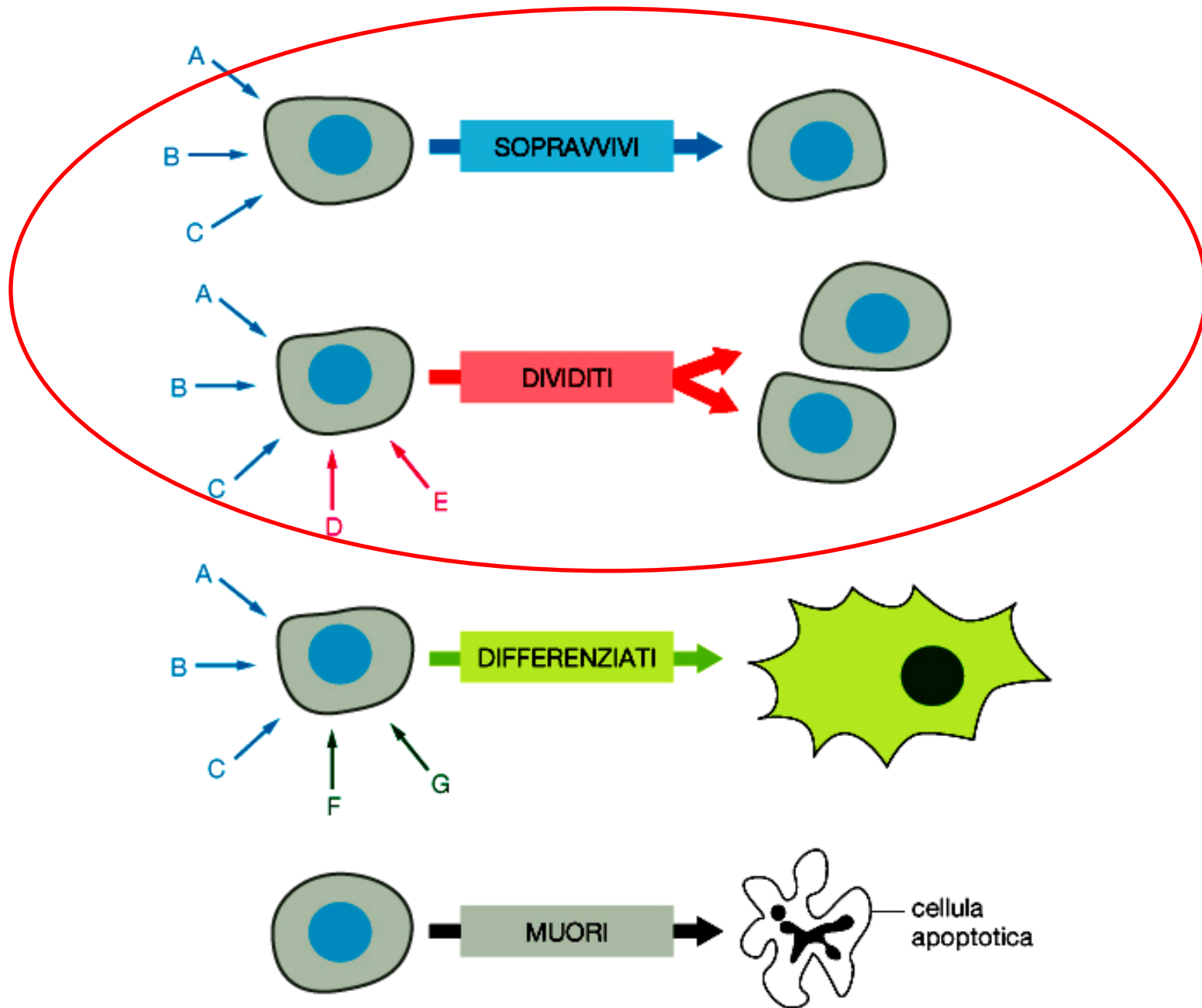


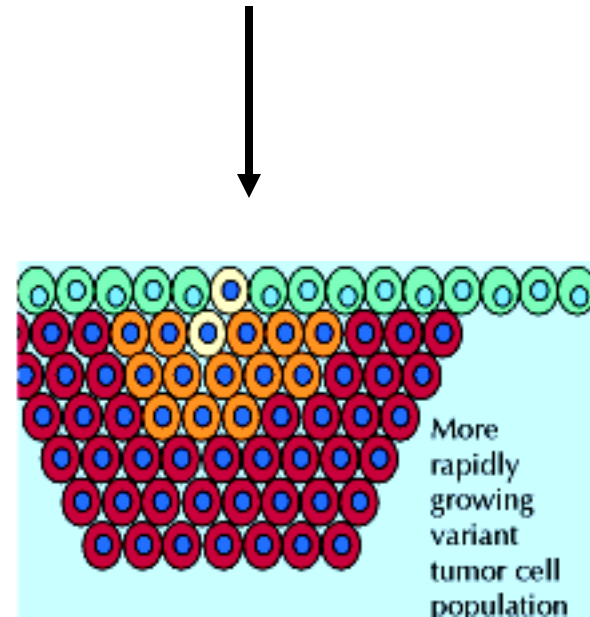
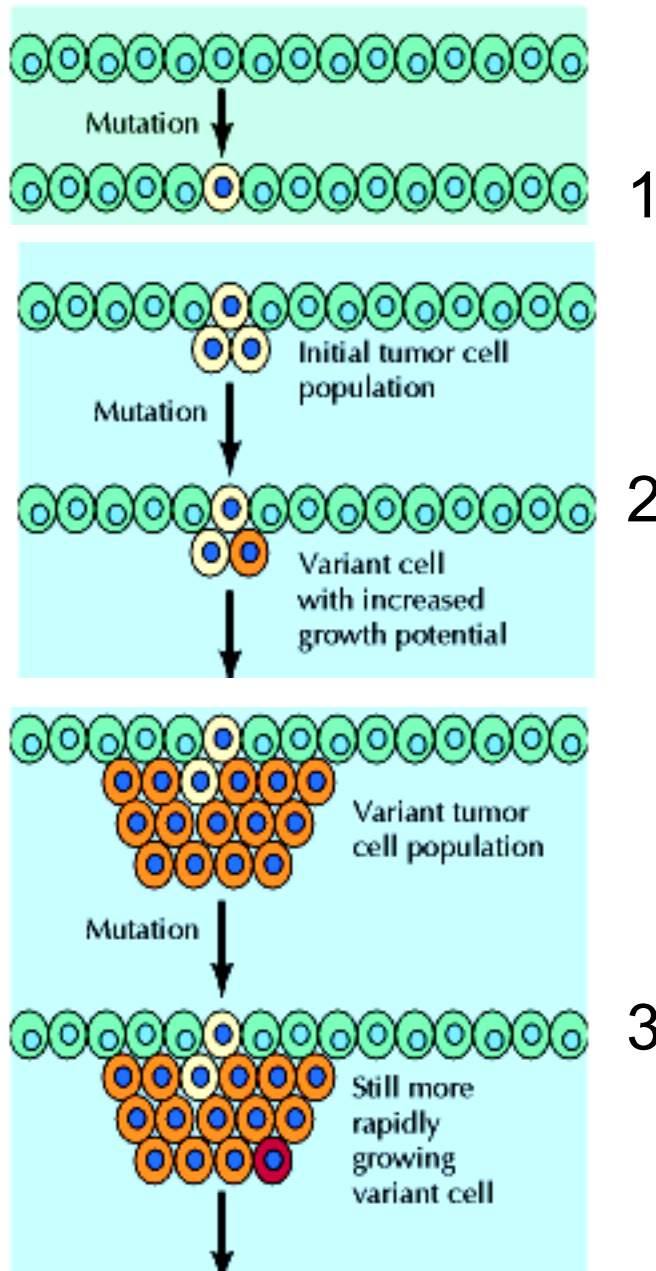
La genetica del cancro

- Il cancro è una malattia genetica delle cellule somatiche
- Solo il 5% circa delle malattie tumorali è ereditabile
- Il cancro è una malattia multifattoriale, vale a dire oligogenica e con il contributo di fattori ambientali
- Il cancro è una malattia che insorge con un meccanismo multifasico

Il destino di una cellula

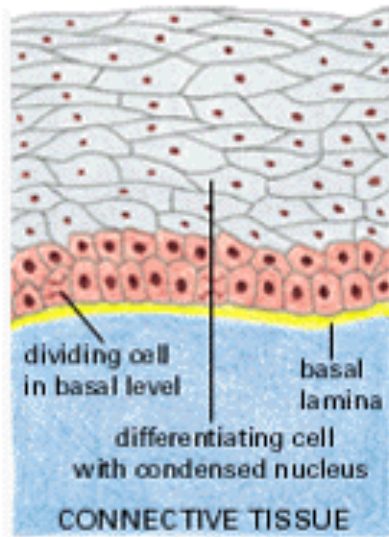


Clonalità del tumore

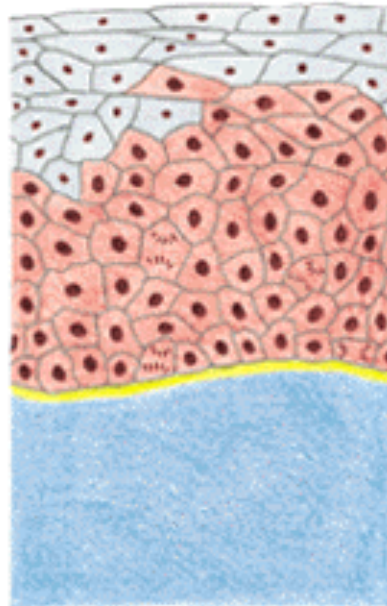


I tumori si formano da cellule singole che iniziano a proliferare anormalmente

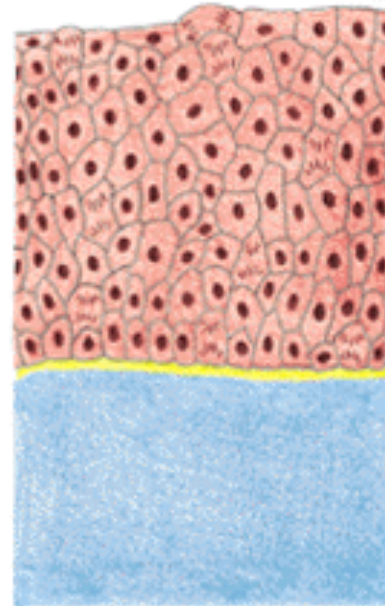
PROGRESSIONE DEL TUMORE



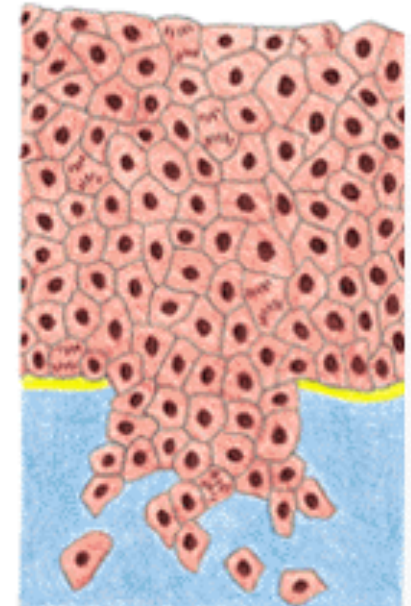
(A) normal



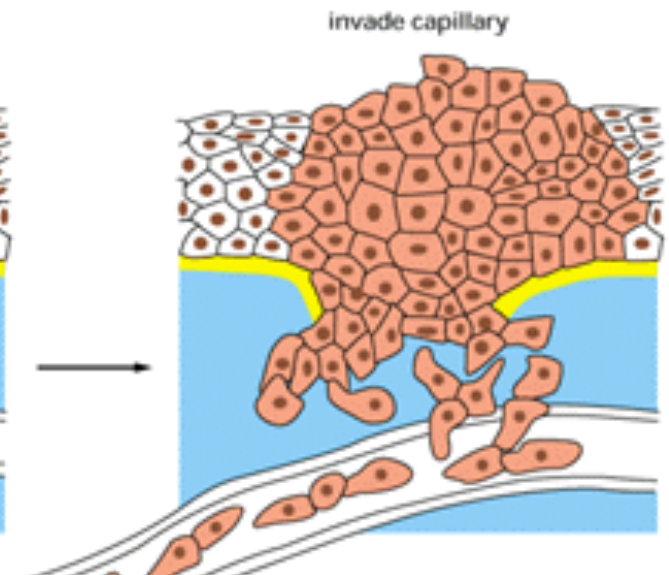
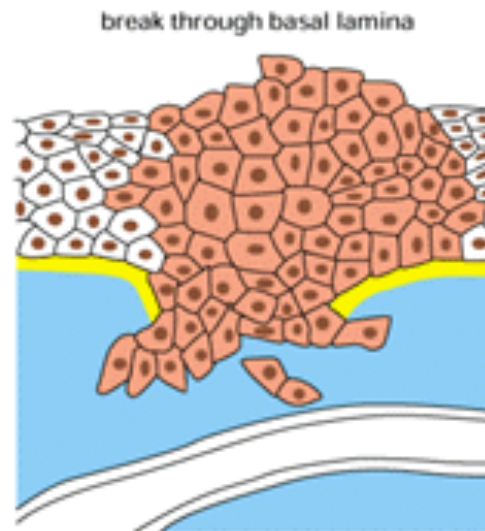
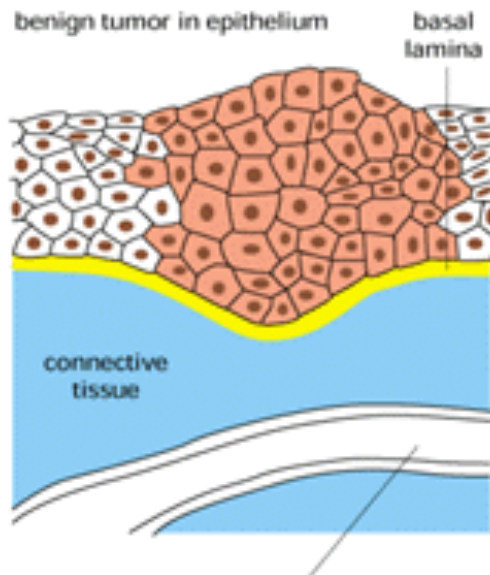
(B) dysplasia



(C) carcinoma *in situ*



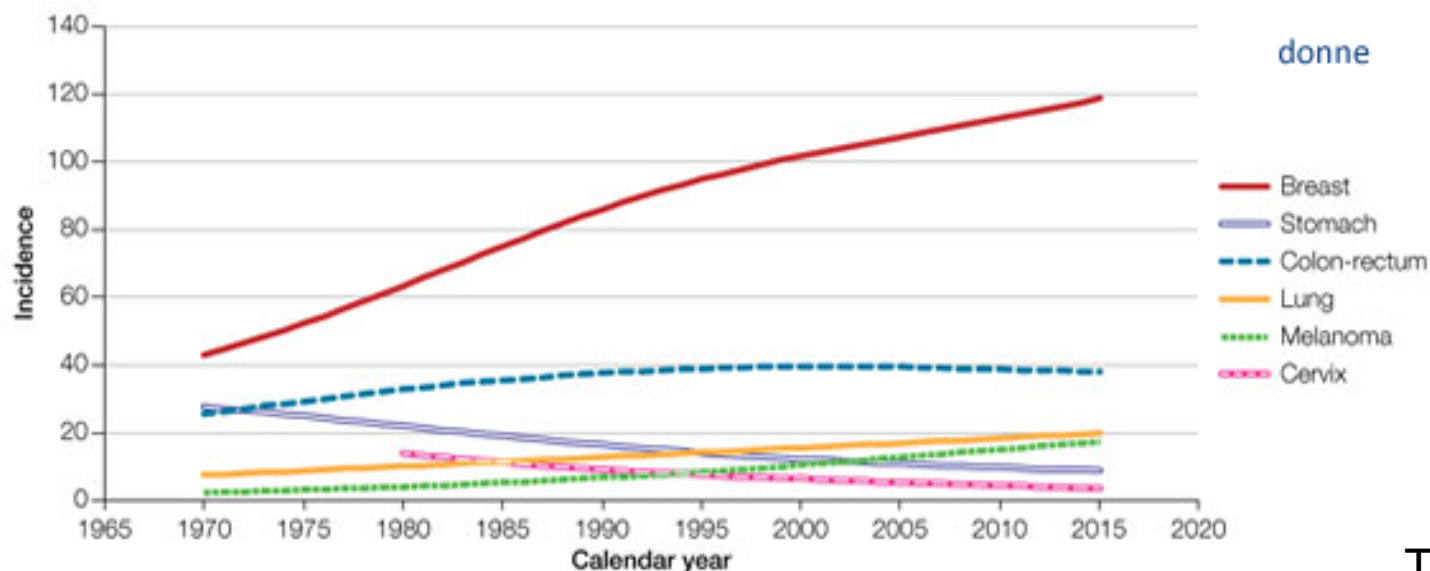
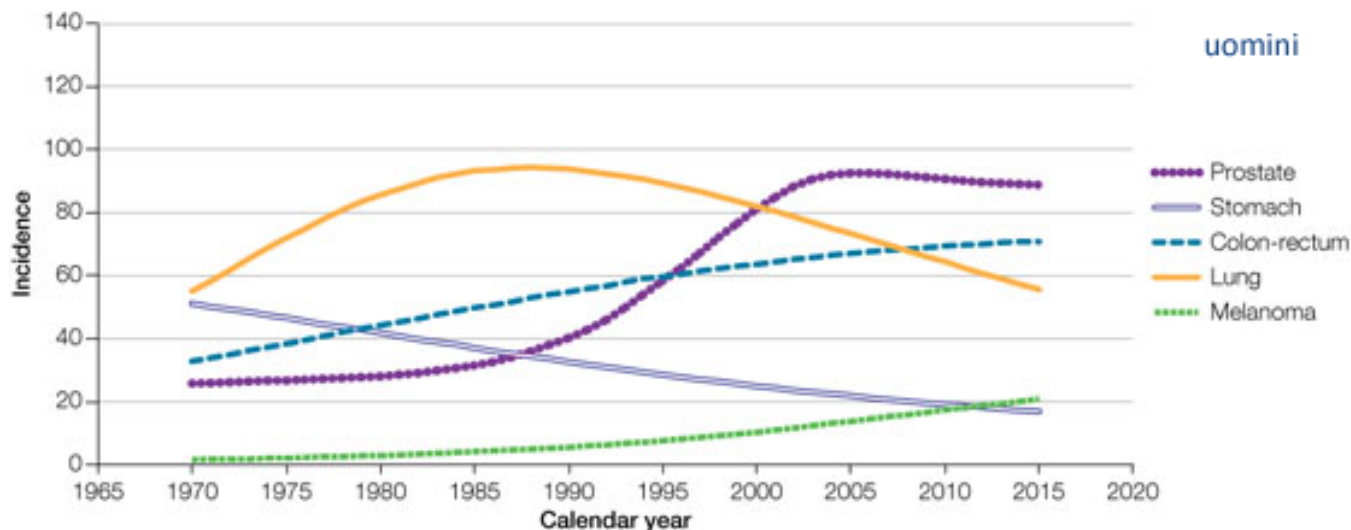
(D) malignant carcinoma



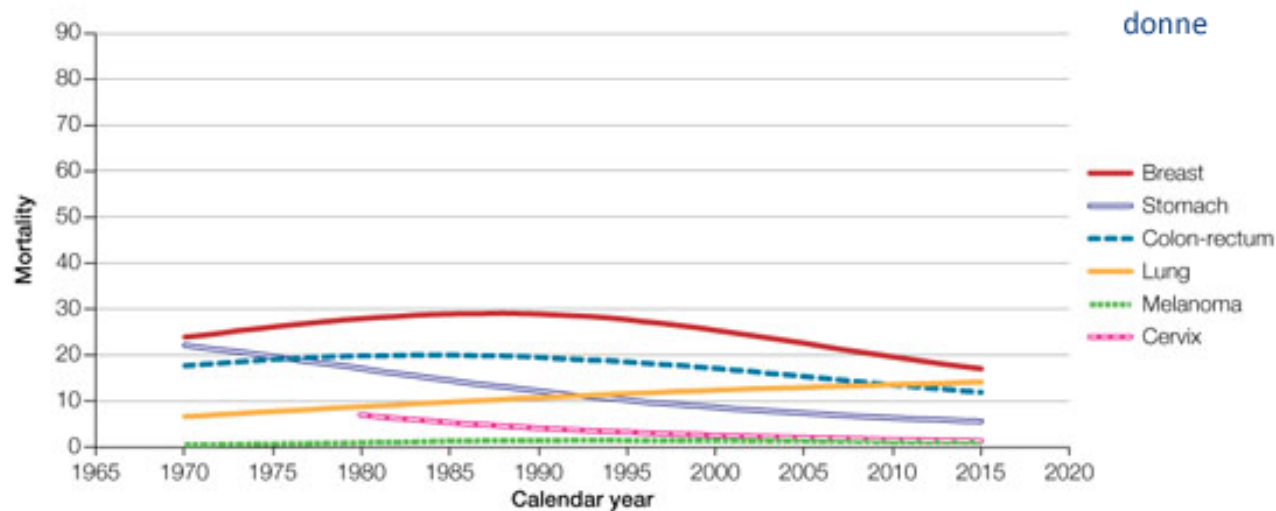
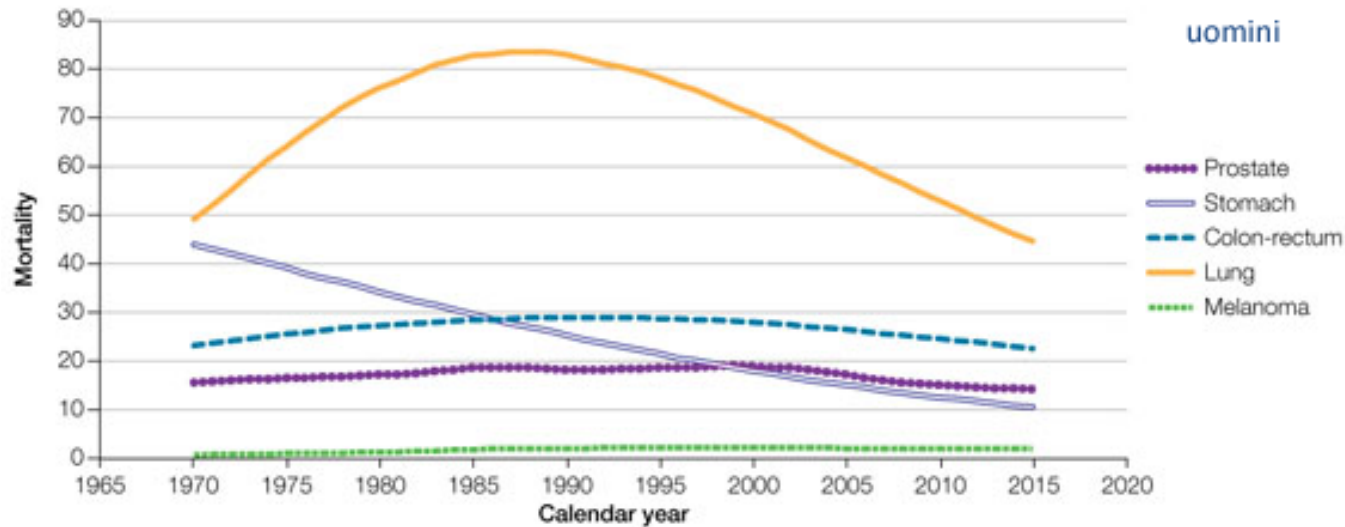
Fattori di rischio per l'insorgenza del cancro

- Fumo di sigaretta
- Raggi ultravioletti: basalioma (tumore dello strato basale dell'epidermide) e melanoma (melanociti)
- Dieta: Evitare sostanze potenzialmente cancerogene, come quelle prodotte dalla carne abbrustolita sulla griglia
- Human Papilloma Virus : tumore della cervice uterina
- Obesità
- Geni (gene BRCA 1 e BRCA2 predispongono all'insorgenza del tumore
 - della mammella e ovarico)- sono geni coinvolti nella ricombinazione omologa
 - e saldatura del DNA

Italia: incidenza (numero di nuovi casi di tumore che si verificano in una data popolazione in un dato periodo)



Italia: Mortalità (il numero di decessi di tumore che sopravvivono in una data popolazione in un dato) periodo



Mutazioni di geni coinvolti nello sviluppo dei tumori: oncogeni

Un **oncogene** è un gene che codifica una proteina che potenzialmente indirizza la cellula verso lo sviluppo di un fenotipo neoplastico.

Un **proto-oncogene** è un gene normale che può diventare oncogenico a causa di mutazioni o di un aumento dell'espressione.

I proto-oncogeni codificano proteine che regolano il ciclo cellulare e il differenziamento. Possono anche essere coinvolti nella trasduzione del segnale di avvio della mitosi.

La mutazione di una singola copia di un protooncogene può avere un effetto dominante che promuove la crescita di una cellula

.

.

Chi sono i protooncogeni-oncogeni?

Sono geni che promuovono la proliferazione e la sopravvivenza della cellula

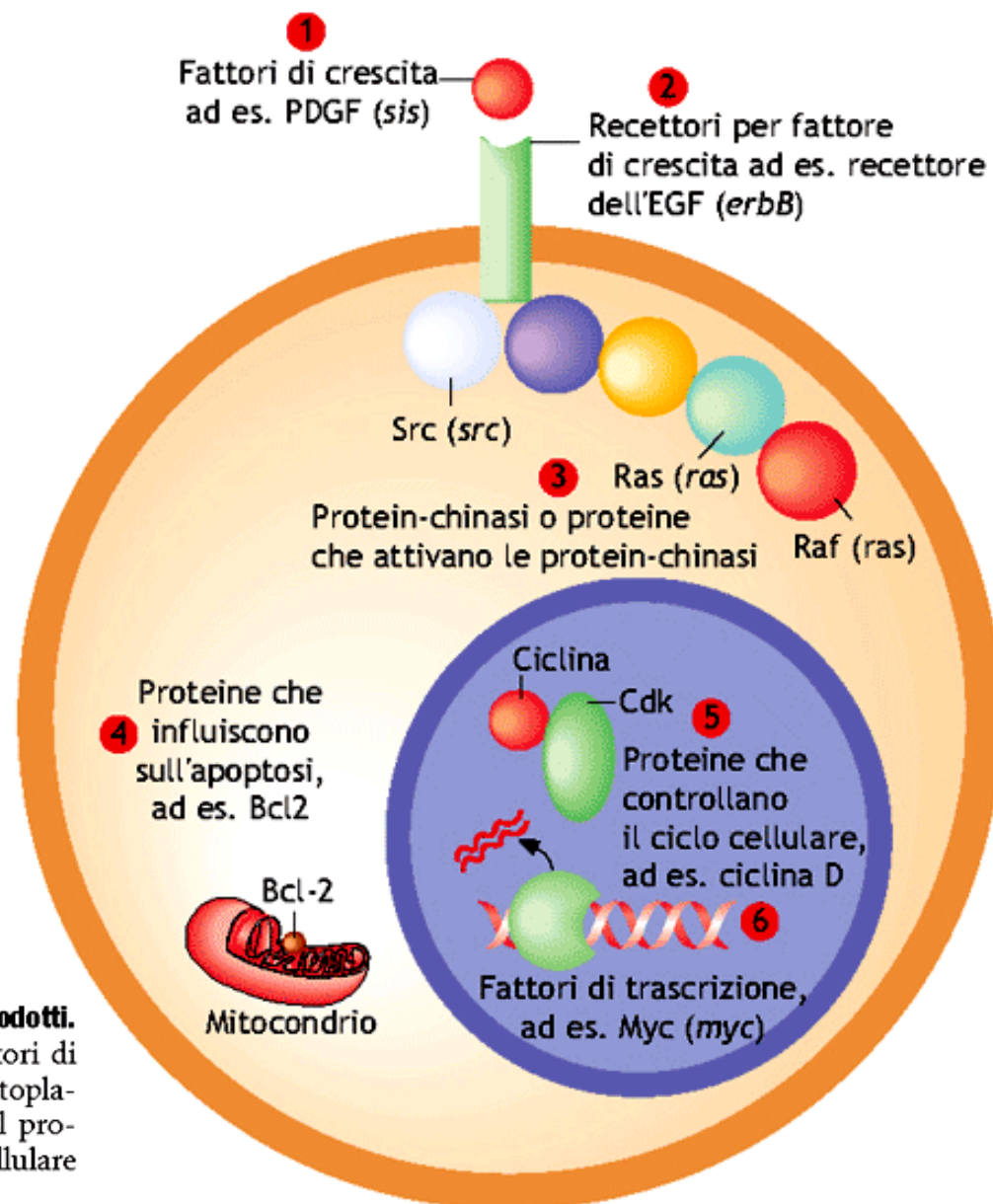
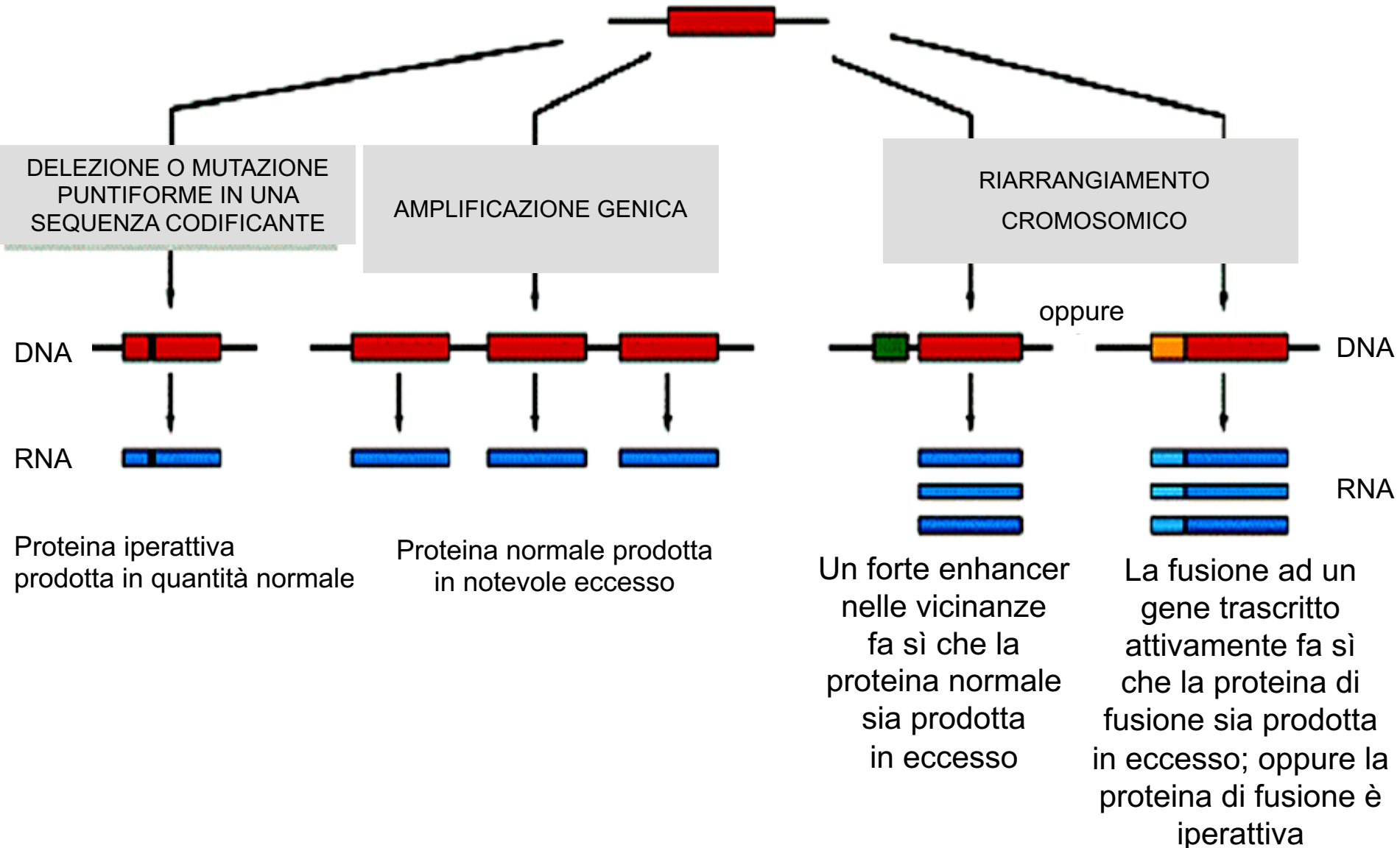


Figura 12.7 Oncogeni e localizzazione cellulare dei loro prodotti.
Le proteine codificate dagli oncogeni possono essere dei fattori di crescita (1), recettori per i fattori di crescita (2), molecole citoplasmatiche per la trasduzione del segnale (3), componenti del processo apoptotico (4), proteine nucleari che regolano il ciclo cellulare (5) e fattori di trascrizione (6).

Attivazione di un protooncogene

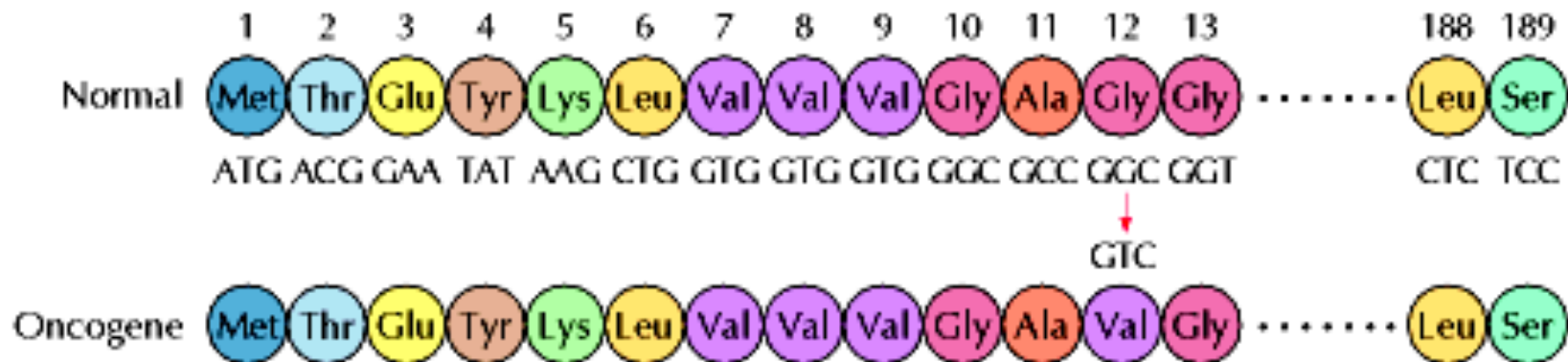
Un meccanismo distinto per cui gli oncogeni sono attivati nei tumori umani è l'**amplificazione genica**, che porta all'elevata espressione del gene. L'amplificazione genica è comune nelle cellule tumorali e avviene con una frequenza mille volte maggiore rispetto alle cellule normali e l'amplificazione degli oncogeni potrebbe avere un ruolo nella progressione di molti tumori verso una crescita più rapida e una maggiore malignità



Mutazioni puntiformi: RAS

Gli oncogeni ras non sono presenti nelle cellule normali ma si generano nelle cellule tumorali come conseguenza di mutazioni puntiformi (che portano a sostituzioni aminoacidiche critiche) che avvengono durante lo sviluppo del tumore. Le tre mutazioni ricadono nei codoni 12, 13 e 61 (Gln). Le mutazioni sono indotte da carcinogeni chimici e hanno l'effetto di mantenere la proteina costitutivamente attiva.

Tre membri strettamente correlati della famiglia di geni **ras** (*rasH*, *rasK*, *Kirsten-derivato sarcoma murino* e *rasN*) sono gli oncogeni che si incontrano più di frequente nei tumori umani. Questi geni sono coinvolti approssimativamente nel 15% di tutte le neoplasie maligne umane, fra cui circa il 50% dei carcinomi del colon e il 25% di quelli del polmone.

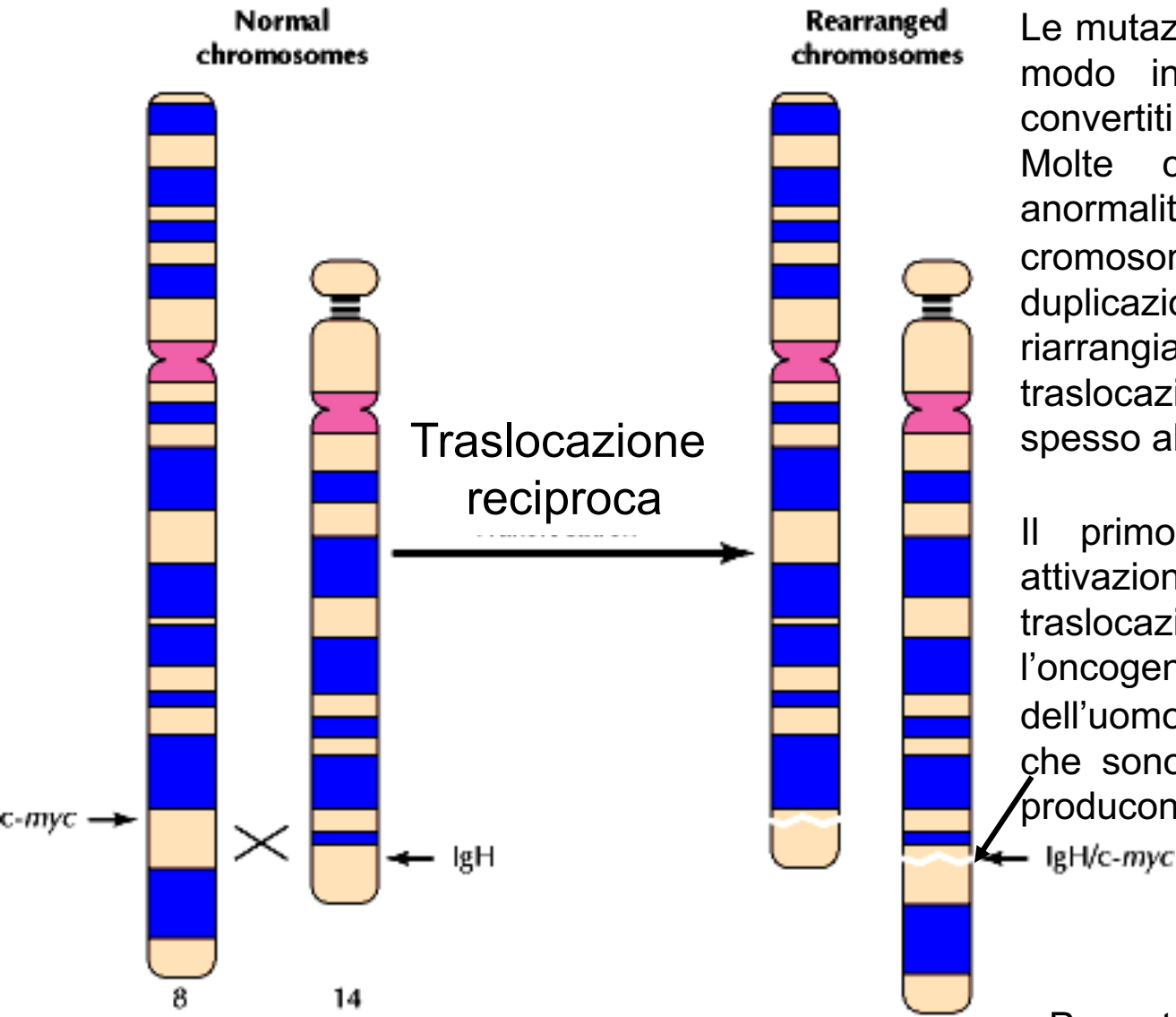


Amplificazione di un oncogene. c-myc

Un esempio notevole **dell'amplificazione degli oncogeni** è il coinvolgimento del gene *N-myc*, che è correlato a *c-myc*, nel neuroblastoma (un tumore infantile delle cellule neuronali embrionali).

Copie multiple di *N-myc* sono spesso presenti nei tumori aggressivi a crescita rapida, a indicare che l'amplificazione di *N-myc* è associata con la progressione dei neuroblastomi verso una maggiore malignità.

Traslocazioni cromosomiche: linfoma di Burkitt



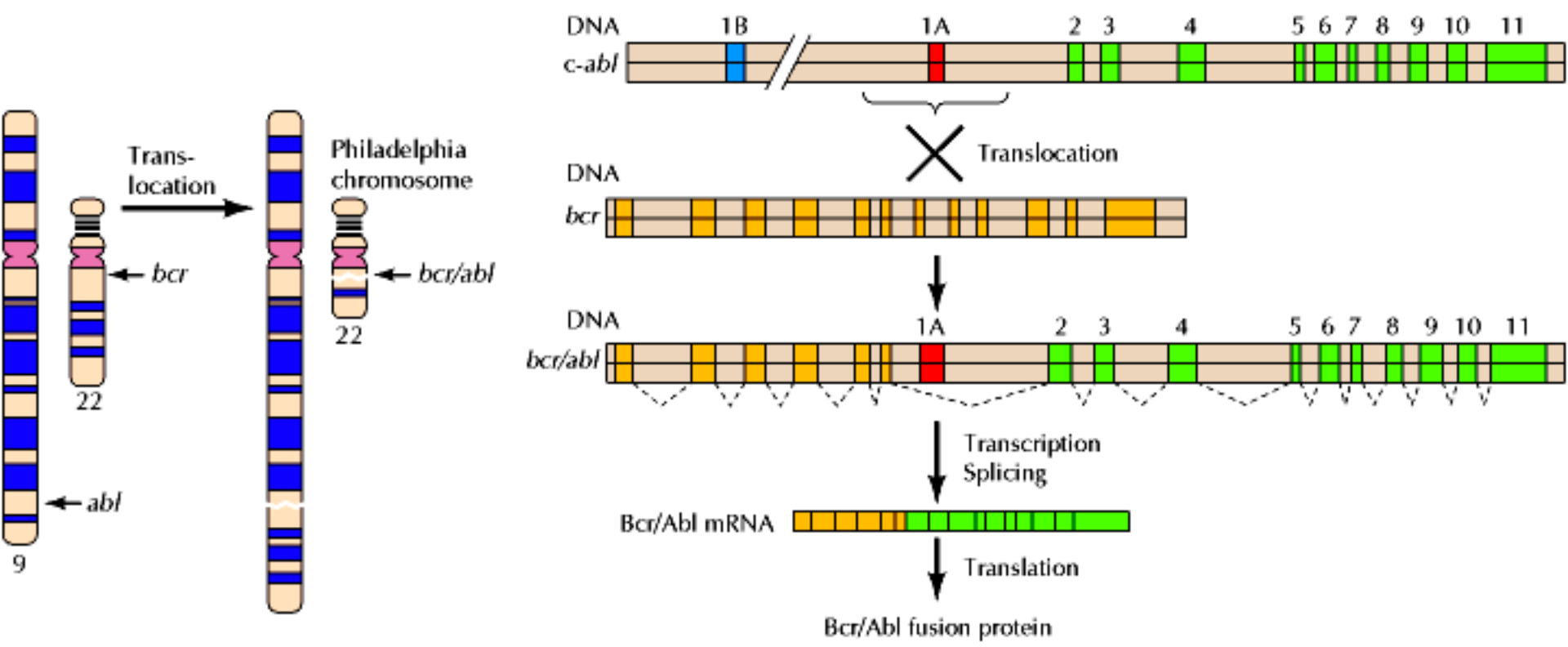
Le mutazioni puntiformi non sono il solo modo in cui i protooncogeni sono convertiti in oncogeni nei tumori umani. Molte cellule cancerose mostrano anomalie nella struttura dei cromosomi, tra cui traslocazioni, duplicazioni e delezioni. I riarrangiamenti genici che derivano da traslocazioni cromosomiche portano spesso all'attivazione di oncogeni.

Il primo esempio caratterizzato di attivazione di un oncogene per traslocazione cromosomica è stato l'oncogene c-myc nei **linfomi di Burkitt** dell'uomo e nei plasmocitomi di topo, che sono neoplasie dei linfociti B che producono anticorpi.

Promotore dei geni delle catene pesanti delle immunoglobuline

La traslocazione del protooncogene *abl* dal cromosoma 9 al cromosoma 22 è presente nella **leucemia mieloide cronica**. La traslocazione porta alla fusione del gene *abl* (Abelson) con il suo partner di traslocazione, un gene chiamato *bcr* (braekpoint cluster region), sul cromosoma 22.

Il risultato è la produzione di una **proteina di fusione Bcr/Abl** in cui il terminale amminico della proteina Abl è sostituito da sequenze aminoacidiche Bcr. **La fusione delle sequenze Bcr porta all'attività anomala e alla alterata localizzazione subcellulare della proteina-tirosina chinasi Abl e alla trasformazione della cellula.**



Mutazioni di geni coinvolti nello sviluppo dei tumori: oncosoppressori

Un gene oncosoppressore (o semplicemente oncosoppressore) è un gene che codifica per prodotti che agiscono negativamente sulla progressione del ciclo cellulare proteggendo in tal modo la cellula dall'accumulo di mutazioni potenzialmente tumorali.

Nel caso di un gene oncosoppressore, le mutazioni devono ricadere in entrambi gli alleli per promuovere un effetto la crescita cellulare.

Geni oncosoppressori: Gene del retinoblastoma

Controllo della transizione $G_1 \rightarrow S$

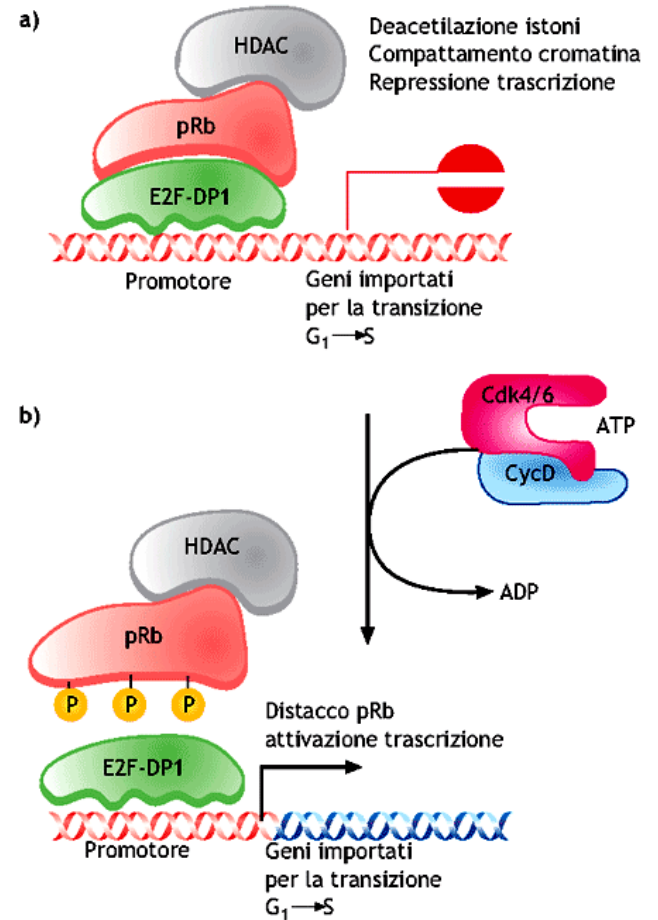
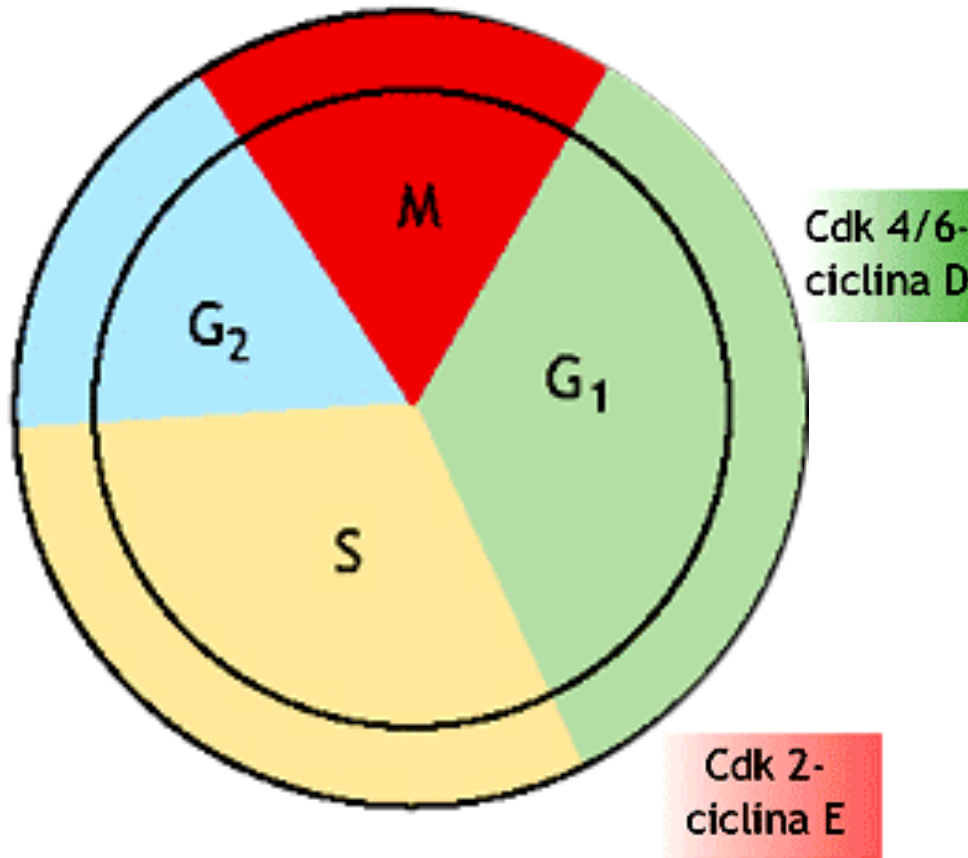


Figura 7.17 Fattore di trascrizione E2F e progressione $G_1 \rightarrow S$. In assenza di segnali che promuovono la proliferazione cellulare, quali ad esempio fattori di crescita, pRb non è fosforilata dai complessi ciclina-cdk e può legare il fattore di trascrizione E2F-DP1. **(a)** In questo modo pRb posiziona sui promotori legati da E2F-DP1 enzimi modificatori della cromatina quali le HDAC che causano la repressione della trascrizione a causa del compattamento locale della cromatina. Questa condizione appena descritta è quella di una cellula nella fase G_0 del ciclo cellulare. **(b)** Segnali che portano all'attivazione del complesso Cdk-ciclina innescano la fosforilazione di pRb ed il suo distacco da E2F-DP1. In questo modo la cromatina è meno compatta e l'RNA polimerasi può iniziare a trascrivere i geni sotto il controllo di E2F.

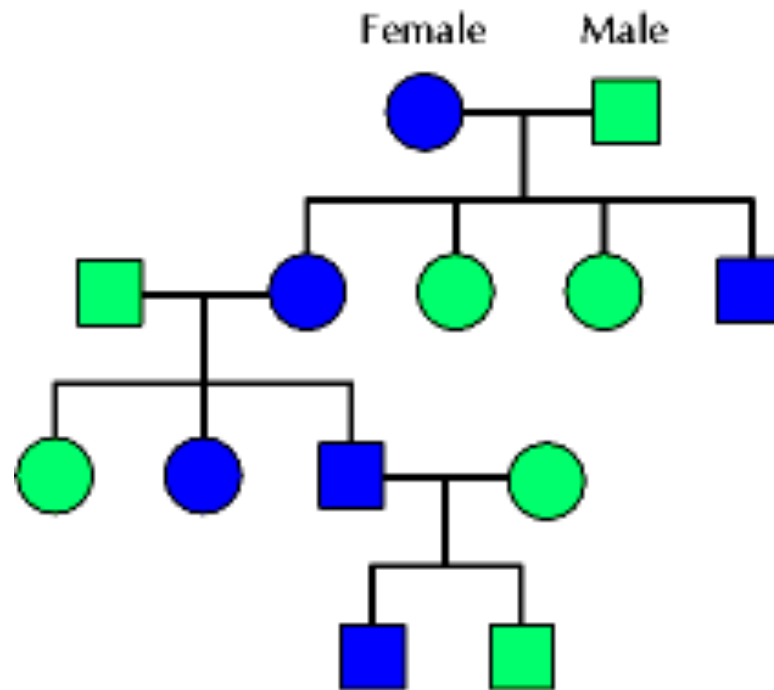
Geni oncosoppressori: Gene del retinoblastoma

Il primo gene oncosoppressore venne identificato da studi del retinoblastoma, un raro tumore (1 su 20000) oculare dei bambini che può colpire la retina di un solo occhio oppure di entrambi.

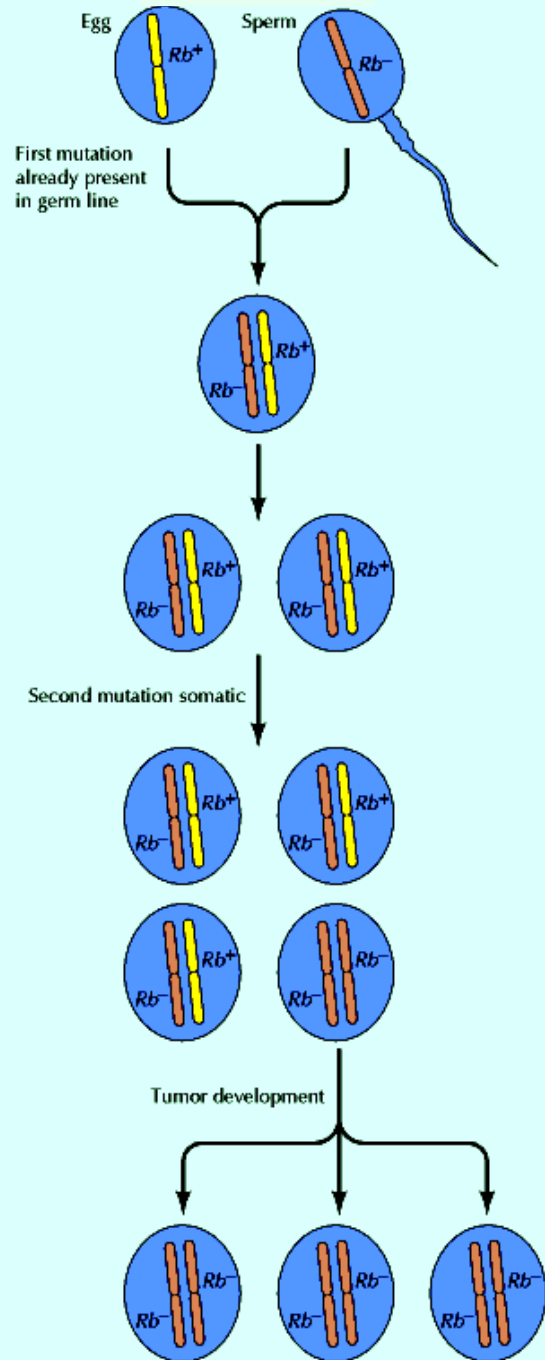
Purché rivelato precocemente, il retinoblastoma può essere trattato con successo e molti pazienti sopravvivono fino ad avere una famiglia. Di conseguenza ci si accorse che alcuni casi di retinoblastoma sono ereditari.

In questi casi circa il 50% dei bambini di un genitore colpito sviluppa il retinoblastoma, in accordo con la trasmissione mendeliana di un singolo gene dominante che conferisce suscettibilità allo sviluppo del tumore.

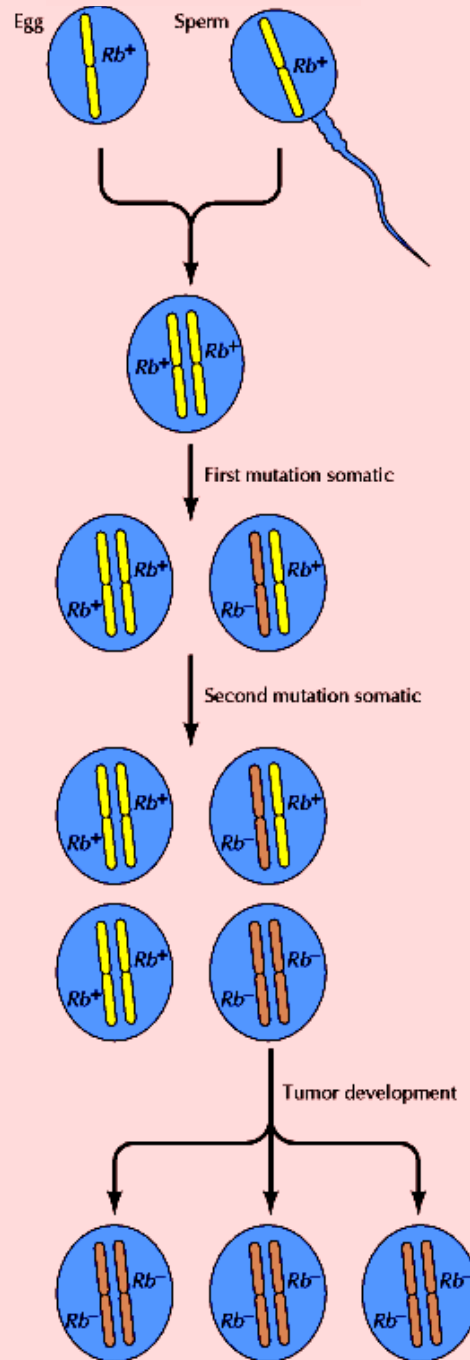
Ereditarietà del retinoblastoma



EREDITARIO



NON EREDITARIO



L'oncosoppressore p53

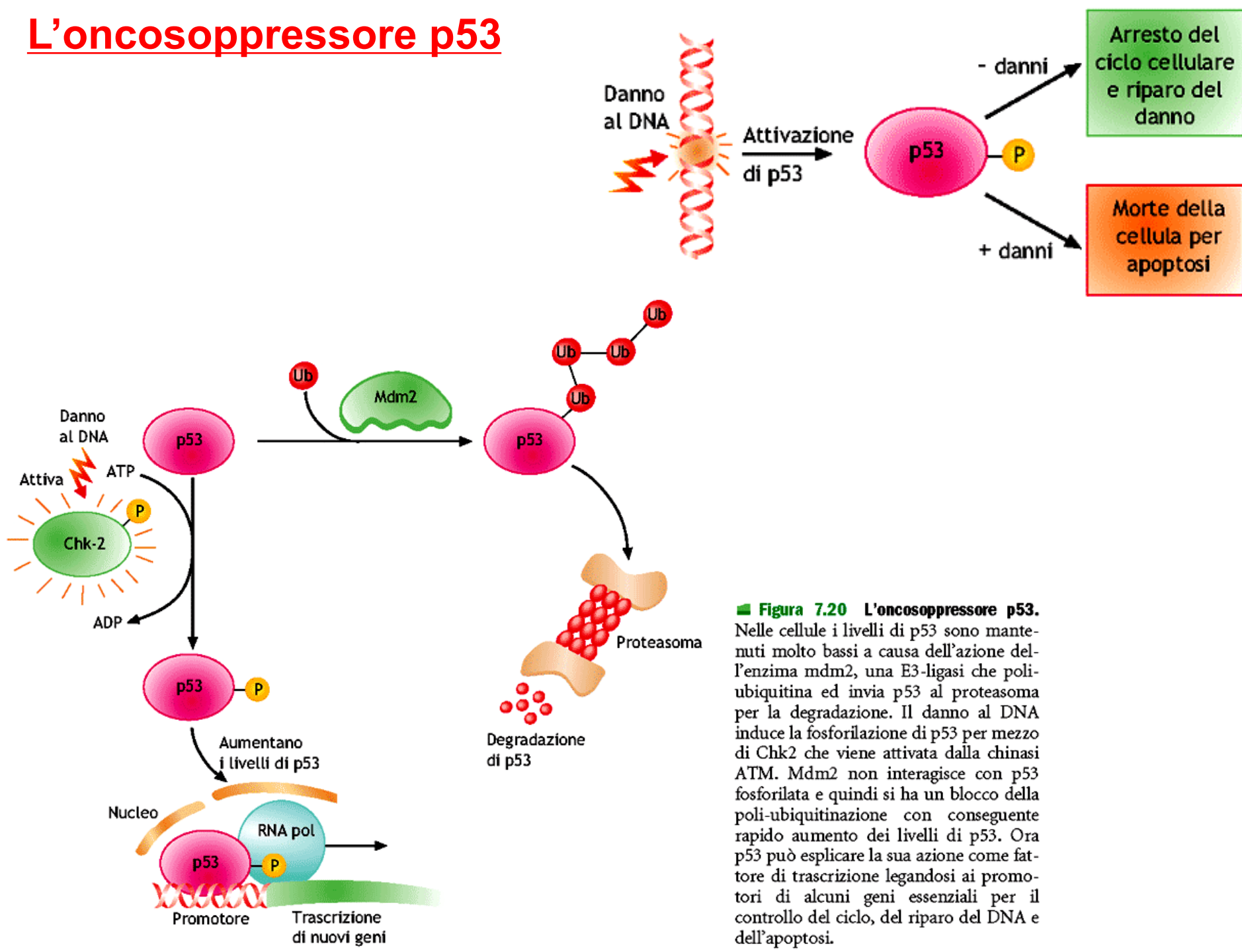
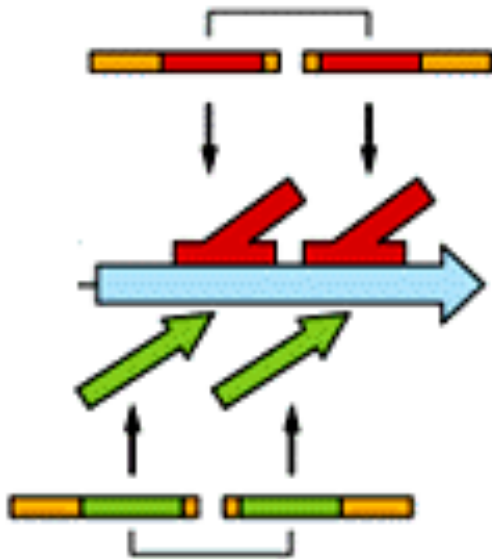


Figura 7.20 L'oncosoppressore p53.

Nelle cellule i livelli di p53 sono mantenuti molto bassi a causa dell'azione dell'enzima mdm2, una E3-ligasi che poli-ubiquitina ed invia p53 al proteasoma per la degradazione. Il danno al DNA induce la fosforilazione di p53 per mezzo di Chk2 che viene attivata dalla chinasi ATM. Mdm2 non interagisce con p53 fosforilata e quindi si ha un blocco della poli-ubiquitinazione con conseguente rapido aumento dei livelli di p53. Ora p53 può esplicare la sua azione come fattore di trascrizione legandosi ai promotori di alcuni geni essenziali per il controllo del ciclo, del riparo del DNA e dell'apoptosi.

GENI ONCOSOPPRESSORI E PROTOONCOGENI

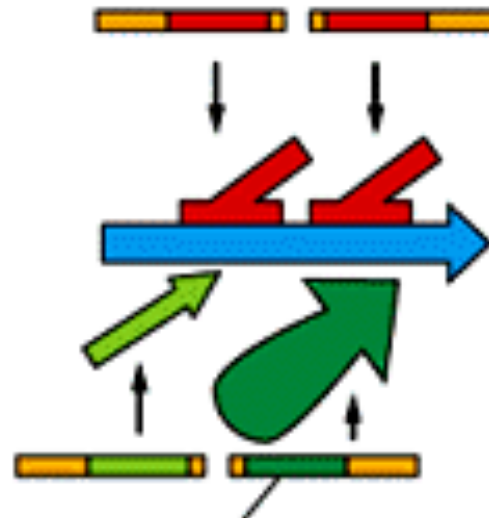
due copie del gene
oncosoppressore



due copie del
protooncogene

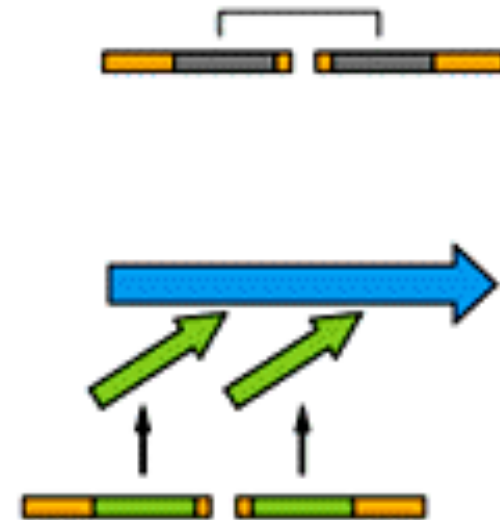
PROLIFERAZIONE
CELLULARE **NORMALE**

una mutazione rende un singolo
protooncogene iperattivo



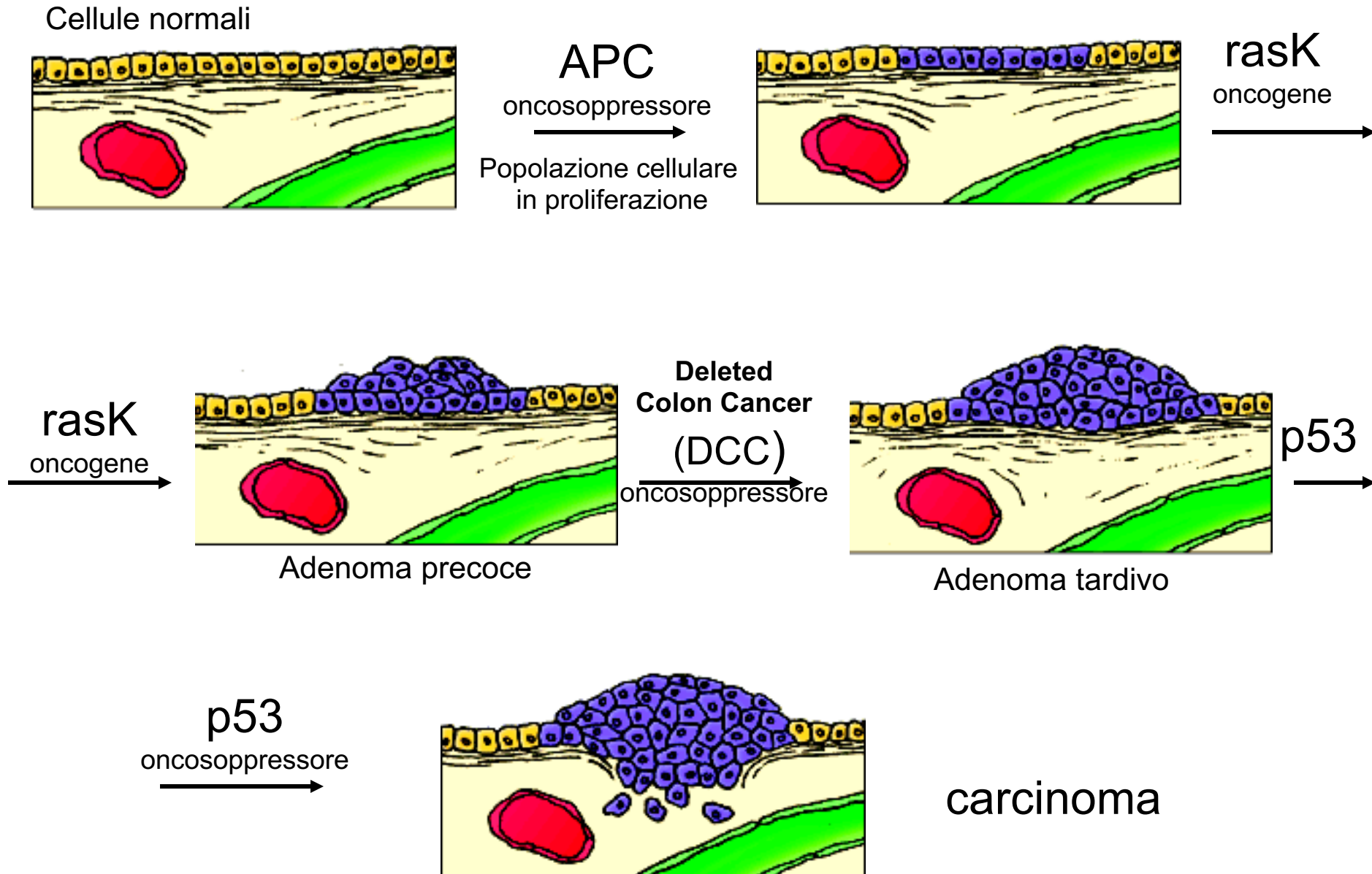
PROLIFERAZIONE
CELLULARE **ECCESSIVA**

entrambi gli alleli
oncosoppressori
sono inattivati. Es:p53



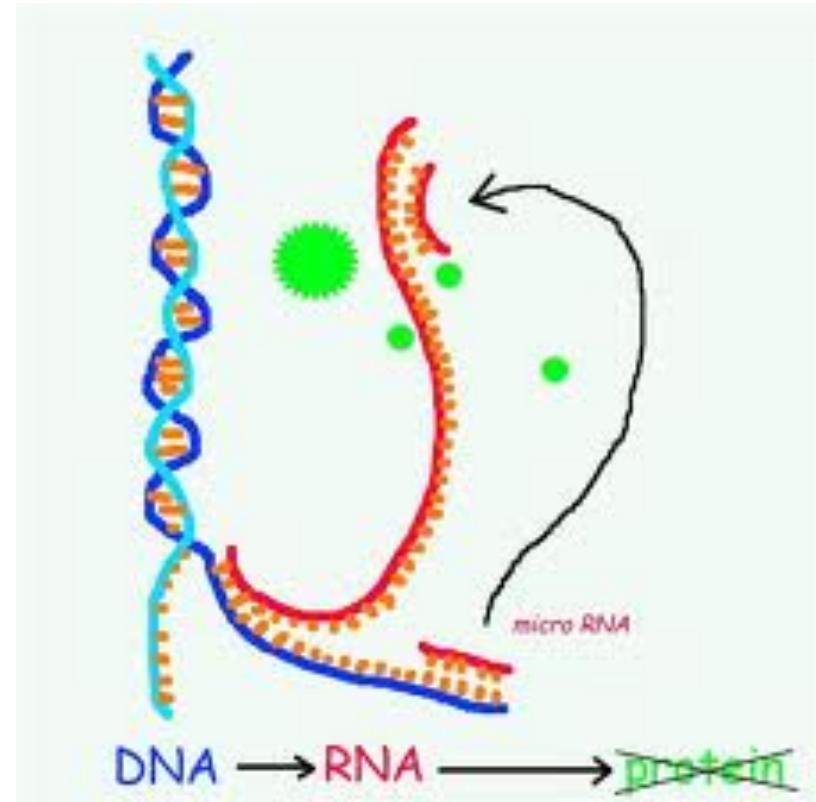
PROLIFERAZIONE
CELLULARE **ECCESSIVA**

Alterazioni genetiche nei carcinomi del colon



Regolatori dell'espressione genica: microRNA (miRNA)

- 19-30 long single stranded RNAs
- Negative regulators of gene expression
- They regulate up to 30% of human genes and thus control cell proliferation and survival
- About 2000 miRNAs have been identified so far in human (2013)



Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes *miR15* and *miR16* at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia

George Adrian Calin*, Calin Dan Dumitru*, Masayoshi Shimizu*, Roberta Bichi*, Simona Zupo[†], Evan Noch*, Hansjuerg Aldler*, Sashi Rattan*, Michael Keating[‡], Kanti Rai[§], Laura Rassenti[¶], Thomas Klipps[¶], Massimo Negrini*, Florenca Bullrich*, and Carlo M. Croce*^{||}

*Kimmel Cancer Center, Thomas Jefferson University, Philadelphia, PA 19107; [†]Clinical Immunology, National Institute for Research on Cancer, 16132 Genoa, Italy; [‡]Department of Leukemia, University of Texas M. D. Anderson Cancer Center, Houston, TX 77030; [§]Long Island Jewish Medical Center, New Hyde Park, NY 11040; and [¶]Department of Medicine, University of California at San Diego, La Jolla, CA 92093

Contributed by Carlo M. Croce, October 7, 2002

Micro-RNAs (*miR* genes) are a large family of highly conserved noncoding genes thought to be involved in temporal and tissue-specific gene regulation. MiRs are transcribed as short hairpin precursors (~70 nt) and are processed into active 21- to 22-nt RNAs by Dicer, a ribonuclease that recognizes target mRNAs via base-pairing interactions. Here we show that *miR15* and *miR16* are located at chromosome 13q14, a region deleted in more than half of B cell chronic lymphocytic leukemias (B-CLL). Detailed deletion and expression analysis shows that *miR15* and *miR16* are located within a 30-kb region of loss in CLL, and that both genes are deleted or down-regulated in the majority (~68%) of CLL cases.

Research Consortium institutions. Briefly, peripheral blood was obtained from CLL patients, and mononuclear cells were isolated through Ficoll/Hypaque gradient centrifugation (Amersham Pharmacia Biotech) and then processed for RNA and DNA extraction according to standard protocols (14). As normal controls for LOH studies, we used DNA from bucal mucosa from the corresponding patients included on small (1–2 mm²) pieces of paper.

We also used 30 human cell lines: AS283, BL2, Bla, BJAB, CA46, Namalva, P3HRI, PAPB 682, PABm, and Raji (Burkitt's lymphoma); Dell1, SKDHL, and ST486 (T cell lymphoma); JM (immunoblastic B cell lymphoma); MC116 (undifferentiated

Abstract Micro-RNAs (*miR* genes) are a large family of highly conserved noncoding genes thought to be involved in temporal and tissue-specific gene regulation. MiRs are transcribed as short hairpin precursors (~70 nt) and are processed into active 21- to 22-nt RNAs by Dicer, a ribonuclease that recognizes target mRNAs via base-pairing interactions. Here we show that *miR15* and *miR16* are located at chromosome 13q14, a region deleted in more than half of B cell chronic lymphocytic leukemias (B-CLL). Detailed deletion and expression analysis shows that *miR15* and *miR16* are located within a 30-kb region of loss in CLL, and that both genes are deleted or down-regulated in the majority (~68%) of CLL cases.

Introduction Micro-RNAs (*miR* genes) are a large family of highly conserved noncoding genes thought to be involved in temporal and tissue-specific gene regulation. MiRs are transcribed as short hairpin precursors (~70 nt) and are processed into active 21- to 22-nt RNAs by Dicer, a ribonuclease that recognizes target mRNAs via base-pairing interactions. Here we show that *miR15* and *miR16* are located at chromosome 13q14, a region deleted in more than half of B cell chronic lymphocytic leukemias (B-CLL). Detailed deletion and expression analysis shows that *miR15* and *miR16* are located within a 30-kb region of loss in CLL, and that both genes are deleted or down-regulated in the majority (~68%) of CLL cases.

Discussion Micro-RNAs (*miR* genes) are a large family of highly conserved noncoding genes thought to be involved in temporal and tissue-specific gene regulation. MiRs are transcribed as short hairpin precursors (~70 nt) and are processed into active 21- to 22-nt RNAs by Dicer, a ribonuclease that recognizes target mRNAs via base-pairing interactions. Here we show that *miR15* and *miR16* are located at chromosome 13q14, a region deleted in more than half of B cell chronic lymphocytic leukemias (B-CLL). Detailed deletion and expression analysis shows that *miR15* and *miR16* are located within a 30-kb region of loss in CLL, and that both genes are deleted or down-regulated in the majority (~68%) of CLL cases.

Conclusion Micro-RNAs (*miR* genes) are a large family of highly conserved noncoding genes thought to be involved in temporal and tissue-specific gene regulation. MiRs are transcribed as short hairpin precursors (~70 nt) and are processed into active 21- to 22-nt RNAs by Dicer, a ribonuclease that recognizes target mRNAs via base-pairing interactions. Here we show that *miR15* and *miR16* are located at chromosome 13q14, a region deleted in more than half of B cell chronic lymphocytic leukemias (B-CLL). Detailed deletion and expression analysis shows that *miR15* and *miR16* are located within a 30-kb region of loss in CLL, and that both genes are deleted or down-regulated in the majority (~68%) of CLL cases.

Key words Micro-RNAs (*miR* genes) are a large family of highly conserved noncoding genes thought to be involved in temporal and tissue-specific gene regulation. MiRs are transcribed as short hairpin precursors (~70 nt) and are processed into active 21- to 22-nt RNAs by Dicer, a ribonuclease that recognizes target mRNAs via base-pairing interactions. Here we show that *miR15* and *miR16* are located at chromosome 13q14, a region deleted in more than half of B cell chronic lymphocytic leukemias (B-CLL). Detailed deletion and expression analysis shows that *miR15* and *miR16* are located within a 30-kb region of loss in CLL, and that both genes are deleted or down-regulated in the majority (~68%) of CLL cases.

Abbreviations Micro-RNAs (*miR* genes) are a large family of highly conserved noncoding genes thought to be involved in temporal and tissue-specific gene regulation. MiRs are transcribed as short hairpin precursors (~70 nt) and are processed into active 21- to 22-nt RNAs by Dicer, a ribonuclease that recognizes target mRNAs via base-pairing interactions. Here we show that *miR15* and *miR16* are located at chromosome 13q14, a region deleted in more than half of B cell chronic lymphocytic leukemias (B-CLL). Detailed deletion and expression analysis shows that *miR15* and *miR16* are located within a 30-kb region of loss in CLL, and that both genes are deleted or down-regulated in the majority (~68%) of CLL cases.

References Micro-RNAs (*miR* genes) are a large family of highly conserved noncoding genes thought to be involved in temporal and tissue-specific gene regulation. MiRs are transcribed as short hairpin precursors (~70 nt) and are processed into active 21- to 22-nt RNAs by Dicer, a ribonuclease that recognizes target mRNAs via base-pairing interactions. Here we show that *miR15* and *miR16* are located at chromosome 13q14, a region deleted in more than half of B cell chronic lymphocytic leukemias (B-CLL). Detailed deletion and expression analysis shows that *miR15* and *miR16* are located within a 30-kb region of loss in CLL, and that both genes are deleted or down-regulated in the majority (~68%) of CLL cases.

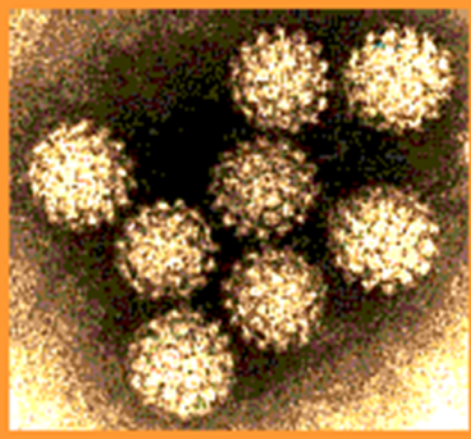
Notes Micro-RNAs (*miR* genes) are a large family of highly conserved noncoding genes thought to be involved in temporal and tissue-specific gene regulation. MiRs are transcribed as short hairpin precursors (~70 nt) and are processed into active 21- to 22-nt RNAs by Dicer, a ribonuclease that recognizes target mRNAs via base-pairing interactions. Here we show that *miR15* and *miR16* are located at chromosome 13q14, a region deleted in more than half of B cell chronic lymphocytic leukemias (B-CLL). Detailed deletion and expression analysis shows that *miR15* and *miR16* are located within a 30-kb region of loss in CLL, and that both genes are deleted or down-regulated in the majority (~68%) of CLL cases.

Footnotes Micro-RNAs (*miR* genes) are a large family of highly conserved noncoding genes thought to be involved in temporal and tissue-specific gene regulation. MiRs are transcribed as short hairpin precursors (~70 nt) and are processed into active 21- to 22-nt RNAs by Dicer, a ribonuclease that recognizes target mRNAs via base-pairing interactions. Here we show that *miR15* and *miR16* are located at chromosome 13q14, a region deleted in more than half of B cell chronic lymphocytic leukemias (B-CLL). Detailed deletion and expression analysis shows that *miR15* and *miR16* are located within a 30-kb region of loss in CLL, and that both genes are deleted or down-regulated in the majority (~68%) of CLL cases.

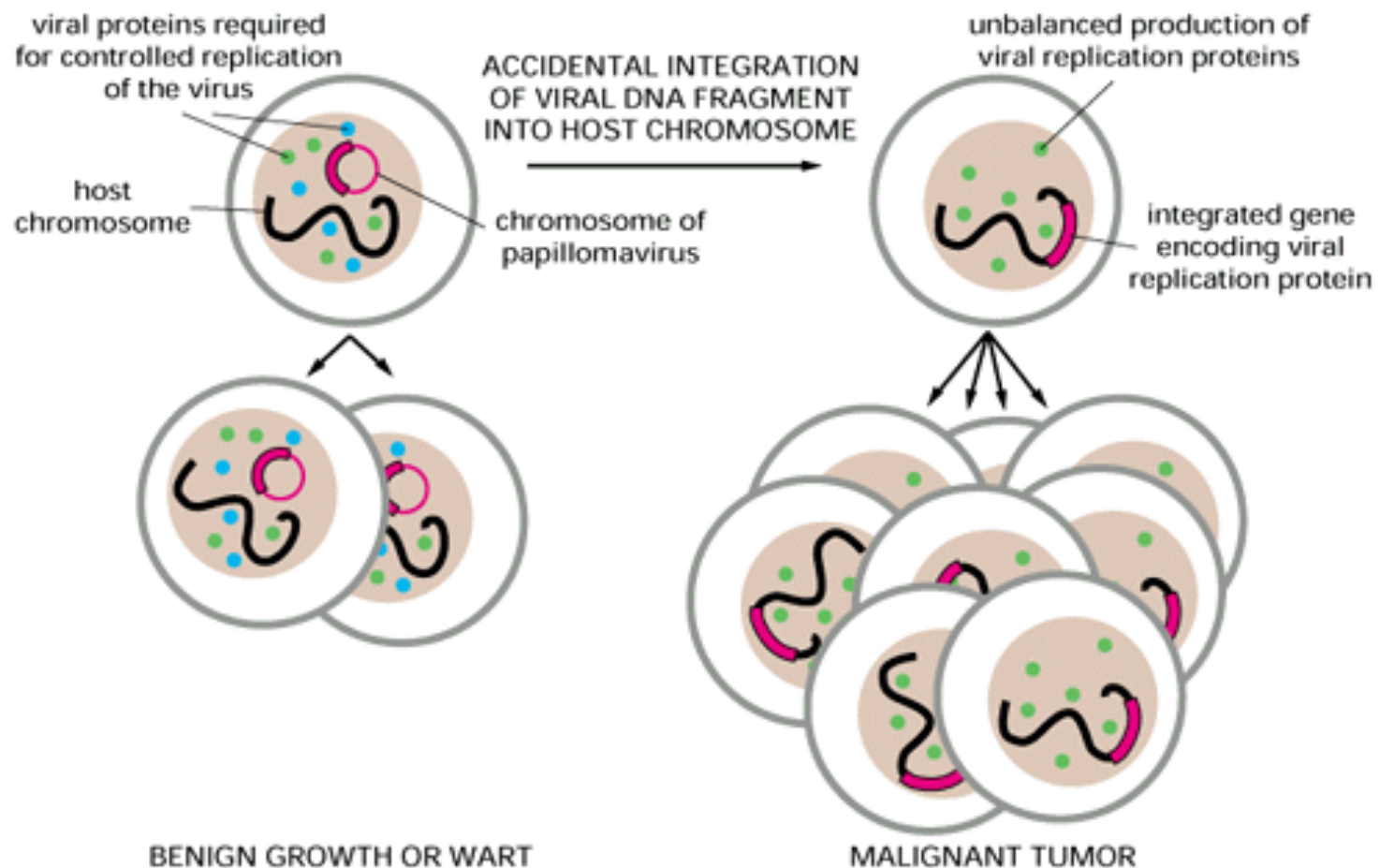
Correspondence Micro-RNAs (*miR* genes) are a large family of highly conserved noncoding genes thought to be involved in temporal and tissue-specific gene regulation. MiRs are transcribed as short hairpin precursors (~70 nt) and are processed into active 21- to 22-nt RNAs by Dicer, a ribonuclease that recognizes target mRNAs via base-pairing interactions. Here we show that *miR15* and *miR16* are located at chromosome 13q14, a region deleted in more than half of B cell chronic lymphocytic leukemias (B-CLL). Detailed deletion and expression analysis shows that *miR15* and *miR16* are located within a 30-kb region of loss in CLL, and that both genes are deleted or down-regulated in the majority (~68%) of CLL cases.

Virus tumorali

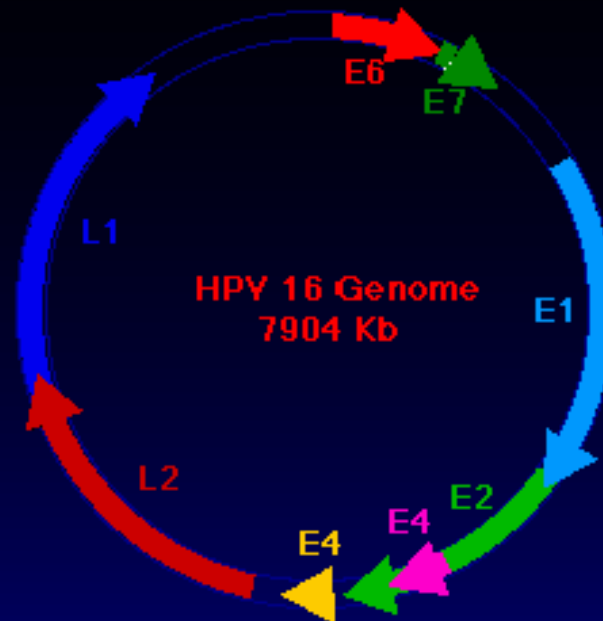
Famiglia del virus	Tumori umani	Dimensioni genoma (Kb)
Virus tumorali a DNA		
Virus dell'epatite B	Cancro del fegato	3
Papillomavirus	Carcinoma cervicale	8
Herpesvirus	Linfoma di Burkitt, carcinoma nasofaringeo	100-200
Virus tumorali ad RNA		
Retrovirus	Leucemia T dell'adulto	9



Virus a DNA
Papillomavirus (HPV) può
causare tumori benigni o cancro della
cervice uterina



Human Papillomavirus Genome



La trasformazione cellulare deriva dall'espressione di due geni della regione precoce, **E6 e E7**. E7 sequestra pRb mentre E6 degrada p53.

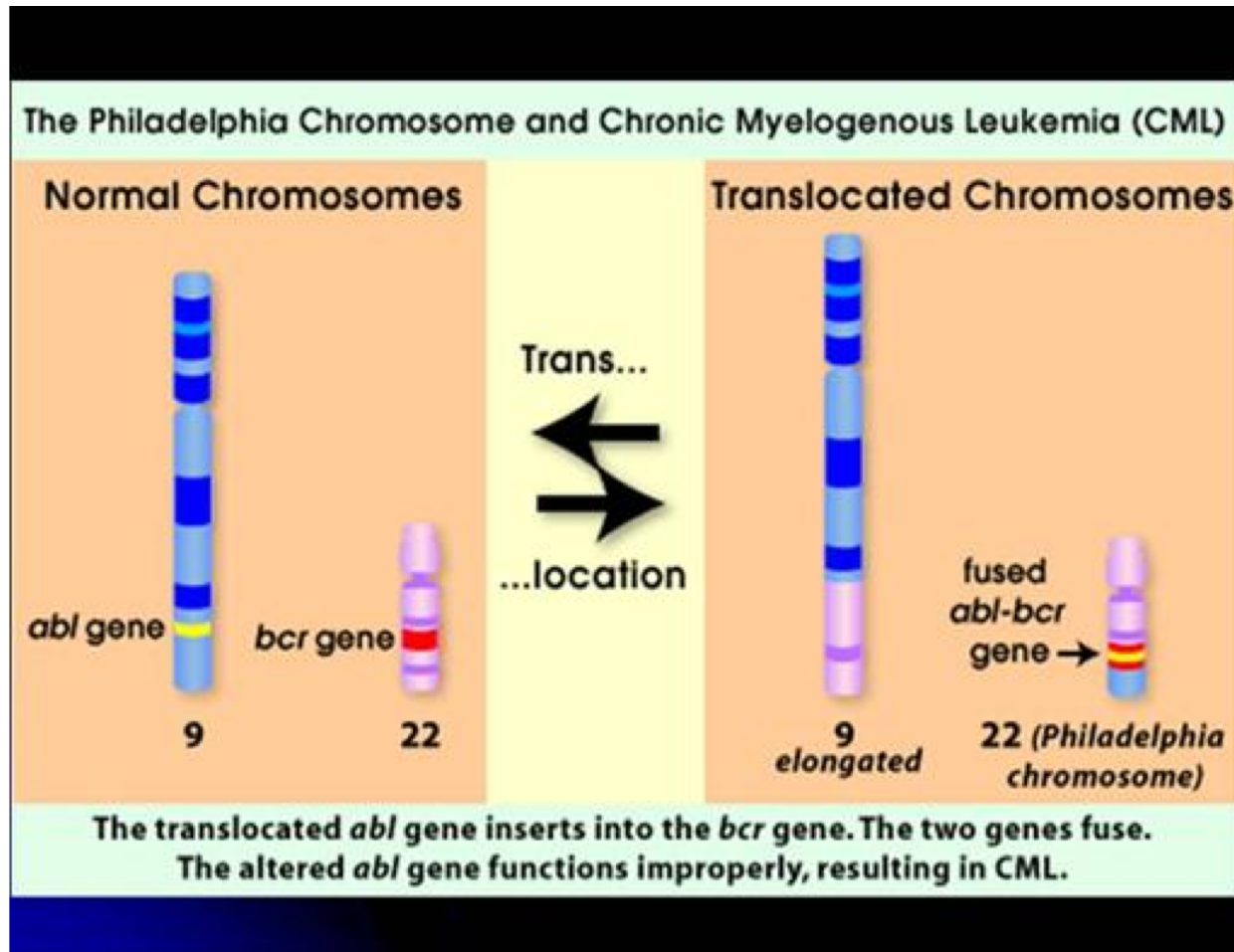
Chemotherapy and radiation therapy

- **Mechanism of action**
 - ✓ **DNA modification**
 - ✓ **Interference with DNA replication**
 - ✓ **Inhibition of mitosis**
- **Generalized toxicity (bone marrow, hair follicle, gastrointestinal toxicity)**
- **Mutation of normal cells (insorgence of a different cancer)**
- **RESISTANCE**

Targeted therapy- Terapia mirata

**Identify and target the key molecular aberration
that drives the malignant phenotype**

Targeting *abl-bcr* : Chromosomal translocation in Chronic Myelogenous Leukemia



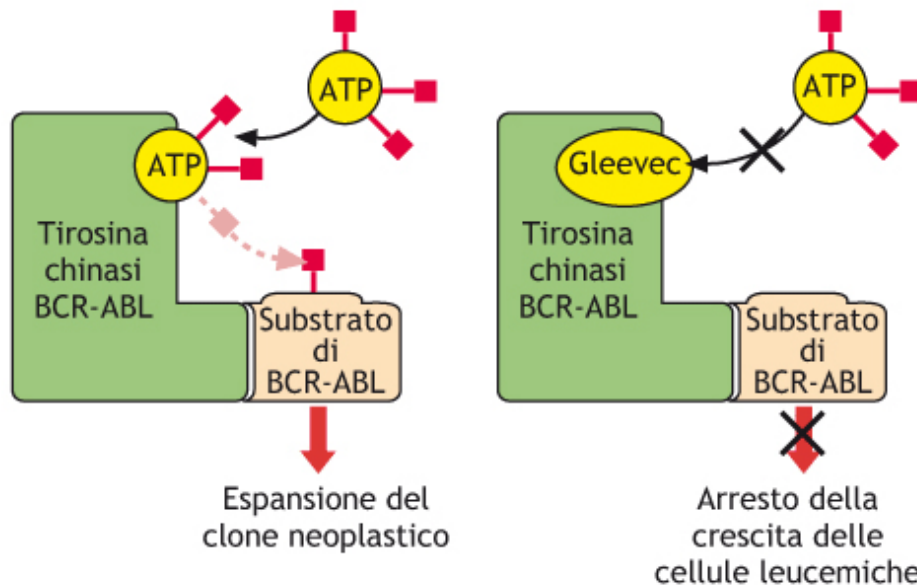


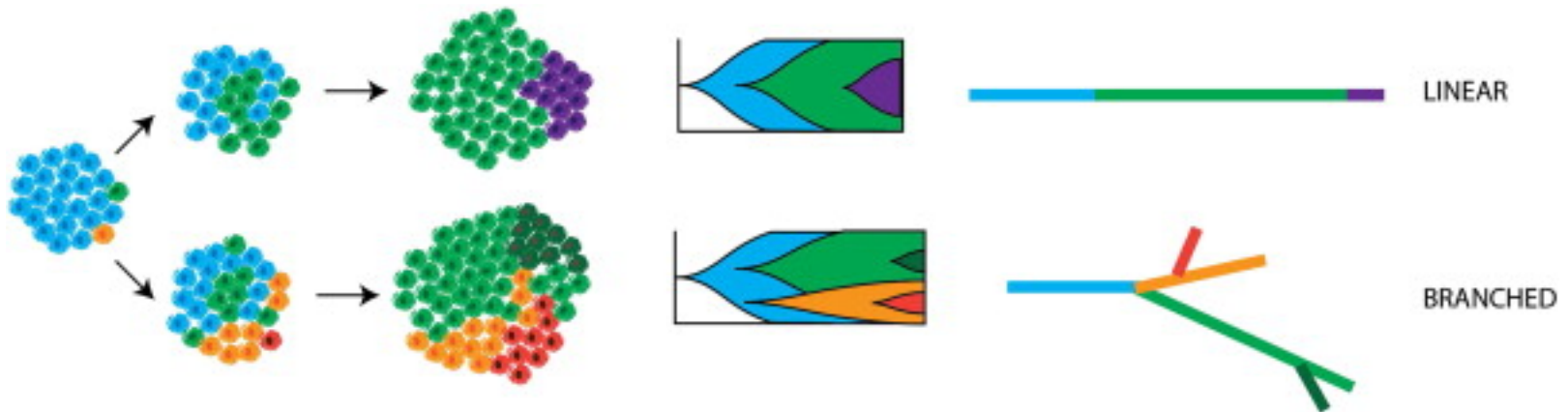
Figura 13.10 Modalità di azione del Gleevec. La proteina tirosina chinasi BCR-ABL è costitutivamente attiva nelle cellule di leucemia mieloide cronica e rappresenta l'evento molecolare patogenetico per questa neoplasia. Il Gleevec, legandosi alla tasca enzimatica dell'ATP, blocca la capacità di BCR-ABL di fosforilare i suoi substrati e determina l'arresto della crescita delle cellule leucemiche.

**Response in 80%
patients – 20% of
patients either do not
tolerate it or develop
resistance over time**

Understanding drug resistance

"Observations of human cancers and animal models argue that tumor development proceeds via a process formally analogous to Darwinian in which a succession of genetic changes, each conferring one or another type of growth, leads to the progressive conversion of human cells into cancer cells"

Hanahan and Weinberg 2000



Cancer is a moving target

- It has been necessary to go beyond the traditional “one” molecular target.
- Targeted therapy has evolved into combination therapy blocks more pathways at the same time.

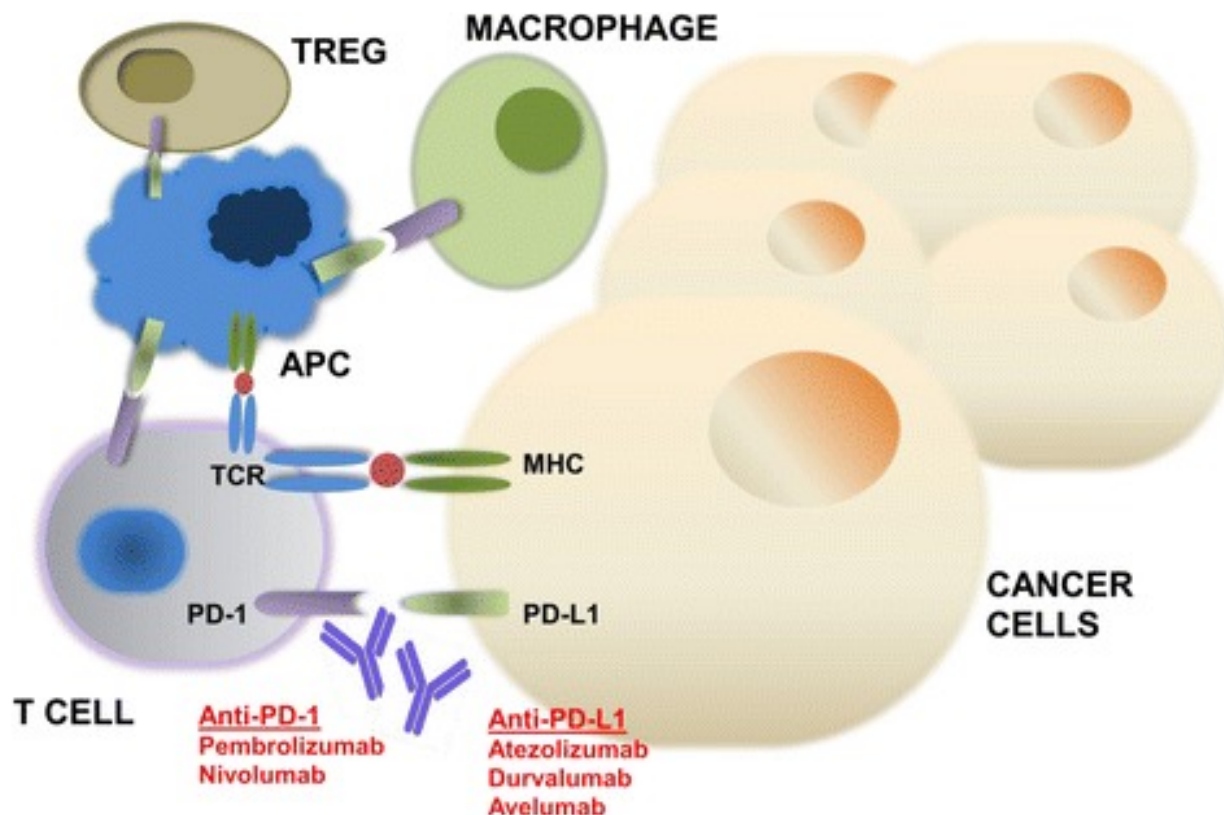
Esempio di terapia combinata per il melanoma

Il trattamento combinato di inibitore (vemurafenib) di BRAF mutato (oncogene) e inibitore (trametinib) di MEK (un altro oncogene) è significativamente superiore in termini di efficacia e attività rispetto al trattamento con BRAF inibitore da solo.

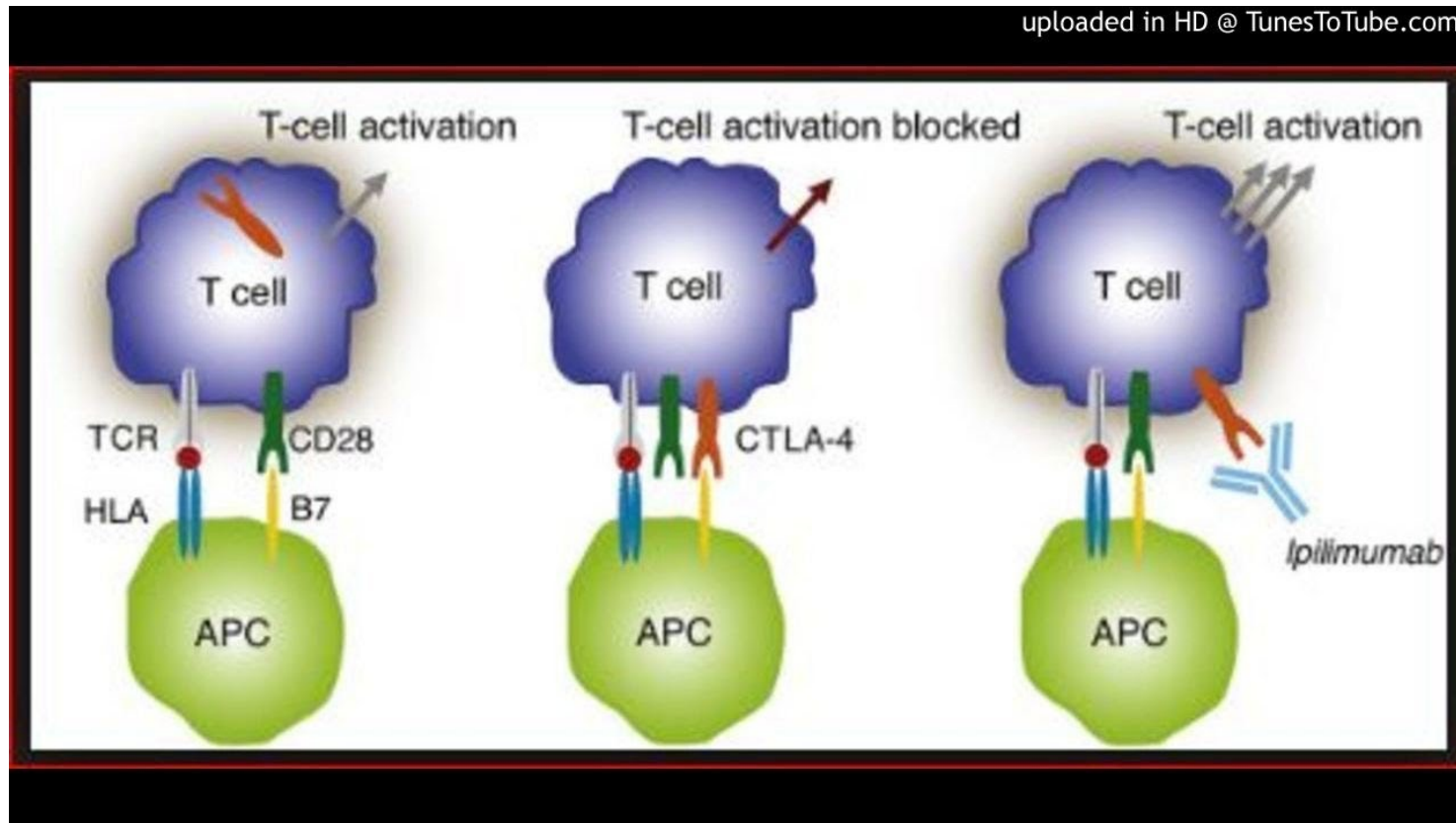
L'immunologo statunitense James P. Allison e il giapponese Tasuku Honjo hanno vinto il premio Nobel 2018 per la medicina per le loro scoperte che aumentano le probabilità di successo dell'immunoterapia



**Nivolumab è un anticorpo che blocca PDL1,
espressa da alcuni tumori,
che interferisce con l'attività dei linfociti T**



Ipilimumab è un anticorpo che blocca il segnale inibitorio delle cellule T indotto dalla via del CTLA-4



<https://www.youtube.com/watch?v=N-BnHzuUDwM>

Chimeric Antigen Receptor T (CART)- cell therapy

