : Istituto Superiore di Sanità, Dip. Biol. Cellulare e Neuroscienze funzione: Direttore di Reparto

indirizzo: V.le regina Elena 299, 00161 Roma

N. tel: +39 064990 2550

N. fax: +39 06 4990 2530

indirizzo E-mail: giovanni.migliaccio@iss.it

RAPPRESENTANTE LEGALE: nominativo: PROF. ENRICO GARACI

CONTRIBUTO SPECIFICO FORNITO AL PROGETTO (max 20 righe)

La creazione di un ufficio di riferimento (“contact point/help desk”) in collegamento con AIFA avrà i seguenti obiettivi:

- a) diffusione di informazioni tecnico-regolatorie sullo sviluppo di medicinali per bioterapia;
- b) diffusione di informazioni regolatorie sulle procedure autorizzative;
- c) diffusione di informazioni sulle risorse interne della rete riguardo a produzione e controllo di prodotti per bioterapie;
- d) preparazione dei documenti e delle richieste per ottenere il riconoscimento ufficiale degli studi di validazione condotti dalle UO 4-7 di questo WP.

Riguardo all'obiettivo a), l'ufficio permetterà ai membri della rete di essere aggiornati sugli sviluppi regolatori specifici e di partecipare al processo di elaborazione, da parte delle autorità regolatorie italiane ed europee, delle linee guida e di definizione degli standard e delle metodologie. Riguardo all'obiettivo b), l'ufficio permetterà di mantenere aggiornata la rete sull'iter burocratico e sui requisiti necessari per ottenere da parte delle autorità competenti le autorizzazioni necessarie per passare dalla sperimentazione preclinica alla registrazione di un prodotto medicinale. Riguardo all'obiettivo c), l'ufficio, in collaborazione con le UO 3-7 di questo WP, permetterà di identificare le strutture autorizzate che possano fungere da laboratori di riferimento per la produzione di specifici prodotti per bioterapie e/o per l'esecuzione di specifici controlli di qualità. Tale obiettivo appare particolarmente rilevante in considerazione: i) degli alti costi di funzionamento e della capacità produttiva limitata, in termini di pazienti trattabili, che generalmente caratterizzano le strutture di produzione conformi alla normativa vigente; ii) dei costi e della complessità della convalida dei metodi produttivi e della relativa autorizzazione. Riguardo all'obiettivo d), l'ufficio sarà responsabile della elaborazione dei risultati degli studi di convalida effettuati dalle UO 4-7 di questo WP ai fini della definizione di nuove metodologie e standard per procedure per le quali al momento non sono disponibili o sono scarsamente applicabili gli standard regolatori attuali, e della loro presentazione alle autorità competenti per il riconoscimento come standard metodologici e di materiali ufficiali, e come tali validi ai fini del rilascio delle autorizzazioni.

METODOLOGIA (max 50 righe)

Una recente consultazione effettuata dall'ISS nell'ambito del NIBIT, tramite un questionario finalizzato ad identificare sia le risorse esistenti sia le principali esigenze della comunità biomedica coinvolta nel settore delle bioterapie dei tumori in Italia, ha indicato chiaramente la necessità della costituzione di un punto di riferimento (contact point/help desk) a supporto della formazione e informazione riguardo agli aspetti regolatori sulla produzione, controllo ed utilizzo clinico di bio-farmaci per la terapia dei tumori, con particolare riguardo ai prodotti medicinali avanzati. L'introduzione nella normativa europea e quindi italiana della classificazione dei prodotti a base di cellule come prodotti medicinali, la successiva richiesta che le produzioni anche per studi clinici sperimentali avvenissero in strutture autorizzate, e infine l'introduzione del Regolamento sui medicinali avanzati la cui pubblicazione è attesa per l'autunno 2007 e che entrerà in vigore nel 2008 rappresentano le ragioni principali alla base di tale esigenza.

Per favorire quindi la diffusione di informazioni e l'armonizzazione delle procedure con le regole internazionali si creerà un punto di riferimento presso l'ISS, (numero di telefono, fax, posta elettronica dedicati). Tale punto di riferimento provvederà per:

- a) la diffusione delle informazioni tecnico-regolatorie sullo sviluppo di medicinali per bioterapia. L'ufficio provvederà a raccogliere le informazioni attraverso contatti diretti con i rappresentanti italiani nelle varie organizzazioni europee e con i membri delle istituzioni italiane che hanno competenza in questo campo. A tale riguardo, è opportuno ricordare che l'ISS,

l’AIFA ed il Centro Nazionale Trapianti (CNT) collaborano ad un tavolo comune per tutto ciò che riguarda la produzione e la sperimentazione di prodotti medicinali innovativi. Le informazioni saranno quindi messe a disposizione dei membri della rete, sotto forma di comunicati, linee guida e copie dei documenti originali, attraverso i siti web dell’AIFA e dell’ISS e in aggiunta attraverso un sito dedicato del tavolo comune ISS-AIFA-CNT in corso di costruzione. Il sito della rete la cui implementazione è prevista nell’ambito delle attività del WP1 verrà altresì utilizzato a tale scopo.

Le attività di diffusione delle informazioni tecnico-regolatorie saranno svolte in stretta collaborazione con l’UO di questo WP dedicata all’organizzazione di corsi di formazione.

- b) La diffusione delle informazioni regolatorie sulle procedure autorizzative. Gli iter burocratici generali saranno messi a disposizione sotto forma elettronica attraverso i siti istituzionali dell’AIFA e dell’ISS, e attraverso il sito della rete. Ulteriori informazioni di natura specifica, legate alla tipologia di prodotto e alla classificazione di natura regolatoria in funzione del tipo di prodotto e del suo utilizzo saranno date in modo individuale in risposta alle domande degli appartenenti alla rete, utilizzando gli esperti dell’ISS e dell’AIFA.
- c) Informazioni sulle risorse interne del network. La UO 3 di questo WP si prefigge uno studio di fattibilità per l’identificazione di eventuali centri di riferimento per controlli di qualità particolari o per la produzione di specifici prodotti allo scopo di ottimizzare la produttività della rete e di limitare i costi e le duplicazioni. L’ufficio provvederà alla preparazione di un elenco di controlli qualità validati e ritenuti accettabili dalle autorità competenti e delle strutture autorizzate. Tale elenco verrà reso disponibile ai membri della rete ed aggiornato con cadenza semestrale allo scopo di incrementare la collaborazione fra i membri della rete.
- d) preparazioni di documenti per il riconoscimento ufficiale degli studi di validazione condotti dalle UO 4-5-6-7. Le attività delle UO 4, 5, 6 e 7 consistono nella preparazione e svolgimento di studi di convalida per metodiche di controllo di qualità specifiche o di operazioni richieste dai membri della rete ed indicate come necessarie per tutte o gran parte delle procedure di produzione. A mano a mano che i risultati di validazione saranno resi disponibili sarà compito dell’ufficio analizzarli e preparare una richiesta formale da sottoporre alle autorità competenti allo scopo di rendere i metodi di convalida sviluppati dalla rete accettabili come standard nazionali ed eventualmente europei. Questa attività sarà svolta in stretta collaborazione con i responsabili delle UO 4, 5, 6 e 7.

RISORSE UMANE

Personale dedicato alle attività del progetto (in mesi-uomo):

- | | |
|---|--|
| 1. tipologia: (interna/esterna) interno
competenza: biologo
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Dirigente di Ricerca

mesi-uomo dedicati: 3 |
| 2. tipologia: (interna/esterna) interno
competenza: biologo
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Primo Ricercatore

mesi-uomo dedicati: 3 |
| 3. tipologia: (interna/esterna) interno
competenza: biologo
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Primo Ricercatore

mesi-uomo dedicati: 3 |
| 4. tipologia: (interna/esterna) esterno
competenza: attività di segreteria
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: CAER

mesi-uomo dedicati: 12 |

COMPOSIZIONE DEI COSTI DELL'UNITÀ OPERATIVA

<u>Voci di costo e breve descrizione</u>	<u>Totale</u> EURO	<u>di cui a carico dei fondi ministeriali</u> EURO
1. Personale dipendente	45.000	NULLA
2. Personale a contratto/consulenza/borsa di studio <i>responsabile per la comunicazione</i> <i>segreteria</i>	27.000	27.000
3. Missioni <i>partecipazione a congressi e corsi</i>	4.000	4.000
4. Attrezzature (solo a noleggio o leasing): <i>materiale elettronico per la comunicazione</i>	3.500	3.500
5. Materiale di consumo <i>Materiale di diffusione, cancelleria</i>	5.000	5.000
6. Pubblicazioni / organizzazione convegni, ecc. <i>relazioni, comunicati, depliant, articoli ed inserzioni</i> <i>su giornali scientifici</i>	2.500	2.500
7. Elaborazione dati (specificare) <i>Analisi della legislazione europea</i> <i>Analisi dei regolamenti e delle prassi correnti nei</i> <i>paesi della comunità Europea</i> <i>Raccolta di stampa e di letteratura scientifica pertinente</i>	3.000	3.000
8. Spese generali delle strutture coinvolte (specificare)	-	-
TOTALE	90.000	45.000

Curriculum Vitae del Responsabile Scientifico dell’Unità Operativa

(max 1 pagina)

Dr. Giovanni Migliaccio

Data di nascita: 24 ottobre, 1951

Luogo di nascita: Ischia (Napoli), Italia

Residenza: Via Sabina, s.n.c. Villa Adriana (Roma) 00010 , Italia

Laurea in Scienze Biologiche (110/110 cum laude) Istituto di Zoologia, Università di Napoli, Napoli, Italia	1972-76
Dirigente di Ricerca, Dipartimento di Biologia Cellulare e Neuroscienze, Istituto Superiore di Sanità, Roma – Italia	dal 2004

Incarichi Speciali:

Esperto per le Buone Pratiche di Laboratorio per le Colture Cellulari, Ministero della Sanità	dal 1997
Membro del Gruppo per la preparazione delle Linee Guida per le Terapie Cellulari, Istituto Superiore di Sanità	1997
Membro del Gruppo per la preparazione delle Linee Guida per le Terapie Cellulari, Comitato Bioetico del Gabinetto del Primo Ministro	1999
Member of the drafting group for the Cell Therapy Guidelines for EMEA, London UK	1999-2000
Membro del Comitato per la Sperimentazione Clinica della Agenzia Italiana Farmaci (AIFA)	dal 2001
Direttore del Gruppo per la preparazione delle Linee Guida per le Terapie Cellulari, Istituto Superiore di Sanità	2003
Member of the Cell Therapy Group of the European Pharmacopeia	dal 2003
Member of the Cell Product Working Party of the European Medicines Agency (EMA, London UK)	dal 2005
Membro della Commissione per l’autorizzazione della sperimentazione clinica di Fase I per i medicinali di nuova istituzione, Istituto Superiore di Sanità	dal 2005
Direttore del Reparto “Terapia Genica e Cellulare” Istituto Superiore di Sanità	dal 2004
Membro della Commissione di valutazione dei progetti clinici per le Malattie Orfane, AIFA	2006-2007
Membro della Commissione “Cellule staminali emopoietiche da cordone ombelicale”	dal 2007

Referenze selezionate

- Ghinassi, B., Sanchez, M., Martelli, F., Amabile, G., Vannucchi, A. M., Migliaccio, G., Orkin, S. H., and Migliaccio, A. R. The hypomorphic Gata1low mutation alters the proliferation/differentiation potential of the common megakaryocytic-erythroid progenitor. *Blood*, **109**, 1460-71, **2007**.
- Sanchez, M., Weissman, I. L., Pallavicini, M., Valeri, M., Guglielmelli, P., Vannucchi, A. M., Migliaccio, G., and Migliaccio, A. R. Differential amplification of murine bipotent megakaryocytic/erythroid progenitor and precursor cells during recovery from acute and chronic erythroid stress. *Stem Cells*, **24**: 337-348, **2006**.
- Martelli, F., Ghinassi, B., Panetta, B., Alfani, E., Gatta, V., Pancrazzi, A., Bogani, C., Vannucchi, A.M., Paoletti, F., Migliaccio, G. and Migliaccio, A.R. Variegation of the phenotype induced by the Gata1low mutation in mice of different genetic backgrounds. *Blood*, **106**, 4102-13, **2005**
- Migliaccio, A.R., Alfani, E., Di Giacomo, V., Cieri, M. and Migliaccio, G. Ex vivo amplification of T cells from human cord blood. *Pathol Biol (Paris)*, **53**, 151-8, **2005**
- di Giacomo V, Matteucci A, Stellacci E, Battistini A, Di Baldassarre A, Capitani S, Alfani E, Migliaccio AR, Cocco L, Migliaccio, G. Expression of signal transduction proteins during the differentiation of primary human erythroblasts, *J Cell Physiol*, **202**: 831-838, **2004**
- Sanchez, M., Alfani, E., Migliaccio, A.R., Migliaccio, G.: Amplification of T cells from human cord blood in serum-deprived culture stimulated with stem cell factor, interleukin-7 and interleukin-2. *Bone Marrow Transplantation*. **31**,
- Migliaccio, G., Di Pietro, R., di Giacomo, V., Di Baldassarre, A., Migliaccio, A.R., Maccioni, L., Galanello, R., Papayannopoulou, T.: In vitro mass production of human erythroid cells from the blood of normal donors and of thalassemic patients. *Blood Cells Mol Dis*. **28**, 169-180, **2002**
- Migliaccio, A.R., Campisi, S., Migliaccio, G. Standardization of progenitor cell assay for cord blood banking. *Ann Ist Super Sanità*. **37**, 595-600, **2002**

UNITÀ OPERATIVA 14: Organizzazione di corsi di formazione, in collaborazione con AIFA, finalizzati alla qualificazione professionale di giovani ricercatori e operatori afferenti alle strutture GMP e agli IRCCS.

WORK PACKAGE 5. Supporto alla realizzazione di una rete di laboratori GMP per la produzione di prodotti medicinali avanzati (Responsabile: Giovanni Migliaccio).

RESPONSABILE SCIENTIFICO: nominativo: **DOTT.SSA MARIA CRISTINA GALLI**

struttura di appartenenza: Istituto Superiore di Sanità, Dip. Biol. Cellulare e Neuroscienze funzione: Group Leader

indirizzo : Viale Regina Elena, 299 Roma 00161

N. tel: 06-4990-2780

N. fax: 06-4990 2530

indirizzo E-mail: mc.galli@iss.it

RAPPRESENTANTE LEGALE: nominativo: PROF. ENRICO GARACI

CONTRIBUTO SPECIFICO FORNITO AL PROGETTO (max 20 righe)

La sperimentazione clinica di farmaci innovativi è un campo altamente regolato con requisiti specifici dettati da direttive europee come la 2001/20/CE e da decreti nazionali, i cui contenuti sono generalmente assenti dai programmi universitari o dai corsi di formazione in ambito medico. Per promuovere la realizzazione di sperimentazioni cliniche innovative ad elevato potenziale di ricaduta per la terapia del cancro è necessario diffondere la conoscenza dei requisiti regolatori, in modo da permettere lo sviluppo e l'utilizzo ottimale delle risorse nel settore delle bioterapie antitumorali, sia in termini di strutture sia in termini di operatori.

Lo scopo è sviluppare forme di cooperazione e sinergismo funzionali alla massima promozione di tali sperimentazioni cliniche, consentendo l'avvio di programmi multicentrici sia di sperimentazione clinica sia di convalida di metodi e materiali, al fine di mantenere una massima efficienza di servizio per gli utenti, contenendo i costi e garantendo i requisiti di sicurezza per i pazienti.

Il contributo di questa UO comprende l'organizzazione di corsi di formazione, in collaborazione con AIFA, per la qualificazione professionale di giovani ricercatori e operatori afferenti alle strutture di produzione GMP e agli IRCCS. I corsi saranno dedicati alla formazione generale e specifica per la fabbricazione e per lo sviluppo del medicinale per bioterapia. Sarà inoltre favorita la formazione pratica attraverso brevi stage presso aziende certificate per la fabbricazione di medicinali per bioterapia.

METODOLOGIA (max 50 righe)

La formazione è destinata agli operatori delle strutture di produzione GMP e degli IRCCS.

Si organizzeranno 1-3 corsi con cadenza annuale strutturati in lezioni frontali, seminari ed esercitazioni di apprendimento. I corsi si svolgeranno in ISS, con la partecipazione come docenti di personale ISS e AIFA.

Gli argomenti verteranno su:

- i) formazione generale: principi e campi di applicazione delle buone pratiche di fabbricazione (GMP), buone pratiche di laboratorio (GLP) e buone pratiche cliniche (GCP)
- ii) formazione specifica per la fabbricazione del medicinale per bioterapia: caratteristiche delle strutture di produzione; assicurazione della qualità; convalide e qualifiche di apparecchiature e sistemi; controllo della produzione; controlli di qualità sui prodotti; convalide di metodi e pulizie
- iii) formazione specifica per lo sviluppo del medicinale per bioterapia: cornice regolatoria italiana ed europea; linee guida applicabili; dossier per sperimentazione clinica e dossier per registrazione; requisiti chimico-biologico-farmaceutici applicabili; studi preclinici; sperimentazione clinica
- iv) formazione pratica: brevi stage (3-6 mesi) presso aziende certificate per la fabbricazione di medicinali per bioterapia

Per il punto iv), si prevede che le proposte siano presentate ad una commissione interna al presente progetto, con selezione dei candidati e contributo finanziario all'esecuzione dello stage; si prevedono 3-5 stage/anno.

R RISORSE UMANE

Personale dedicato alle attività del progetto (in mesi-uomo):

- | | |
|--|--|
| 1. tipologia: (interna/esterna) interna
competenza: biologo
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Dirigente di Ricerca

mesi-uomo dedicati: 2 |
| 2. tipologia: (interna/esterna) interna
competenza: biologo
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Primo Ricercatore

mesi-uomo dedicati: 3 |
| 3. tipologia: (interna/esterna) interna
competenza: biologo
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Primo Ricercatore

mesi-uomo dedicati: 6 |

COMPOSIZIONE DEI COSTI DELL'UNITÀ OPERATIVA

<u>Voci di costo e breve descrizione</u>	<u>Totale</u> EURO	<u>di cui a carico dei fondi ministeriali</u> EURO
1. Personale dipendente	47.000	NULLA
2. Personale a contratto/consulenza/borsa di studio	0	0
3. Missioni <i>3-5 stage/anno</i>	9.000	9.000
4. Attrezzature (solo a noleggio o leasing):	0	0
5. Materiale di consumo	9.000	9.000
6. Pubblicazioni / organizzazione convegni, ecc. <i>Materiale didattico (CD, pubblicazioni, ecc.) 2-4 docenti dall'AIFA</i>	22.000	22.000
7. Elaborazione dati (specificare)	0	0
8. Spese generali delle strutture coinvolte (specificare)	0	0
TOTALE	87.000	40.000

Curriculum Vitae del Responsabile Scientifico dell’Unità Operativa (max 1 pagina)
(PERIODO DI RIFERIMENTO: ULTIMI 5 ANNI; INDICARE ANCHE LE 10 PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE RITENUTE PIÙ SIGNIFICATIVE, CON PARTICOLARE RIFERIMENTO A QUELLE DELL’AREA TEMATICA SCIENTIFICA SULLA QUALE INSISTE IL PROGETTO)

Dott.ssa Maria Cristina Galli

Nata in Ancona il 7-11-1953

Studi

1976 Laurea in Scienze Biologiche con lode, Università di Bologna

1988 Dottore in Ricerca con lode, Dottorato in Medicina Sperimentale, I ciclo, Università di Roma “La Sapienza”

Posizione attuale

Primo Ricercatore del Laboratorio di Biologia Cellulare, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Commissioni nazionali

Esperto della Commissione per l’accertamento dei requisiti dei medicinali di nuova istituzione, per la qualità dei medicinali biotecnologici e in particolare di quelli di terapia genica

Membro della Commissione Permanente per la Farmacopea Ufficiale Italiana

Membro della Commissione di Valutazione delle Biotecnologie, per l’uso confinato dei Microrganismi Geneticamente Modificati (MOGM)

Commissioni europee

Rappresentante per l’Italia nel CHMP Gene Therapy Working Party, European Medicine Evaluation Agency (EMA)

Rappresentante per l’Italia nel Working Group on Gene Therapy, European Pharmacopoeia, European Department for the Quality of Medicines (EDQM)

Attività regolatoria

Terapia genica: esperto di qualità per le procedure nazionali di autorizzazione della sperimentazione clinica e per le procedure europee di autorizzazione all’immissione in commercio, linee guida nazionali ed europee

MOGM: aspetti regolatori dell’uso confinato

Attività ispettiva

Ispettore senior per buone pratiche di fabbricazione (GMP), in particolare per farmaci biotecnologici e terapie innovative sperimentali

Esperto per buone pratiche di laboratorio (GLP) nel campo delle biotecnologie

Auditor europeo ed esperto per le norme ISO 17025

Linee guida e altri documenti con valenza regolatoria curati dalla dr.ssa Galli

- i) “Linee guida sulla sperimentazione clinica di fase I con medicinali sperimentali per terapia genica somatica”; Notiziario dell’Istituto Superiore di Sanità, luglio/agosto 2004
- ii) “Linee guida per l’attuazione di un sistema di assicurazione della qualità in un laboratorio di prova”; Rapporti ISTISAN 2006
- iii) Gene transfer medicinal products for human use, general chapter 5.14, Eu.Ph. suppl.5.6, 2006
- iv) Farmacopea Europea: guida alla traduzione e glossario di termini utilizzati nelle monografie dei prodotti biologici e relativi metodi. Strumenti di riferimento n.13, Istituto Superiore di Sanità, 1999.
- v) Norme di Buona Preparazione dei medicinali in farmacia, FU XI, 2002
- vi) Norme di Buona Preparazione dei radiofarmaci nei centri di Medicina Nucleare, FU XI, 1° supplemento, 2006

UNITÀ OPERATIVA 15: Studio di fattibilità per l'identificazione di possibili laboratori di riferimento per la produzione di bioterapici e per l'esecuzione di test analitici validati.

WORK PACKAGE 5. Supporto alla realizzazione di una rete di laboratori GMP per la produzione di prodotti medicinali avanzati. (Responsabile: Giovanni Migliaccio)

RESPONSABILE SCIENTIFICO: nominativo: **DOTT. RUGGERO RIDOLFI**

struttura di appartenenza : Istituto Scientifico per lo Studio e la Cura dei Tumori (IRST)

funzione: Direttore

indirizzo : via Piero Maroncelli 34/36, (47014) Meldola, Forlì (FC)

N. tel: 0543 – 733948

N. fax: 0543 – 731736

indirizzo E-mail: r.ridolfi@ausl.fo.it

RAPPRESENTANTE LEGALE: nominativo: **DOTT. MASSIMO BUCCI**

CONTRIBUTO SPECIFICO FORNITO AL PROGETTO

I prodotti medicinali basati su cellule (CBMP) sono sottoposti alla legislazione per i prodotti farmaceutici. Esiste quindi la necessità di gestire tali prodotti secondo le condizioni GMP (DI 219/06). Il contributo di questa UO al progetto sarà rappresentato dalle attività di censimento delle strutture GMP per la produzione di CBMP, di identificazione di strutture di riferimento per specifici prodotti, e di proposizione di modelli organizzativi.

La condizione base secondo cui poter organizzare e facilitare l'accesso a laboratori con caratteristiche GMP è innanzitutto la realizzazione di un censimento specifico sul territorio nazionale. Una ricognizione delle strutture attive o in divenire potrà infatti consentire di avere un quadro di insieme delle potenzialità di copertura dell'intero territorio. Sarà importante identificare le caratteristiche delle singole strutture sulla base del tipo di terapia: origine delle cellule (autologhe-allogeniche); abilità a proliferare; livello di manipolazione; combinazione con dispositivi medici. L'acquisizione della mappa delle strutture e delle singole potenzialità di produzione di CBMP consentirà poi di prospettare diversi modelli organizzativi:

1. un quadro con singoli centri ben distribuiti nel territorio a cui il paziente fa riferimento
2. un quadro secondo il modello di “hub and spoke” con centro di riferimento (hub) per una o più modalità di produzione di CBMP e piccoli laboratori periferici (spoke) per lo stoccaggio e la somministrazione delle terapie.

I due modelli potrebbero coesistere a seconda delle potenzialità e delle necessità delle singole strutture e dei protocolli clinici.

METODOLOGIA

A) Censimento delle strutture. Si propone di approfondire in modo mirato i dati ottenuti dal questionario realizzato dall'ISS nell'ambito del NIBIT. Il contatto diretto con i responsabili delle singole strutture che si sono proposte consentirà di raccogliere dati specifici circa le caratteristiche di produzione attuale e le potenzialità e prospettive di produzione di CBMP a breve termine. Un eventuale allargamento del censimento per raccogliere informazioni su altre strutture presenti o in progettazione potrebbe essere eseguito in collaborazione con l'Associazione Italiana di Oncologia Medica (AIOM) e AIFA. La raccolta dei dati potrà consentire una mappatura delle potenzialità di copertura del territorio nazionale.

B) Identificazione delle caratteristiche delle strutture. Le caratteristiche fisiche delle strutture dei laboratori per la produzione di CBMP sono definite nell'annex 1 del vol.4 delle GMP. Sulla base del tipo di prodotto terapeutico si potrebbero distinguere tre tipologie di laboratori:

1. laboratorio che preveda la coltura di cellule geneticamente modificate;
2. laboratorio per la coltura di cellule manipolate, attivate e/o espanse, e che preveda l'uso di materiale autologo o eterologo, fresco e/o criopreservato, e la eventuale coniugazione con dispositivi medici;
3. laboratorio con attività “a circuito chiuso” per purificazione, attivazione ed espansione cellulare.

I tre tipi di laboratorio dovranno essere definiti per dimensione delle strutture, numerosità del personale e conseguente potenzialità di produzione.

C) Identificazione di laboratori di riferimento e di modelli organizzativi. Sulla base dei dati ottenuti dalle attività descritte ai punti precedenti, sarà possibile ipotizzare la distribuzione delle terapie sul territorio nazionale. La mappatura potrebbe fornire un quadro che preveda strutture autonome in grado di fornire le diverse terapie in maniera sufficientemente omogenea, oppure potrebbe essere ipotizzata, anche solo parzialmente, in aree regionali o macroregionali, l'organizzazione secondo il modello “hub and spoke”. Il laboratorio “spoke” potrebbe essere identificato come struttura

fisica non GMP, ma condotto da personale addestrato e qualificato dal proprio “hub”. Tale struttura dovrebbe essere in condizione di: a) mantenere in stoccaggio il prodotto finito; b) eseguirne correttamente lo scongelamento; c) inviare il prodotto al sito clinico di somministrazione secondo procedure di trasporto e trasferimento dei prodotti validate e standardizzate.

RISORSE UMANE

Personale dedicato alle attività del progetto (in mesi-uomo):

- | | |
|--|---|
| 1. tipologia: (interna/esterna) interna
competenza: Medico
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Direttore UO

mesi-uomo dedicati: 3 (1 mese/anno) |
| 2. tipologia: (interna/esterna) interna
competenza: Biologo
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Direttore Laboratorio GMP

mesi-uomo dedicati: 3 (1 mese/anno) |
| 3. tipologia: (interna/esterna) esterna
competenza: Datamanager
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Biologo o Statistico

mesi-uomo dedicati: 9 |

COMPOSIZIONE DEI COSTI DELL'UNITÀ OPERATIVA

Voci di costo e breve descrizione	Totale EURO	di cui a carico dei fondi ministeriali EURO
1. Personale dipendente <i>2 Dirigenti medici, 1 dirigenti biologo e 1 tecnico laboratorio</i>	37000	NULLA
2. Personale a contratto/consulenza/borsa di studio <i>2 borsisti biologi e 1 tecnico di laboratorio</i>	33000	33000
3. Missioni	2000	2000
4. Attrezzature (solo a noleggio o leasing):	0	0
5. Materiale di consumo <i>Materiale disposable, tetrameri, peptidi, anticorpi, radioattivo, kit ELISA, etc.</i>	0	0
6. Pubblicazioni / organizzazione convegni, ecc.	3000	3000
7. Elaborazione dati (specificare)	0	0
8. Spese generali delle strutture coinvolte (specificare)	2000	2000
TOTALE	77000	40000

Curriculum Vitae del Responsabile Scientifico dell’Unità Operativa
(PERIODO DI RIFERIMENTO: ULTIMI 5 ANNI; INDICARE ANCHE LE 10 PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE RITENUTE PIÙ SIGNIFICATIVE, CON PARTICOLARE RIFERIMENTO A QUELLE DELL’AREA TEMATICA SCIENTIFICA SULLA QUALE INSISTE IL PROGETTO)

Date and place of birth: 04.02.1949, Forlì (FC), Italy

QUALIFICATIONS

- Degree in General Medicine and Surgery from the University of Bologna in 1974.
- Specialization in Oncology obtained from the University of Genoa in 1979.
- Specialization in Endocrinology obtained from the University of Florence in 1982.

PROFESSIONAL WORK EXPERIENCE

- 1977-1987: Full-time physician in the Oncology Unit of GB Morgagni-L Pierantoni Hospital in Forlì.
- 1987 onwards: Senior oncologist in the Dept. of Medical Oncology, Pierantoni Hospital, Forlì.
- 1990-1996: Coordinator of the Oncology Biotherapy Unit.
- 1998 - 2005: Coordinator of the Oncology Day Hospital and Innovative Therapies Unit.
- 2005 - onwards: Coordinator of the Medical Oncology Unit, Pierantoni Hosp. Forlì

TRAINING PERIODS

- February 1981: National Cancer Institute of Milan
- May 1990: National Cancer Institute (Surgery Branch – Prof. S.A. Rosenberg), Bethesda (MD), U.S.A.
- November 1991: Cancer Center, Pittsburgh (PA), U.S.A.
- Participant in 13 training courses in different Italian institutes.

DIDACTIC ACTIVITY

- 1977-1981: Lecturer in General Pathology at the School of Nursing, Pierantoni Hospital, Forlì.
- 1985: Lecturer in Oncology Training Course for Casualty Department physicians in Forlì.
- 1993 onwards: Lecturer in Oncology at the University of Ferrara.
- Lecturer at 15 national courses in Oncology.

SCIENTIFIC APPOINTMENTS

- Joint researcher of the ACRO 93 Project (Subproject 7) of the National Research Council (CNR).
- 1991 onwards: Chairman of Immunological Therapies at *Istituto Oncologico Romagnolo*.
- 1998 - 2004: President of the Italian Melanoma Intergroup (IMI).

SCIENTIFIC PUBLICATIONS

- Author of 75 scientific Abstracts.
- Author of 113 scientific articles in Italian and English.

CONGRESS ACTIVITIES

- Member of the Scientific Secretariat of 25 congresses.
- Speaker at 85 National and International congresses.

MEMBERSHIP OF NATIONAL AND INTERNATIONAL SCIENTIFIC ASSOCIATIONS

- American Society of Clinical Oncology (ASCO)
- European Society of Medical Oncology (ESMO)
- Cancer Immunotherapy (CIMT)
- Italian Association of Medical Oncology (AIOM)
- Italian Society of Cancerology (SIC)
- Italian Melanoma Intergroup (IMI)
- Network Italiano per le Bioterapie dei Tumori (NIBIT)
- International Society for Biological Therapy of cancer (iSBTc)
- Nordic Center of Excellence for development of antitumor Vaccine concepts (NCEV)

PUBLICATIONS

Ridolfi R, Petrini M, Fiammenghi L, Stefanelli M, Ridolfi L, Ballardini M, Migliori G, Riccobon A. Improved overall survival in dendritic cell vaccination-induced immunoreactive subgroup of advanced melanoma patients. *J Transl Med.* 2006 Aug 16;4:36.

Guida M, Riccobon A, Biasco G, Ravaioli A, Casamassima A, Freschi A, Palma MD, Galligioni E, Nortilli R, Chiarion-Sileni V, Picozzo J, Romanini A, Nanni O, Ridolfi R; Italian Melanoma Intergroup (IMI). Basal level and behaviour of cytokines in a randomized outpatient trial comparing chemotherapy and biochemotherapy in metastatic melanoma. *Melanoma Res.* 2006 Aug;16(4):317-23.

Chiarion-Sileni V, Del Bianco P, Romanini A, Guida M, Paccagnella A, Dalla Palma M, Naglieri E, Ridolfi R, Silvestri B, Michiara M, De Salvo GL. Tolerability of intensified intravenous interferon alfa-2b versus the ECOG 1684 schedule as adjuvant therapy for stage III melanoma: a randomized phase III Italian Melanoma Inter-group trial (IMI - Mel.A.) *BMC Cancer.* 2006 Feb 27;6:44.

Ridolfi R, Romanini A, Sileni VC, Michiara M, Guida M, Biasco G, Poletti P, Amaducci L, Leoni M, Ravaioli A. Temozolomide and interferon-alpha in metastatic melanoma: a phase II study of the Italian Melanoma Intergroup. *Melanoma Res.* 2004 Aug;14(4):295-9.

Ridolfi R, Riccobon A, Galassi R, Giorgetti G, Petrini M, Fiammenghi L, Stefanelli M, Ridolfi L, Moretti A, Migliori G, Fiorentini G. Evaluation of in vivo labelled dendritic cell migration in cancer patients. *J Transl Med.* 2004 Jul 30;2(1):27.

Gardini A, Ercolani G, Riccobon A, Ravaioli M, Ridolfi L, Flamini E, Ridolfi R, Grazi GL, Cavallari A, Amadori D. Adjuvant, adoptive immunotherapy with tumor infiltrating lymphocytes plus interleukin-2 after radical hepatic resection for colorectal liver metastases: 5-year analysis. *J Surg Oncol.* 2004 Jul 15;87(1):46-52.

Ridolfi R, Ridolfi L, Petrini M, Fiammenghi L, Riccobon A. Dendritic cell vaccination and immunostimulation in advanced melanoma. *Expert Rev Vaccines.* 2003 Dec;2(6):825-33. Review.

Guida M, Ravaioli A, Sileni VC, Romanini A, Labianca R, Freschi A, Brugnara S, Casamassima A, Lorusso V, Nanni O, Ridolfi R. Fibrinogen: a novel predictor of responsiveness in metastatic melanoma patients treated with bio-chemotherapy: IMI (italian melanoma inter-group) trial. *J Transl Med.* 2003 Dec 22;1(1):13.

Chiarion-Sileni V, Del Bianco P, De Salvo GL, Lo Re G, Romanini A, La bianca R, Nortilli R, Corgna E, Dalla Palma M, Lo Presti G, Ridolfi R; Italian Melanoma Intergroup (IMI). Quality of life evaluation in a randomised trial of chemotherapy versus bio-chemotherapy in advanced melanoma patients. *Eur J Cancer.* 2003 Jul;39(11):1577-85.

Ridolfi R, Tanganelli L, Scelzi E, Manente P, Palmeri S, Ravaioli A, Fiammenghi L, Romanini A; Italian Melanoma Intergroup. Chemotherapy and bio-chemotherapy in patients with advanced melanoma: combination therapy with a nitrosourea. *J Chemother.* 2003 Apr;15(2):198-202.

UNITÀ OPERATIVA 16: Convalida di metodiche per individuare la contaminazione da micoplasma di prodotti per terapia cellulare

WORK PACKAGE 5. Supporto alla realizzazione di una rete di laboratori GMP per la produzione di prodotti medicinali avanzati (Responsabile: Giovanni Migliaccio).

RESPONSABILE SCIENTIFICO: nominativo: **DOTT.SSA BARBARA PARODI**

struttura di appartenenza : Struttura Semplice Banca Biologica e Cell Factory funzione: Responsabile

indirizzo : L.go Rosanna Benzi, 10 16132 Genova

N. tel:010 5737474

N. fax:010 5737293

indirizzo E-mail: barbara.parodi@istge.it

RAPPRESENTANTE LEGALE: nominativo: DOTT. GIANFRANCO CIAPPINA

CONTRIBUTO SPECIFICO FORNITO AL PROGETTO (max 20 righe)

La Banca Cellule (ora denominata Banca Biologica e Cell Factory - BBC) è una core facility dell'IST, operativa dal 1994. Fin dall'inizio BBC ha operato secondo le regole delle GLP, e ha ottenuto la certificazione ISO9002 nel 2000. Uno degli aspetti qualificanti dell'attività di BBC è il controllo di qualità per quanto riguarda la contaminazione da micoplasma delle linee cellulari e dei campioni biologici, effettuato regolarmente, sia per le linee in catalogo che per i ricercatori, con due diverse metodiche: PCR e fluorescenza. Anche se la coltura su agar (che richiede un'incubazione di 21 giorni) è, insieme alla fluorescenza, il metodo riportato in farmacopea per il micoplasma (European Pharmacopoeia, 2.6.7), è sempre più chiara in letteratura l'evidenza della maggiore sensibilità della PCR, che permette di individuare una contaminazione iniziale, oltre alla contaminazione da parte di ceppi di micoplasma non coltivabili (J. Immunol. Methods, 1993; 164:91; Methods Mol. Biol. 2005; 290:13). L'allestimento all'IST di una “cell factory” richiede, per poter effettuare in sicurezza i test sui prodotti per terapia cellulare, la formale convalida dei metodi, che permetta di proporli in modo ufficiale per l'uso in GMP. BBC si propone di allestire un laboratorio di controllo di qualità dedicato, adeguato alle colture per uso terapeutico, che sia in grado di svolgere questo servizio per la cell factory dell'IST, per la rete di strutture GMP di Alleanza contro il cancro, e in prospettiva per tutte le strutture pubbliche impegnate in protocolli clinici di terapia cellulare.

La convalida dei metodi implica la valutazione dei dati ottenuti negli anni (diverse centinaia di test in parallelo) e dei parametri di specificità, linearità, range, accuratezza, precisione, limite quantitativo di *detectability*, robustezza, compatibilità generale.

Le procedure di convalida elaborate nel presente progetto potranno funzionare come modello per la convalida di altri metodi di controllo di qualità di colture cellulari per uso terapeutico.

METODOLOGIA (max 50 righe)

Le attività di convalida elencate di seguito saranno effettuate in collaborazione con i partecipanti alla rete delle strutture GMP che hanno espresso interesse a questo particolare studio nelle risposte al questionario fatto circolare in preparazione di questo progetto.

Attività previste:

- Confronto tra i metodi indicati nella farmacopea europea e quelli utilizzati da BBC (fluorescenza con fluorocromo bisbenzimidide - Hoechst 33258 e cellule indicatrici, e PCR con pool di 9 primers capaci di riconoscere oltre 25 specie di micoplasma, tra cui le cinque responsabili di oltre il 95% delle contaminazioni di colture cellulari: *Mycoplasma. arginini*, *M. hyorinis*, *M. fermentans*, *M. orale*, *Acholeplasma laidlawii*).
- Revisione delle procedure operative standard relative ai test per micoplasma in fluorescenza e PCR, ed eventuale ottimizzazione anche sulla base della letteratura.
- Analisi della correlazione tra test in fluorescenza e test PCR su linee cellulari e campioni biologici attraverso i risultati dei test effettuati in parallelo nei tredici anni di attività della banca cellule: verifica delle eventuali incongruenze, dei falsi positivi, dei falsi negativi.
- Redazione del protocollo di convalida:
 - a) definizione delle modalità di valutazione dei parametri da tenere in considerazione per la convalida di test analitici:
 - specificità (capacità di identificare inequivocabilmente l'analita),
 - linearità (capacità di fornire risultati proporzionali all'analita di riferimento),
 - range (intervallo entro cui il test è affidabile),

- accuratezza (vicinanza tra il valore accettato come vero e il valore trovato: veri positivi + veri negativi / numero totale di casi),
 - precisione (grado di scatter tra una serie di misure effettuate mediante campionamenti multipli),
 - limite quantitativo di *detectability* (limite inferiore di concentrazione misurabile con precisione),
 - robustezza (capacità di sopportare modifiche sperimentali),
 - compatibilità generale (possibilità di effettuare il test);
- b) descrizione del sistema biologico e del test da effettuare per la convalida, numero di ripetizioni del test, variabilità o scostamento dai valori attesi.
- Valutazione del protocollo di convalida da parte delle Autorità Ispettive.
 - Individuazione e acquisizione, presso istituzioni europee accreditate, dei ceppi di micoplasma di riferimento previsti nel protocollo di convalida, in quanto adeguati in relazione all'uso previsto (es. A. laidlawii, M. hyorinis, M. orale, M. pneumoniae, M. fermentans, M. synoviae, ...).
 - Allestimento del laboratorio dedicato di controllo di qualità, verifica della strumentazione, revisione e/o stesura delle procedure operative standard.
 - Addestramento del personale assegnato all'attività di controllo di qualità: corsi interni ed esterni sugli aspetti tecnici e regolatori del controllo di qualità per prodotti di terapia cellulare, eventuale breve stage presso il DSMZ (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen, DE).
 - Esecuzione delle prove di convalida del test in fluorescenza.
 - Esecuzione delle prove di convalida del test PCR sugli stessi campioni.
 - Esecuzione dei test da parte delle altre istituzioni coinvolte nel progetto utilizzando i protocolli oggetto di convalida.
 - Invio di un pannello di campioni alle banche Europee della rete CABRI (Common Access to Biological Resources and Information) ECACC (European Collection of Animal Cell Cultures, UK) e DSMZ, e all'Istituto Zooprofilattico della Lombardia ed Emilia Romagna per l'effettuazione del test colturale e un ulteriore controllo dei risultati di fluorescenza e PCR.
 - Individuazione della specie / ceppo di micoplasma nel caso di positività dei test.
 - Analisi dei risultati e stesura del report finale di convalida.
 - Valutazione del report di convalida da parte delle Autorità Ispettive.
 - Pubblicazione dei risultati dell'attività di convalida.
 - Adeguamento del laboratorio all'attività per la rete di strutture GMP di Alleanza contro il cancro, e accreditamento.
 - Attivazione del servizio di controllo micoplasma per la rete di strutture GMP di Alleanza contro il cancro.

Un documento conclusivo con la descrizione della metodica, ed i risultati della convalida saranno forniti alla UO 2 per la sottomissione alle autorità competenti.

RISORSE UMANE

Personale dedicato alle attività del progetto (in mesi-uomo):

- | | |
|---|---|
| 1. tipologia: (interna/esterna) interna
competenza: medico, biobanche
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Responsabile S. S.

mesi-uomo dedicati: 3 |
| 2. tipologia: (interna/esterna) interna
competenza: biologo, responsabile controllo qualità
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Dirigente Sanitario

mesi-uomo dedicati: 6 |
| 3. tipologia: (interna/esterna) _interna
competenza: biologo, responsabile assicurazione qualità
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Dirigente Sanitario

mesi-uomo dedicati: 3 |
| 4. tipologia: (interna/esterna) interna
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Tecnico di laboratorio
mesi-uomo dedicati: 6 |
| 5. tipologia: (interna/esterna) esterna
competenza: tecnico di laboratorio, convalide
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Tecnico di laboratorio a contratto

mesi-uomo dedicati: 18 |

COMPOSIZIONE DEI COSTI DELL'UNITÀ OPERATIVA

<u>Voci di costo e breve descrizione</u>	<u>Totale</u> EURO	<u>di cui a carico dei fondi ministeriali</u> EURO
1. Personale dipendente	114,000	NULLA
2. Personale a contratto/consulenza/borsa di studio	21.000	21.000
3. Missioni	2.500	2.500
4. Attrezzature (solo a noleggio o leasing):	0	0
5. Materiale di consumo	14.000	14.000
6. Pubblicazioni / organizzazione convegni, ecc.	0	0
7. Elaborazione dati (specificare)	0	0
8. Spese generali delle strutture coinvolte (specificare)	2.500	2.500
TOTALE	154.000	40.000

Curriculum Vitae del Responsabile Scientifico dell’Unità Operativa (max 1 pagina)
(PERIODO DI RIFERIMENTO: ULTIMI 5 ANNI; INDICARE ANCHE LE 10 PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE RITENUTE PIÙ SIGNIFICATIVE, CON PARTICOLARE RIFERIMENTO A QUELLE DELL’AREA TEMATICA SCIENTIFICA SULLA QUALE INSISTE IL PROGETTO)

Dott.ssa Barbara Parodi

Curriculum vitae e ruolo istituzionale

Barbara Parodi, nata a Genova il 22 marzo 1956. Nel 1983 laurea in Medicina e Chirurgia presso l’Università degli Studi di Genova. Dal 1994 al 2002 dirigente di I livello in ruolo presso il Servizio di Biotecnologie dell’IST, responsabile della Banca Cellule. Dal 2003 responsabile della Struttura Semplice Banca cellule e Colture in GMP, attualmente denominata Banca Biologica e Cell Factory.

Dal 1996 gestisce l’Autorità Internazionale di Deposito per linee cellulari ed ibridomi per motivi di brevetto, autorizzata sulla base di ispezione ministeriale. Qualifica di Auditor interno ISO 9000 nel 2000. Dal 2000 membro del Board della European Culture Collections’ Organization: Dal 2000 al 2006 Delegato del Ministro dell’Università e della Ricerca Scientifica nella Task Force for Biological Resource Centres (BRCs), partecipazione attiva alla compilazione delle OECD Best Practice Guidelines for Biological Resource centres. (2001); al 2004 Direttore Tecnico dei laboratori per colture in GMP dell’IST (decreto N. AIDT – 9/2004, L. 178/91) per la produzione di cellule per uso terapeutico secondo le norme GMP.

Attività di ricerca

Studio dell’interazione tra linfociti T e B nella risposta immune (supervisore Dr. Antonio Lanzavecchia), e successivamente organizzazione di banche dati e collezioni di linee cellulari: dal 1986 al 1990 la European Collection for Biomedical Research, collezione di linee B linfoblastoidi umane tipizzate per antigeni HLA, dal 1990 al 1993 il Cell Line Data Base (CLDB) e dal 1993 ad oggi la Banca Cellule dell’IST, collezione di linee cellulari umane ed animali.

Pubblicazioni

Autore di 60 comunicazioni a congressi e 35 pubblicazioni scientifiche su riviste nazionali e internazionali tra cui sono elencate quelle significative rispetto al progetto:

Romano P., Aresu O., Mannello M.A. and Parodi B. Interoperability of CABRI services and biochemical pathways databases. *Comparative and Functional Genomics* 2004; 5: 169 -172

Parodi B., Aresu O., Bini D., Lorenzini R., Schena F., Visconti P., Cesaro M., Ferrera D., Andreotti V., Ruzzon T. Species identification and confirmation of human and animal cell lines: a PCR based method. *Biotechniques*, 2002, 32:432 - 440

Parodi B., Aresu O., Visconti P., Maggi E., Parodi A., Ruzzon T. Authentication and quality control of cell lines at the interlab Cell Line Collection. In "Ersatz und Ergänzungsmethoden zu Tierversuchen" Springer, Vienna, 2000, p. 282/286

Parodi B., Aresu O., Visconti P., Cesaro M., Lorenzini R., Ruzzon T. The Interlab Cell Line Collection (ICLC). Stacey G. and Doyle A. eds, *Cell Banks: a service to animal cell technology*. In: *Encyclopedia of Cell Technology*, pp. 313-314, Editor in chief R. Spier, Wiley Interscience, New York 2000

Parodi B., Aresu O., Visconti P. Cesaro M., Lorenzini R., Schena F., Andreotti V., Ruzzon T. New methods for species identification of cell lines at the Interlab Cell Line Collection. *Proceedings of ECCO XIX, European Culture Collections’*, Paris, May 10-12, 2000

UNITÀ OPERATIVA 17: Centro di Medicina Trasfusionale, Terapia Cellulare e Criobiologia

WORK PACKAGE 5. Supporto alla realizzazione di una rete di laboratori GMP per la produzione di prodotti medicinali avanzati (Responsabile: Giovanni Migliaccio).

RESPONSABILE SCIENTIFICO: nominativo: **DOTT. PAOLO REBULLA**

struttura di appartenenza : Centro di Medicina Trasfusionale, Terapia Cellulare e Criobiologia, Dipartimento di Medicina Rigenerativa, Fondazione IRCCS Ospedale Maggiore Policlinico, Mangiagalli e Regina Elena

funzione: Direttore

indirizzo : via Francesco Sforza 35, 20122 Milano

N. tel: 02-5503-4021

N. fax: 02-5458129

indirizzo E-mail: prebulla@policlinico.mi.it

RAPPRESENTANTE LEGALE: nominativo: **DOTT. GIUSEPPE DI BENEDETTO**

CONTRIBUTO SPECIFICO FORNITO AL PROGETTO (max 20 righe)

Lo studio delle cellule staminali normali e neoplastiche ha aperto importanti prospettive di trattamento innovativo di alcune patologie per le quali non è oggi disponibile una terapia efficace. Benché siano numerosi in questo campo gli studi di laboratorio e nei modelli animali, le applicazioni cliniche sono gravate da numerose difficoltà per due principali ragioni: (1) la mancanza di laboratori GMP certificati e di personale qualificato per la preparazione dei prodotti per terapia cellulare; (2) la mancanza di procedure validate e condivise a livello nazionale che consentano il tempestivo trasferimento in rigorose condizioni controllate dei prodotti cellulari dal sito di produzione al reparto clinico di utilizzo. Tale disponibilità consentirebbe la preparazione di prodotti GMP per terapia cellulare presso siti di produzione distanti dal luogo di utilizzo. Una esperienza di successo di tale organizzazione è già operativa negli USA, ma le procedure di trasporto devono essere validate presso ogni unità che intenda farne uso.

Scopo di questa UO è validare una procedura di trasporto dei prodotti per terapia cellulare che consenta il mantenimento delle caratteristiche di elevata qualità dei prodotti preparati in condizioni GMP. Lo studio si compone delle seguenti fasi: (1) identificazione di materiali conformi ai requisiti GMP, con prevalente attenzione al mantenimento e alla documentazione del profilo termico predefinito dei prodotti trasportati; verranno impiegati prodotti certificati a livello internazionale; (2) definizione di una procedura di imballaggio conforme alle norme vigenti, in particolare le norme IATA; (3) identificazione di un dispositivo di registrazione della temperatura; (4) fase sperimentale locale presso il centro di coordinamento di monitoraggio della temperatura in condizioni statiche di conservazione del contenitore a temperatura ambiente di +20-24°C, a +4°C, a -20°C e a +37°C; (5) fase sperimentale di trasporto per 24 ore in automobile/aereo sul territorio nazionale; (6) controllo di qualità secondo GMP dei prodotti trasportati; (7) formalizzazione normativa della validazione della procedura.

METODOLOGIA (max 50 righe)

La metodologia utilizzata per conseguire la validazione della procedura di trasporto è descritta di seguito.

1. Definizione di ‘validazione’ (GMP Annex 15, Qualification and validation). Si intende per validazione: confirmation by examination and provision of objective evidence that particular requirements can consistently be fulfilled (FACT/JACIE International standards for cellular therapy product collection, processing, and administration; 3rd ed, 2007).
2. Classificazione dei materiali biologici da trasportare (infectious, dangerous cat A vs B, exemptions, ecc).
3. Definizione dei requisiti di identificazione, volume, temperatura e qualità dei prodotti all’inizio e al termine del trasporto.
4. Selezione dei materiali utilizzati per il trasporto (provette, sacche, sacchetti, contenitori leak-proof, scatole, etichette; dry shippers, scatole di polistirolo; ghiaccio secco, ecc). Valutazione delle certificazioni di conformità e dei costi di tali materiali.
5. Selezione del vettore (certificazioni, autorizzazioni, costi, ecc).
6. Definizione di volumi e contenuti tipici dei prodotti per i quali verrà eseguita la validazione (1, 2, 5, 10, 30, 50, 100, 200, 500 mL).

7. Identificazione del laboratorio che prepara i prodotti da trasportare (ad esempio unità di sangue placentare non idonee al banking).
8. Definizione della procedura di confezionamento primario e secondario. Esame della normativa di riferimento: norme IATA, 49 CFR Part 171-180 Hazardous Materials Regulations, ecc).
9. Scelta del modello statistico (no. delle repliche, selezione del test statistico) per la validazione statica e dinamica durante il trasporto.
10. Esecuzione delle prove di laboratorio inerenti la qualità dei prodotti trasportati presso uno o più laboratori qualificati (conteggio e vitalità cellulare, analisi fenotipica, cariotipo, ecc).
11. Esame dei risultati e scelta della procedura associata ai migliori risultati.
12. Certificazione della procedura di trasporto validata.
13. Formazione del personale implicato nelle procedure di trasporto (<http://hazmat.dot.gov/training/training.htm>).
14. Pubblicazione dei risultati della validazione.

RISORSE UMANE

Personale dedicato alle attività del progetto (in mesi-uomo):

- | | |
|--|--|
| 1. tipologia: (interna/esterna) interna
competenza: medico
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Direttore

mesi-uomo dedicati: 3 |
| 2. tipologia: (interna/esterna) interna
competenza: biologo
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Ricercatore

mesi-uomo dedicati: 6 |
| 3. tipologia: (interna/esterna) interna
competenza: metodologie di controllo di qualità
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Ricercatore

mesi-uomo dedicati: 6 |
| 4. tipologia: (interna/esterna) interna
competenza: economista
(giurista; statistico; economista; medico; ..) | qualifica: Amministratore

mesi-uomo dedicati: 3 |

COMPOSIZIONE DEI COSTI DELL'UNITÀ OPERATIVA

<u>Voci di costo e breve descrizione</u>	<u>Totale</u> EURO	<u>di cui a carico dei fondi ministeriali</u> EURO
1. Personale dipendente <i>2 Dirigenti medici, 1 dirigenti biologo e 1 tecnico laboratorio</i>	114.000	NULLA
2. Personale a contratto/consulenza/borsa di studio <i>1 biologo contrattista e 1 biologo borsista</i>	55.000	34.000
3. Missioni	0	0
4. Attrezzature (solo a noleggio o leasing):	0	0
5. Materiale di consumo <i>Materiale disposable, tetrameri, peptidi, anticorpi, radioattivo, kit ELISA, etc.</i>	6.000	6.000
6. Pubblicazioni / organizzazione convegni, ecc.	0	0
7. Elaborazione dati (specificare)	0	0
8. Spese generali delle strutture coinvolte (specificare)	0	0
TOTALE	175.000	40.000

Curriculum Vitae del Responsabile Scientifico dell'Unità Operativa

(max 1 pagina)

(PERIODO DI RIFERIMENTO: ULTIMI 5 ANNI; INDICARE ANCHE LE 10 PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE RITENUTE PIÙ SIGNIFICATIVE, CON PARTICOLARE RIFERIMENTO A QUELLE DELL'AREA TEMATICA SCIENTIFICA SULLA QUALE INSISTE IL PROGETTO)

Dott Paolo Rebullà

Nato a Trieste il 14 Marzo 1948

Carriera Professionale ed accademica

1973	Laurea in Medicina e Chirurgia, Università di Milano
1976	Specializzazione in Ematologia Clinica e di Laboratorio, Università di Milano
1982	Specializzazione in Immunoematologia, Università di Pisa
Dal 1984	Insegnamento alla Scuola di Specializzazione in Ematologia dell'Università di Milano
Dal 1995	Direttore della Ricerca, Centro Trasfusionale e di Immunologia dei Trapianti, Milano
Dal 25/10/2001	Direttore del Centro Trasfusionale e di Immunologia dei Trapianti
Dal 24 giugno 2005	Membro del Comitato Tecnico Scientifico, Ospedale Maggiore, Milano
Dal 29 luglio 2005	Direttore dell'U.O. Centro di Medicina Trasfusionale, Terapia Cellulare e Criobiologia

RECENTI PROGETTI DI RICERCA

Progetto FIRB dell'Ospedale Maggiore	Identificazione, purificazione, transdifferenziazione e banking di cellule staminali indirizzate verso fenotipi rari e non propri da utilizzare per riparazione tissutale
Progetto dell'Istituto Superiore di Sanità	“A bank of extensively characterized human stem cells suitable for in vitro studies and for therapeutic purposes”
Progetto Fondazione Monzino	Conversione neuro-gliale di cellule staminali ematopoietiche: terapia cellulo-mediata della sclerosi laterale amiotrofica (SLA)”
Progetto Nazionale Cellule Staminali	”Transplantation of multiple partially matched unrelated cord blood units and mesenchymal cells”
Progetto EUROCORD III	“Evaluation of the facilitation of umbilical cord blood transplant engraftment using ex vivo haematopoietic progenitor/stem cell expansion”

Recenti Incarichi Scientifici ed Editoriali pertinenti al progetto

2001-2006	Componente del Comitato Scientifico dell'Istituto Superiore di Sanità
ottobre 2004 – ottobre 2005	Membro del gruppo di lavoro per la certificazione delle biobanche
ottobre 2004 – ottobre 2006	Membro della consulta tecnica permanente per i trapianti
settembre 2005 – set 2007	Membro della Commissione Nazionale per il Servizio Trasfusionale

Riassunto delle pubblicazioni

Autore e coautore di: 179 articoli e 200 abstract in lingua inglese, 71 articoli e 80 abstract in lingua italiana
Impact Factor totale: 350,87

Lista delle pubblicazioni importanti per il progetto

1. M.M. Ciulla, L. Lazzari, R. Pacchiana, A. Esposito, S. Bosari, S. Ferrero, U. Gianelli, R. Paliotti, G. Busca, A. Giorgetti, F. Magrini, **P. REBULLA**. Homing of peripherally injected bone marrow cells in rat after experimental myocardial injury. *Haematologica*. 2003; 88 : 614-621.
2. **P. REBULLA**, R. Pacchiana, T. Montemurro, R. Giordano, L. Lecchi, L. Porretti, L. Lazzari. New horizons in cellular therapies. *Cellular Engineering and Cellular Therapies*. 2003; 189-201.
3. R. Giordano, L. Lazzari, T. Montemurro, L. Lecchi, L. Porretti, **P. REBULLA**. Clinical-grade cell purification from thawed cord blood: an example of translation research. *Bone Marrow Transplantation*. 2003; 32: 965-966.
4. A.T. Maia, R. Tussiwand, G. Cazzaniga, **P. REBULLA**, S. Colman, A. Biondi, M. Geaves. Identification of preleukemic precursors of hyperdiploid acute lymphoblastic leukemia in cord blood. *Genes, chromosomes & cancer*. 2004;40:38-43.
5. E. Gluckman, V. Rocha, W. Arcese, G. Michel, G. Sanz, K. Chan, T.A. Takahashi, J. Ortega, A. Filipovich, F. Locatelli, S. Asano, F. Fagioli, M. Vowels, A. Sirvent, J.P.Laporte, K. Tiedermann, S. Amadori, M. Abecassis, P. Bordigoni, B. Diez, P.J. Shaw, A. Vora, M. Caniglia, F. Garnier, I. Ionescu, J. Garcia, G. Koegler, **P. REBULLA**, S. Chevret. Factors associated with outcomes of unrelated cord blood transplant: Guidelines for donor choice. *Experimental Hematology*. 2004;397-407.
6. M.M. Ciulla, S. Ferrero, L. Lazzari, R. Pacchiana, R. Paliotti, U. Gianelli, G. Busca, A. Esposito, S. Borasi, F. Magrini, **P. REBULLA**. The translocation of marrow MNCs after experimental myocardial cryoinjury is proportional to the infarcted area. *Transfusion*. 2004;44:239-244.

7. **P. REBULLA**, R. Giordano. Cell therapy: an evolutionary development of transfusion medicine. *International journal of cardiology*. 2004;38-42.
8. R Giordano, L Lazzari, **P REBULLA**. Clinical grade cell manipulation. *Vox Sanguinis*. 2004;87:65-72.
9. **P REBULLA**, F Mozzi, MT Colotti. Significance of ISO certification and accreditation for blood banks. *Blood bank and transfusion medicine*. 2004;2:12-9.
10. L Lecchi, S Giovanelli, M Polese, L Musacchio, F Garcea, I Ratti, M Brasca, **P REBULLA**. Frontiers in clinical research. Repository facility: the Milano Cord Blood Bank. *Cell Preservation Technology*. 2005;3:141-7.

WORK PACKAGE 5. Supporto alla realizzazione di una rete di laboratori GMP per la produzione di prodotti medicinali avanzati (Responsabile: Giovanni Migliaccio).

UNITÀ OPERATIVA 18: Studio per la convalida di test analitici della mutagenesi in bioterapici.

RESPONSABILE SCIENTIFICO: nominativo: **DOTT.SSA RITA MACCARIO**

Struttura di appartenenza : Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo di Pavia, Laboratorio Immunologia dei Trapianti, Oncoematologia Pediatrica

funzione: Responsabile “Progetto Cell Factory”, Dirigente Biologo

indirizzo : Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, P.le Golgi, 19, I-27100, Pavia

N. tel: +39 0382 502455

N. fax: +39 0382 527976

indirizzo E-mail: r.maccario@smatteo.pv.it

RAPPRESENTANTE LEGALE: nominativo: **ALBERTO GUGLIELMO**

CONTRIBUTO SPECIFICO FORNITO AL PROGETTO (max 20 righe)

Il gruppo afferente all’Unità Operativa (UO) lavora da circa 10 anni all’ottimizzazione delle metodologie di produzione dei seguenti prodotti per terapia cellulare (PTC): 1. Linee linfocitarie T-citotossiche EBV-specifiche, 2. Linee linfocitarie T-citotossiche anti-tumore (leucemia e tumori solidi), 3. Cellule staminali mesenchimali (MSC), 4. Linee linfocitarie T patogeno-specifiche (Aspergillo, HCMV, Adenovirus, BKV), e dei saggi necessari per il controllo di qualità dei PTC: 1. Vitalità, fenotipo e attività biologica del PTC, 2. Attività farmacodinamica, farmacocinetica, 3. Tossicità, 4. Safety microbiologica: sterilità, endotossine, micoplasma, virus a trasmissione parenterale e virus avventizi, 5. Mutazioni genetiche e aberrazioni cromosomiche. Il contributo specifico fornito al progetto consisterà nella standardizzazione e validazione dei seguenti controlli di qualità. (1) Analisi citogenetica e cariotipo molecolare, per l’identificazione di aberrazioni cromosomiche eventualmente causate dal processo di coltura e propagazione *in vitro* del PTC, (2) Valutazione dell’attività-telomerasi e analisi della lunghezza dei telomeri prima e dopo coltura *in vitro* dei PTC, per la valutazione di eventuale processo di trasformazione in senso neoplastico del PTC nel corso del processo di propagazione *in vitro*, (3) Monitoraggio della eventuale presenza dei virus a trasmissione parenterale HIV, HBV, HCV, e virus avventizi HCMV, EBV, HHV-6, HHV-7, HHV-8, Adenovirus, polyomavirus, HTLV I e II, sia alla partenza che nella fase terminale del processo di propagazione *in vitro* del PTC, prima della criopreservazione. La standardizzazione e validazione dei controlli di qualità sopra elencati sarà eseguita sui vari tipi di PTC propagati *in vitro* e già disponibili presso l’UO o preparati nel corso del progetto. L’UO si impegna, inoltre, a rendere disponibili alle altre UO, partecipanti al network di strutture GMP che sarà sviluppato con il progetto, i risultati ottenuti in termini di standardizzazione e validazione di tutte le metodologie impiegate per il controllo microbiologico dei PTC.

METODOLOGIA (max 50 righe)

I metodi per valutare la mutagenesi nei prodotti per bioterapie elencati di seguito verranno convalidati mediante uno studio apposito eseguito in cooperazione con i membri della rete che hanno mostrato interesse in tal senso nelle risposte al questionario circolato fra i membri del NIBIT in preparazione di questo progetto.

I PTC sono preparati utilizzando, quale fonte iniziale di cellule, il sangue periferico o di midollo osseo prelevato al donatore di cellule staminali emopoietiche (CSE), nel caso di pazienti sottoposti a trapianto allogenico di CSE, o al paziente stesso nel caso di pazienti sottoposti a trapianto d’organo solido o di pazienti affetti da immunodeficienza primitiva o secondaria. In particolare, le linee linfocitarie T sono, di regola, propagate dal sangue periferico, mentre le MSC sono isolate e propagate dal midollo osseo.

A. Preparazione di linee linfocitarie T citotossiche (CTL) EBV-specifiche: a) preparazione di popolazioni di cellule presentanti l’antigene (APC), da utilizzare per stimolare *in vitro* la riattivazione di CTL virus-specifici, mediante immortalizzazione di linfociti B con EBV o induzione di cellule dendritiche (DC) da monociti del sangue periferico, coltivati in presenza di IL-4 e GM-CSF, e pulsate con antigeni virali; b) stimolazione *in vitro* di PBMC con le APC generate al punto a), ed espansione mediante ripetuti cicli di ristimolazione con IL-2 e stimolo specifico.

B. Preparazione di CTL anti-tumore: per la stimolazione in coltura primaria e i cicli di ristimolazione antigene-dipendente, sono utilizzate, nel caso di CTL anti-leucemia, (a) popolazioni linfocitarie arricchite in cellule CD8+, DC, e linfociti *feeder* CD4+ d’origine del donatore, (b) cellule leucemiche d’origine del paziente, (c) IL-7 e IL-12 nella stimolazione iniziale e IL-2

nei cicli di ristimolazione. Nel caso di CTL anti-tumore solido, tutte le cellule utilizzate possono essere di origine del paziente. Per i cicli di stimolazione antigene-indipendente, sono utilizzati feeder allogenici (PBMC), OKT3 e IL-2.

C. Preparazione di MSC: le MSC sono isolate per aderenza e propagate per il numero di passaggi necessari in terreno di coltura addizionato con un lotto di FCS appositamente dedicato e selezionato

D. Le linee linfocitarie T patogeno-specifiche sono preparate con metodi simili a quelli descritti ai punti (A) e (B), utilizzando miscele di peptidi o patogeni inattivati quale fonte di antigeni.

E. Per l'analisi citogenetica classica (cariotipo, e FISH subtelomerica) il cariotipo è analizzato sulle metafasi in ottemperanza alle “*International System for Human Cytogenetic Nomenclature Recommendation*”. Il cariotipo molecolare è valutato mediante *array-CGH (comparative genomic hybridization)*, prima e al termine della procedura di propagazione *in vitro* del PTC. Il confronto fra il campione cellulare di partenza e il prodotto finale consente di discriminare la presenza di LCV (*large copy number variation*), costitutivamente presenti nel genoma dell'individuo da aberrazioni cromosomiche causate dal processo di attivazione e propagazione *in vitro*.

F. L'attività catalitica della telomerasi è valutata utilizzando TRAP(*telomeric-repeat amplification protocol*)-PCR. L'espressione del gene hTERT (*human telomerase reverse transcriptase*) è valutata con RT-PCR, analizzando l'espressione degli splicing alternativi dei trascritti. Sarà, infine valutata la lunghezza dei telomeri sul campione cellulare di partenza e sul prodotto finale.

G. Saranno sviluppate metodologie RealTime PCR e RealTime RT-PCR altamente sensibili per l'identificazione degli acidi nucleici virali. I livelli di sensibilità e specificità di ogni nuova metodica saranno valutati mediante partecipazione a Controlli di Qualità Internazionali, anche allo scopo di garantire l'eventuale esportazione delle metodiche sviluppate ad altre strutture.

H. Colture per batteri aerobi e anaerobi e per miceti sono eseguite in accordo con le norme della farmacopea europea (Fonte: European Pharmacopoeia 5.6 – 2.6.27 Microbiological control of cellular products - 01/2007:20627).

I. La ricerca dell'endotossina batterica è eseguita mediante esecuzione di test al Limulus (LAL test) - per l'Europa: Ph.; per l'Italia: Farmacopea Italiana, X edizione 1998, F.U.X 2.6.14; aggiornamento Ph. Eur. 4a ed. 2002, addendum 4.6.2004.

J. Per la ricerca dei micoplasmi, ci si avvale d'una metodica di PCR del commercio e di tecniche culturali. La PCR per la ricerca di micoplasmi utilizzata (*Mycoplasma reagent set*[®] - for the detection of all *Mycoplasma* species in cell culture supernatant, EuroClone[®] Ltd, UK) utilizza primers specifici per il 16S rRNA di *Mycoplasma* species. Il limite di sensibilità dichiarato dal kit commerciale è di 25 copie di template per ml; il sistema è provvisto di un sistema interno per la prevenzione delle cross-contaminazioni, di un controllo positivo interno e di controlli negativi.

Alla fine del progetto sarà preparato una relazione finale che verrà fornita alla UO2 per la sottomissione alle autorità competenti.

RISORSE UMANE

Personale dedicato alle attività del progetto (in mesi-uomo):

1. tipologia: (interna/esterna) **Interna**- Franco Locatelli
competenza: **medico, resp. prot. clin. terapia cellulare**
(giurista; statistico; economista; medico; ..)
qualifica: **Prof. Ordinario, Dir. Strutt. Compl.**
mesi-uomo dedicati: **3**
2. tipologia: (interna/esterna) **Interna** – Rita Maccario
competenza: **biologa, respons. sci. progetto**
(giurista; statistico; economista; medico; ..)
qualifica: **Dirigente Sanitario**
mesi-uomo dedicati: **3**
3. tipologia: (interna/esterna) **Interna** – Maria Ester Bernardo
competenza: **medico, respons. progetto MSC**
(giurista; statistico; economista; medico; ..)
qualifica: **Dirigente Medico**
mesi-uomo dedicati: **3**
4. tipologia: (interna/esterna) **Interna** – Daniela Montagna
competenza: **biologa, respons. progetto CTL anti-tumore**
(giurista; statistico; economista; medico; ..)
qualifica: **Dirigente Sanitario**
mesi-uomo dedicati: **3**
5. tipologia: (interna/esterna) **Interna** – Giuseppe Gerna
competenza: **medico**
(giurista; statistico; economista; medico; ..)
qualifica: **Dir. Servizio Virologia**
mesi-uomo dedicati: **1**
6. tipologia: (interna/esterna) **Interna** – Fausto Baldanti
competenza: **medico, virologo, respons. test virologici**
(giurista; statistico; economista; medico; ..)
qualifica: **Dirigente Medico**
mesi-uomo dedicati: **6**
7. tipologia: (interna/esterna) **Interna** – Milena Furione
competenza: **medico, virologo**
(giurista; statistico; economista; medico; ..)
qualifica: **Dirigente Medico**
mesi-uomo dedicati: **4**
8. tipologia: (interna/esterna) **Interna** – Piero Marone
competenza: **Respons. Lab. Batteriologia**
(giurista; statistico; economista; medico; ..)
qualifica: **Dirigente Medico**
mesi-uomo dedicati: **2**
- 9
tipologia: (interna/esterna) **Interna** – Giampaolo Merlini
competenza: **medico, Lab. Biotecnologie/Tecn. Biomediche**
(giurista; statistico; economista; medico; ..)
qualifica: **Prof. Ord., Dir. Strutt. Compl**
mesi-uomo dedicati: **1**
10. tipologia: (interna/esterna) **Interna** – Mario Ragazzi
competenza: **farmacista, Un. Farmacocinetica Clin, Monit.Terap.**
(giurista; statistico; economista; medico; ..)
qualifica: **Dirigente Sanitario**
mesi-uomo dedicati: **1**
11. tipologia: (interna/esterna) **Esterna** – Roberto Ciccone
competenza: **Biologo, Dip. Biol. Gen/Genetica Med Univ. Pavia**
qualifica: **Dottorando**

Alleanza Contro il Cancro (ACC) – Istituto Superiore di Sanità (ISS)

Art.3 DM 21 luglio 2006 - Programma Straordinario di Ricerca Oncologica 2006

Programma 2 “Integrazione delle attività di ricerca attraverso la costruzione di strutture e reti di collaborazione interistituzionali”

cariotipo, array-CGH

mesi-uomo dedicati: **6**

12. tipologia: (interna/esterna) **Esterna** – Francesca Novara
competenza: **Biologo, Dip. Biol. Gen/Genetica Med Univ. Pavia**
cariotipo, array-CGH

qualifica: **Specializzanda**

mesi-uomo dedicati: **6**

13. tipologia: (interna/esterna) **Esterna** – Raffaella Villa
competenza: **Biologo, Dip. Oncologia Sperimentale INT-Milano**
Telomeri/Attività Telomerasi

qualifica: **Contrattista**

mesi-uomo dedicati: **2**

COMPOSIZIONE DEI COSTI DELL’UNITÀ OPERATIVA

Voci di costo e breve descrizione

<u>Totale</u>	<u>di cui a carico dei fondi ministeriali</u>	
	EURO	EURO
1. Personale dipendente <i>4 Direttori Struttura complessa/Prof. Ordinari, 12 Dirigenti Sanitari/Medici</i>	210.000	NULLA
2. Personale a contratto/consulenza/borsa di studio <i>3 Dottorando/Specializzanda/Contrattista</i>	55.000	25.000
3. Missioni	2.000	1.000
4. Attrezzature (solo a noleggio o leasing):	0	0
5. Materiale di consumo <i>Materiale disposable, anticorpi, kits PCR, terreni di coltura etc.</i>	113.000	14.000
6. Pubblicazioni / organizzazione convegni, ecc.	0	0
7. Elaborazione dati (specificare)	0	0
8. Spese generali delle strutture coinvolte (specificare)	0	0
TOTALE	380.000	40.000

Curriculum Vitae del Responsabile Scientifico dell’Unità Operativa

(max 1 pagina)

(PERIODO DI RIFERIMENTO: ULTIMI 5 ANNI; INDICARE ANCHE LE 10 PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE RITENUTE PIÙ SIGNIFICATIVE, CON PARTICOLARE RIFERIMENTO A QUELLE DELL’AREA TEMATICA SCIENTIFICA SULLA QUALE INSISTE IL PROGETTO)

Rita Maccario

- Laureata in Scienze Biologiche presso l'Università di Pavia, Luglio 1975. Diploma di Specializzazione in Chimica Biologica presso la Scuola di Perfezionamento in Chimica Biologica dell'Università di Pavia, Marzo 1978.
- Ottobre 1981-Giugno 1998: Ricercatore Confermato presso la Clinica Pediatrica, Università di Pavia
- Giugno 1982-Luglio 1983: Congedo straordinario dalla Clinica Pediatrica dell'Università di Pavia per compiere ricerche nel campo dell'immunità cellulo-mediata presso il Laboratorio di Immunologia Cellulare del "Memorial Sloan-Kettering Cancer Center" di New York, diretto dal Prof. Osias Stutman.
- Da Luglio 1998, Dirigente Biologo I livello presso il " Laboratorio di Ricerca Trapianto di Midollo Osseo e Oncoematologia Pediatrica dell'IRCCS Policlinico San Matteo di Pavia", Divisione di Oncoematologia Pediatrica.
- Da Gennaio 1984, responsabile del Laboratorio d’Immunologia del Dipartimento di Scienze Pediatriche dell'Università di Pavia e, dal Luglio 1998, del Laboratorio di Ricerca Immunologia dei Trapianti - Trapianto di Midollo Osseo e Oncoematologia Pediatrica" dell'IRCCS Policlinico San Matteo di Pavia"
- Da Maggio 2005, responsabile tecnico-scientifico dell’organizzazione e attivazione della *Cell Factory* della Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia
- Gennaio 2006, idoneità a Direttore Tecnico di Officine Farmaceutiche autorizzate alla produzione di medicinali per terapia cellulare, come da DM 24/09/2004, ai sensi del Decreto Legislativo 178/91.

UNITÀ OPERATIVA 19: Convalida di metodi per la misura della sicurezza, identità e potenza di prodotti derivati dall'inattivazione o uccisione di cellule tumorali primarie o linee cellulari tumorali.

WORK PACKAGE 5. Supporto alla realizzazione di una rete di laboratori GMP per la produzione di prodotti medicinali avanzati (Responsabile: Giovanni Migliaccio).

RESPONSABILE SCIENTIFICO: nominativo: **DOTT.SSA CARMELA ROZERA**

Struttura di appartenenza : Istituto Superiore di Sanità, Dip. Biologia Cellulare e Neuroscienze

funzione: Persona Qualificata FaBioCell

indirizzo : Viale Regina Elena 299, 00161, Roma

N. tel: +39 06 49906080

N. fax: +39 0649902140

indirizzo E-mail: carmela.rozera@iss.it

RAPPRESENTANTE LEGALE: nominativo: PROF. ENRICO GARACI

CONTRIBUTO SPECIFICO FORNITO AL PROGETTO (max 20 righe)

Una considerevole attenzione si è concentrata in anni recenti sull'uso di cellule dendritiche (DC) come adiuvanti cellulari per lo sviluppo di vaccini terapeutici contro il cancro (Banchereau and Palucka, Nat Rev Immunol 5, 296-306, 2005). Sebbene la dimostrazione della capacità delle DC di indurre risposte specifiche verso il tumore sia stata ottenuta utilizzando per lo più peptidi derivati da antigeni tumorali, questo tipo di metodica presenta considerevoli limiti dovuti a fattori come la disponibilità per alcuni tumori umani di un limitato numero di antigeni tumore-associati (TAA), la restrizione HLA dei peptidi, e l'induzione di un ristretto repertorio di cloni di linfociti T. L'uso di derivati da cellule tumorali, come sorgente di antigeni, può portare alla presentazione da parte delle DC di un più ampio spettro di TAA, inclusi gli antigeni unici, e quindi all'induzione di un più ampio e potenzialmente più selettivo ed efficace repertorio di risposte mediate dalle cellule T. Cellule tumorali irradiate, lisate tumorali o cellule apoptotiche possono infatti essere fagocitate dalle DC e processate naturalmente. Tuttavia, l'uso di tali materiali per il caricamento di DC da utilizzare nella vaccinazione di pazienti oncologici presuppone l'accertamento dei loro requisiti in termini di sicurezza e di qualità, come imposto dalla normativa. Il contributo di questa UO al progetto consisterà nella validazione di metodi e materiali per la caratterizzazione della sicurezza e della qualità di prodotti derivati dall'inattivazione fisica e/o biologica di cellule tumorali ottenute da campioni biotipici di tumori umani o da linee cellulari tumorali. Il processo di validazione verrà attuato nelle seguenti fasi: a) studio di fattibilità per l'identificazione dei metodi di valutazione della sicurezza, identità, e potenza dei prodotti di interesse (cellule irradiate, lisate, cellule apoptotiche); b) studi di convalida per i metodi identificati al punto a).

METODOLOGIA (max 50 righe)

Selezione del metodo di verifica della sicurezza dei prodotti derivati da cellule tumorali inattivate: studio di fattibilità. I metodi attualmente accettati dalla Farmacopea europea per la determinazione della vitalità cellulare sono rappresentati da: a) saggi citofluorimetrici di campioni di cellule colorate con agenti intercalanti, eseguiti con apparati automatici convalidati; b) metodi manuali per la conta di cellule vitali dopo colorazione con trypan blue. Negli studi di fattibilità finalizzati a verificare l'assenza di cellule vive nei prodotti derivati dall'inattivazione di cellule tumorali saranno considerati i seguenti metodi:

1. Analisi citofluorimetrica del DNA marcato con CFSE.
2. Analisi citofluorimetrica del DNA marcato con ioduro di propizio e annessina V;

Le suddette analisi verranno effettuate su campioni ottenuti utilizzando prototipi di metodi fisici e/o biologici di inattivazione/uccisione di cellule tumorali. Per valutare la reale sensibilità e affidabilità dei metodi saranno analizzati campioni contenenti quantità decrescenti di cellule tumorali vive addizionate a quantità fisse di prodotto (lisato tumorale, cellule tumorali irradiate, corpi apoptotici)

Gli studi di fattibilità consentiranno di stabilire il limite inferiore di sensibilità e la riproducibilità di ciascun metodo.

Selezione del metodo di verifica della identità e potenza dei prodotti derivati da cellule tumorali inattivate: studio di fattibilità. Allo scopo di accertare l'identità (presentazione dell'antigene tumorale derivato dai prodotti di inattivazione) e potenza (attività funzionale) del farmaco cellulare, cioè delle DC esprimenti gli antigeni tumorali, saranno selezionati uno o più cloni di linfociti T CD8+ specifici per TAA modello e dotati di elevata attività citotossica. Le DC verranno ottenute da donatori esprimenti l'elemento HLA di restrizione dell'epitopo di interesse e caricate con quantità scalari dei diversi prodotti di in

attivazione. Il riconoscimento da parte del clone delle DC così trattate sarà valutato misurando la frequenza di cellule del clone in grado di rilasciare Granzyme B (GrB) in saggi ELISPOT. E' stato infatti recentemente riportato in letteratura che il saggio GrB ELISPOT ha una maggiore sensibilità rispetto al saggio di rilascio del cromo (Shafer-Weaver K. et al., J Immunother 29, 328-335, 2006).

La potenza, cioè l'attività stimolatoria, delle DC caricate con i prodotti di inattivazione delle cellule tumorali sarà inoltre verificata con saggi immunologici in grado di misurare l'entità dell'attivazione di cellule T TAA-specifiche, quali:

- 1) analisi citofluorimetrica della percentuale di cellule T attivate dalle DC, mediante legame di tetrametri specifici in combinazione con l'analisi della produzione di IFN γ intracellulare;
- 2) misurazione delle cellule T proliferanti, in seguito alla stimolazione con le DC caricate, mediante previa marcatura con PKH67 e successivo legame con pentameri specifici per il TAA modello selezionato.

Precedentemente alla esecuzione degli studi di fattibilità per la verifica dell'identità e potenza, la sensibilità e riproducibilità dei saggi immunologici sopra descritti verrà verificata dalla UO utilizzando sistemi sperimentali modello.

Negli studi di fattibilità verranno utilizzati diversi protocolli sperimentali, sia per quanto riguarda la quantità di prodotto caricato sulle DC, sia per quanto riguarda i tempi e le condizioni sperimentali (terreni di coltura, citochine, rapporti DC: cellula T, etc.) della stimolazione delle cellule T con le DC caricate.

Studi di convalida. I risultati degli studi di fattibilità consentiranno di identificare i metodi da convalidare per la verifica della sicurezza, identità e potenza di farmaci cellulari prodotti utilizzando materiali derivati da cellule tumorali inattivate o uccise. Gli studi di convalida per ciascuno dei metodi selezionati verranno effettuati in modo da stabilire i limiti di accettazione, e verificare la riproducibilità, la sensibilità e l'affidabilità di ciascun metodo.

RISORSE UMANE

Personale dedicato alle attività del progetto (in mesi-uomo):

1. tipologia: (interna/esterna) **Interna**- Maria Ferrantini
Competenza: **biologa, Dir. Rep. Immunoterapia Sperimentale**
(giurista; statistico; economista; medico; ..)
qualifica: **Primo Ricercatore**
mesi-uomo dedicati: **1**
2. tipologia: (interna/esterna) **Interna**- Carmela Rozera
Competenza: **biologa, Persona Qualificata**
(giurista; statistico; economista; medico; ..)
qualifica: **Primo Ricercatore**
mesi-uomo dedicati: **5**
3. tipologia: (interna/esterna) **Interna** – Laura Santodonato
competenza: **biologa, respons. produzione**
(giurista; statistico; economista; medico; ..)
qualifica: **CTER**
mesi-uomo dedicati: **5**
4. tipologia: (interna/esterna) **Interna** – Giuseppina D’Agostino
competenza: **biologa, respons. qualità**
(giurista; statistico; economista; medico; ..)
qualifica: **Ricercatore**
mesi-uomo dedicati: **5**
5. tipologia: (interna/esterna) **Interna** – Enrica Montefiore
competenza: **biologa,**
(giurista; statistico; economista; medico; ..)
qualifica: **CTER**
mesi-uomo dedicati: **5**
6. tipologia: (interna/esterna) **Interna** – Domenica Monque
competenza: **biologa,**
(giurista; statistico; economista; medico; ..)
qualifica: **CTER**
mesi-uomo dedicati: **5**

COMPOSIZIONE DEI COSTI DELL'UNITÀ OPERATIVA

<u>Voci di costo e breve descrizione</u>	<u>Totale</u> EURO	<u>di cui a carico dei fondi ministeriali</u> EURO
1. Personale dipendente <i>2 Dirigenti medici, 1 dirigenti biologo e 1 tecnico laboratorio</i>	98.500	NULLA
2. Personale a contratto/consulenza/borsa di studio <i>2 borsisti biologi e 1 tecnico di laboratorio</i>	0	0
3. Missioni	0	0
4. Attrezzature (solo a noleggio o leasing):	0	0
5. Materiale di consumo <i>Materiale disposable, tetrameri, peptidi, anticorpi, radioattivo, kit ELISA, etc.</i>	40.000	40.000
6. Pubblicazioni / organizzazione convegni, ecc.	0	0
7. Elaborazione dati (specificare)	0	0
8. Spese generali delle strutture coinvolte (specificare)	0	0
TOTALE	138.500	40.000

Curriculum Vitae del Responsabile Scientifico dell’Unità Operativa (max 1 pagina)
(PERIODO DI RIFERIMENTO: ULTIMI 5 ANNI; INDICARE ANCHE LE 10 PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE RITENUTE PIÙ SIGNIFICATIVE, CON PARTICOLARE RIFERIMENTO A QUELLE DELL’AREA TEMATICA SCIENTIFICA SULLA QUALE INSISTE IL PROGETTO)

Dott.ssa Carmela Rozera

Nata a Roma l’8 gennaio 1954

Laureata in Scienze Biologiche presso l’Università degli Studi di Roma, Maggio 1978.

- 1978-1981 Borsista presso il Laboratorio di Malattie Batteriche e Virali dell’Istituto Superiore di Sanità.
1981-1990 Ricercatore presso il Reparto “Malattie Virali dell’Apparato Respiratorio” del Laboratorio di Virologia dell’ISS.
1990-1996 Ricercatore presso il Reparto “Biologia e Genetica dei Virus Animali” dello stesso Laboratorio.
1996 Primo Ricercatore presso lo stesso Reparto e Laboratorio.
2003-2004 Periodo di formazione nella gestione di strutture GMP presso l’Officina Farmaceutica MolMed (Milano), autorizzata alla produzione di prodotti cellulari per uso clinico.
2004 ad oggi Primo Ricercatore presso il Reparto di Immunoterapia Sperimentale del Dipartimento di Biologia Cellulare e Neuroscienze dell’ISS.
2006 Conseguimento dell’idoneità a Direttore Tecnico di Officine Farmaceutiche con Decreto AIFA N. aIDT – 4/2006, ai sensi del Decreto Legislativo 178/91.

Pubblicazioni selezionate

1. Gabriele L., Borghi P., **Rozera C.**, Sestili P., Andreotti M., Guarini A., Montefusco E., Foa R., Belardelli F. IFN-(alpha) promotes the rapid differentiation of monocytes from patients with chronic myeloid leukemia into activated dendritic cells tuned to undergo full maturation after LPS treatment. *Blood* 103, 980-987, 2004.
2. Amici C, Belardo G, **Rozera C.**, Bernasconi D, Santoro MG. Inhibition of herpesvirus-induced HIV-1 replication by cyclopentenone prostaglandins: role of IkappaB kinase (IKK). *AIDS*, 18 (9):1271-1280, 2004.
3. Carattoli A., Fortini D., **Rozera C.** and Giorgi C. Inhibition of HIV-1 transcription by cyclopentenone prostaglandin A1 in jurkat T lymphocytes. *J. Biol. Regul. Homeost. Agents*, 14 (3): 209-216, 2000.
4. Albini A., Marchisone C., Del Grosso F., Benelli R., Masiello L., Tacchetti C., Bono M., Ferrantini M., **Rozera C.**, Truini M., Belardelli F., Santi L. and Noonan D.M. Inhibition of angiogenesis and vascular tumor growth by interferon-producing cells. A gene therapy approach. *Am J Pathol*, 156: 1381-1393, 2000.
5. **Rozera C.**, Mecchia M., Gresser I., Bandu M.T., Proietti E., Venditti M., Sestili P., Santini S.M., Fais S., Belardelli F., and Ferrantini M. Murine IFN- α gene transduced ESb tumor cells rejected by host-mediated mechanisms despite the resistance of the parental tumor to IFN- α therapy. *Cancer Gene Therapy*, 3: 246-253, 1999.
6. **Rozera C.**, Carlei D., Lollini P. L., De Giovanni C., Musiani P., Di Carlo E., Belardelli F. and Ferrantini M. Interferon (IFN)-beta gene transfer into TS/A adenocarcinoma cells and comparison with IFN-alpha: differential effects on tumorigenicity and host response. *Am J Pathol*. 154:1211-1222, 1999.
7. De Marco A., Carattoli A., **Rozera C.**, Fortini D., Giorgi C., Belardo G., Amici C. and Santoro M.G.. Induction of the heat-shock response by antiviral prostaglandins in human cells infected with human immunodeficiency virus type1. *Eur. J. Biochem*. 256: 334-341, 1998.
8. **Rozera C.**, Carattoli A., De Marco A., Amici C., Giorgi C., Santoro G. Inhibition of HIV-1 replication by cyclopentenone prostaglandins in acutely infected human cells. *J. Clin. Invest*. 97: 1795-1803, 1996.
9. Gabriele L., Kaido T., Woodrow D., Moss J., Ferrantini M., Proietti E., Santodonato L., **Rozera C.**, Maury C., Belardelli F. and Gresser I. The local and systemic response of mice to Interferon α 1 transfected Friend Leukemia cells. *Am. J. Pathol.*, 147:445-460, 1995.
10. Greco G.P., Gabriele L., **Rozera C.**, Venditti M., Belardelli F. and Proietti E.. Correlation between the sensitivity or resistance to IL-2 and the response to cyclophosphamide of 4 tumors transplantable in the same murine host. *Int. J. Cancer*, 62: 184-190, 1995.