

DIPARTIMENTO DI FISIOPATOLOGIA CLINICA

PROGETTO

Identificazione e caratterizzazione di un nuovo fattore di crescita del mieloma multiplo

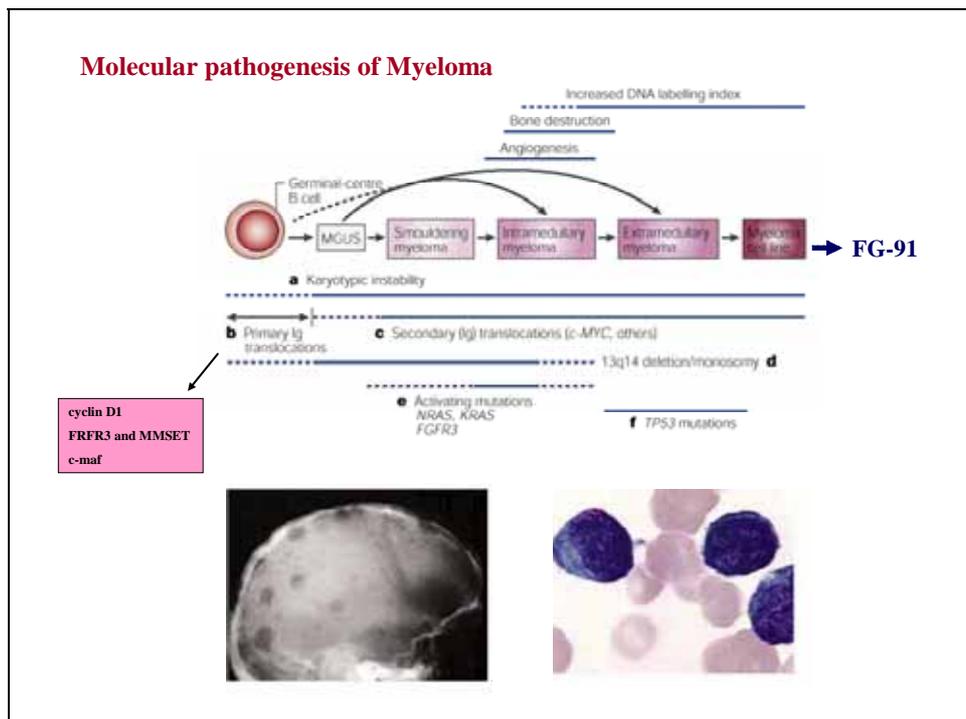
RESPONSABILE SCIENTIFICO: Prof. Federico Cozzolino

COLLABORATORI: M. Lucibello, P. Bonini

Il Mieloma Multiplo (MM) è un grave disordine ematologico caratterizzato dalla proliferazione neoplastica di un singolo clone di plasmacellule. Le manifestazioni cliniche di questa malattia sono dovute alla predominante proliferazione ed accumulo delle cellule maligne all'interno del midollo osseo ed alla sostituzione progressiva del midollo osseo normale. Nella fase spesso terminale della malattia, la leucemia plasmacellulare, le cellule con alto potenziale proliferativo emergono, prendono il sopravvento ed iniziano proliferare anche in altri siti extramidollari quale il sangue periferico. A partire dal sangue periferico di questi pazienti è possibile ottenere delle linee di mieloma multiplo. Una di queste linee cellulari, FG-91, è stata utilizzata nel nostro laboratorio come modello cellulare di studio per la comprensione degli eventi che sono in grado di conferire dei vantaggi selettivi di crescita e/o sopravvivenza e che possono portare una cellula normale a una progressiva trasformazione in una cellula neoplastica. In particolare, lo studio si è concentrato sulla definizione del ruolo di un nuovo fattore di crescita e/o sopravvivenza delle plasmacellule mielomatose prodotto e secreto dalle stesse cellule nel mezzo di coltura.

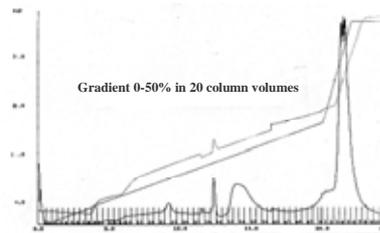
Attraverso studi funzionali e metodologie purificative dei sovranatanti di coltura abbiamo isolato un nuovo fattore di crescita per il MM, la cui sintesi è, in condizioni normali, fortemente regolata a livello post-trascrizionale. Al contrario, le plasmacellule mielomatose producono la proteina che attraverso i compartimenti di secrezione raggiunge l'ambiente extracellulare dove interagisce e attiva molecole recettoriali specifiche che transducono segnali di crescita cellulare.

L'identificazione di queste molecole recettoriali, tramite metodiche biochimiche e di MS, consentirà di studiarne le vie metaboliche attivate e di ottenere maggiori informazioni sulla biologia di questa proteina. Sulla scorta delle informazioni così ottenute, saranno quindi impiegate *library* combinatoriali di diversa natura per selezionare, anche mediante biosensori, composti capaci di inibire la transduzione del segnale di questo fattore di crescita.

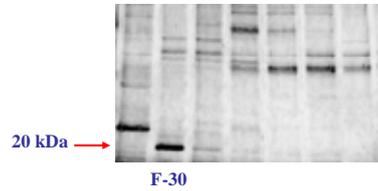


Strategy of Purification

FG-91 conditioned medium was fractionated by AEC.



SDS-PAGE analysis of chromatographic fractions.



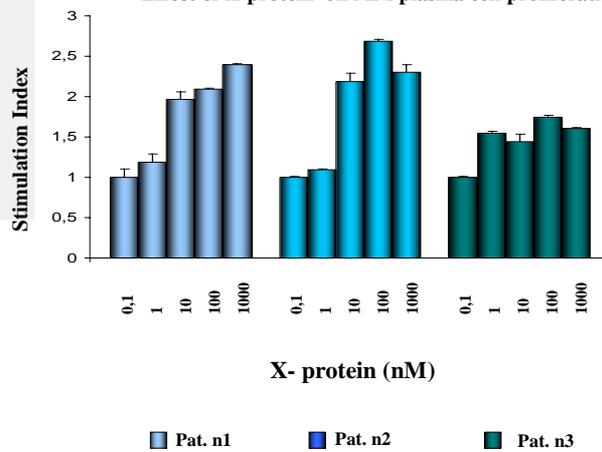
Stimulation index of FG-91 cells cultured with several dilution of chromatographic fractions.

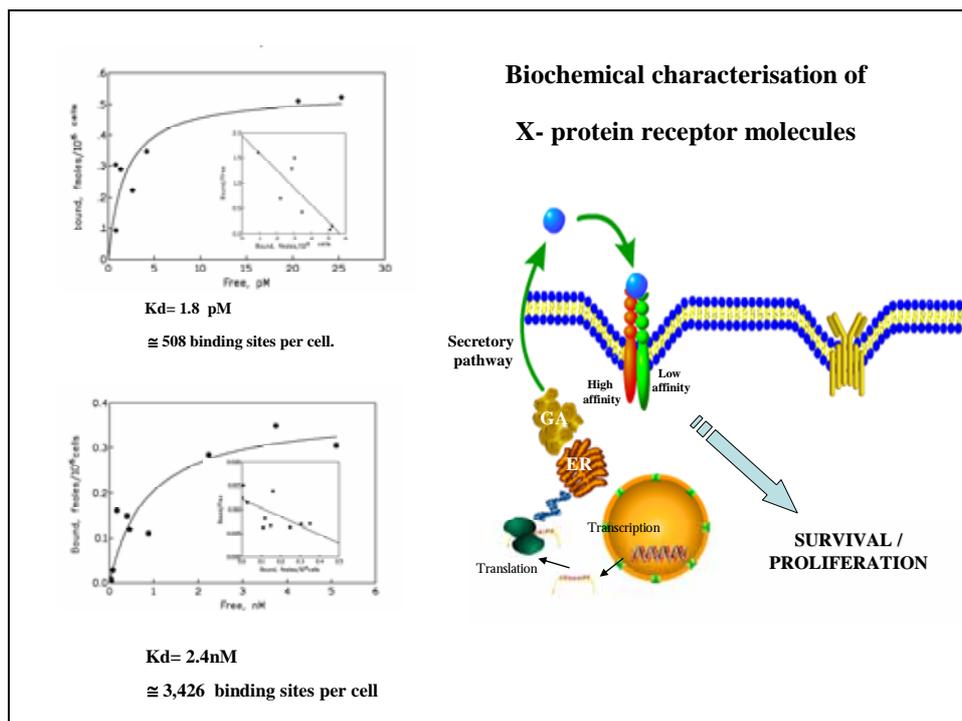
	1:10	1:20	1:200	1:2000	1:20000	1:200,000
F-22	5,0	3,2	1,7	1	1	1
F-30	9,48	5,88	2	1	1	1
F-33	3,9	4,08	2,4	2	1	1
F-35	3,95	2,62	1,65	1	1	1

Identification of X-protein by nano-electrospray MS/MS techniques



Effect of X-protein on MM plasma cell proliferation





Conclusions

All the basic information obtained will be used to study small molecule libraries - generated by combinatorial chemistry and analyzed with high-throughput screening methods - in order to select new drugs, specifically able to inhibit the X-protein signal transduction pathways.