

Dott.ssa GABRIELLA SOZZI

Unita' operativa "Citogenetica e Citogenetica Molecolare"
Dipartimento di Oncologia Sperimentale e Laboratori
Istituto Nazionale Tumori, Milano

Il principale campo di interesse dell' Unita' e' l'analisi citogenetica e molecolare delle alterazioni genetiche associate all'insorgenza ed alla progressione dei tumori polmonari, il loro possibile utilizzo come marcatori per la diagnosi precoce di cancro polmonare e quali nuovi possibili bersagli terapeutici.

Il progetto in corso nella Unita' Operativa di Citogenetica Molecolare rappresenta infatti un approccio comprensivo di "cancer genetics" dei tumori polmonari e segue essenzialmente due linee di ricerca.

La prima linea di ricerca, di natura prevalentemente "applicativa" e' focalizzata sulla identificazione e validazione di marcatori molecolari per la diagnosi precoce. L'intento di questa parte di studi e' la messa a punto di test molecolari altamente sensibili e relativamente semplici per un pannello di biomarcatori potenzialmente utilizzabili in trials su larga scala per la diagnosi precoce e per il monitoraggio di pazienti con cancro polmonare.

In questo contesto gli studi condotti nel nostro laboratorio hanno contribuito all'identificazione delle alterazioni citogenetiche e molecolari criticamente coinvolte nel processo di cancerogenesi polmonare mediante l'analisi di mucosa bronchiale morfologicamente sana, lesioni precancerose e tumore invasivo e alla loro ricerca in campioni biologici ottenuti con tecniche minimamente invasive (biopsie bronchiali, espettorato, plasma). Abbiamo pubblicato le prime evidenze molecolari della "field carcinogenesis" dimostrando la presenza di alterazioni citogenetiche e molecolari (esempio le mutazioni di p53 e le delezioni del cromosoma 3) nella mucosa bronchiale apparentemente normale e nelle lesioni precancerose sia di pazienti con tumore polmonare che in forti fumatori senza tumore fornendo l' evidenza del danno genetico precoce indotto dai cancerogeni del fumo. Inoltre abbiamo definito la presenza di spettri diversi di anomalie genetiche in lesioni polmonari sincrone o metacrone dello stesso paziente. In collaborazione con il gruppo diretto da W. K. Hong all' M.D. Anderson Cancer center (Houston, TX) abbiamo partecipato all' analisi di biomarcatori intermedi in trials clinici di chemioprevenzione e a questo scopo abbiamo sviluppato tecniche per l' analisi dei recettori per l' acido retinoico nei tessuti bronchiali e polmonari. L'Unita' Operativa partecipa inoltre ad un largo studio Europeo finanziato nell'ambito del V programma quadro, coordinato dal Prof. J. Field a Liverpool, che prevede l' utilizzo di biomarcatori per la diagnosi precoce di tumore polmonare.

Recentemente abbiamo focalizzato la nostra attenzione sulla validazione di marcatori molecolari nel DNA libero circolante nel plasma di pazienti con tumore polmonare. In un primo lavoro pubblicato nel 1999 abbiamo dimostrato la possibilita' di identificare alterazioni di microsattelliti nel gene FHIT e in altri loci. Successivamente abbiamo ideato e validato due tests molecolari, uno basato sull' uso di un test colorimetrico e piu' recentemente un secondo basato sull' uso della real-time PCR, in grado di quantificare i livelli totali di DNA libero circolante nel plasma di pazienti con tumore plmonare e in individui forti fumatori senza tumore. Il secondo studio, il piu' grande finora pubblicato

per il numero di pazienti e di controlli, utilizzando la tecnica di real-time PCR per il gene della telomerasi umana hTERT , ha riportato elevati livelli di DNA circolante nel plasma in 70 dei 100 pazienti studiati ed in solo 2 dei 100 fumatori cronici asintomatici di controllo con un valore della curva ROC pari a 0.94. Questo studio, pubblicato nel novembre 2003, ha riportato la miglior sensibilità e specificità nell' identificazione dei pazienti con cancro polmonare tra tutte le serie finora pubblicate in letteratura ed ha meritato un Editoriale sullo stesso fascicolo di Journal of Clinical Oncology.

Abbiamo attualmente in corso l'analisi dei valori di DNA plasmatico con questo test molecolare in volontari forti fumatori arruolati all' Istituto Europeo di Oncologia (studio ELCAP) e all' Istituto Nazionale Tumori (studio MILD) per un programma di diagnosi precoce di cancro polmonare con TAC spirale annuale allo scopo di determinare se test molecolari e proteomici possano migliorare l'accuratezza diagnostica dell'esame strumentale.

La seconda linea di ricerca del progetto di Gabriella Sozzi e' dedicata alla delucidazione della funzione e del meccanismo di azione del gene *fragile della triade dell' istidina (FHIT)*, un gene alterato ad elevata frequenza e nelle fasi precoci di sviluppo del cancro polmonare, allo scopo di stabilire le basi molecolari per un suo possibile utilizzo in contesti clinici. In collaborazione con il laboratorio diretto da C. Croce al Kimmel Cancer Center di Philadelphia, Gabriella Sozzi ha contribuito alla identificazione e alla caratterizzazione del ruolo del gene FHIT nella cancerogenesi polmonare ed allo studio della sua funzione biologica. Questi studi hanno portato alla definizione di FHIT quale gene oncosoppressore e a definirne un ruolo centrale nella tumorigenesi del cancro polmonare.

I progetti attualmente in corso sono finanziati da diversi Enti e Fondazioni: AIRC (progetto triennale 2004-2006), Comunità Europea (progetto quadriennale 2003-2006), Ministero della Salute (progetto biennale 2005-2007), Lega Italiana Lotta Tumori (LILT, progetto biennale 2006-2008), Fondazione Ermenegildo Zegna.

Elenco pubblicazioni inerenti al progetto dal 2002 (con IF)

1. Roz L., Gramegna M., Ishii H., Croce CM, **Sozzi G.** Restoration of fragile histidine triad (FHIT) expression induces apoptosis and suppresses tumorigenicity in lung and cervical cancer cell lines. P Natl Acad Sci USA, 99: 3615-20, 2002 (*I.F. 10.272*)
2. **Sozzi G.**, Oggionni M., Alasio L., Conte D., Tavecchio L., Pilotti S., Spinelli P., Calarco G. Molecular changes track recurrence and progression of bronchial precancerous lesions. Lung Cancer, 37: 267-270, 2002 (*I.F. 1.798*)
3. **Sozzi G.**, Andriani F., Gramegna T., Roz L. Involvement of FHIT in lung carcinogenesis prospects for future clinical gene therapy applications. Suppl Tumori, Jul-Aug, 1: S62, 2002 (*I.F. 0.348*)
4. Bearzatto A., Conte D., Frattini M., Zaffaroni N., Andriani F., Balestra D., Tavecchio L., Daidone MG., **Sozzi G.** P16(INK4A) hypermethylation detected by fluorescent methylation-specific PCR in plasmas from non-small cell lung cancer. Clin Cancer Res. 8: 3782-3787, 2002 (*I.F.6.511*)
5. **Sozzi G.**, Conte D., Leon ME., Cirincione R., Roz L, Ratcliffe C., Roz E., Cirenei N., Bellomi M., Pelosi G., Pierotti MA., Pastorino U. Quantification of free circulating DNA as a diagnostic marker in lung cancer J Clin Oncol 2003 (*I.F. 10.864*)
6. Andriani F., Conte D., Mastrangelo T., Leon ME., Ratcliffe C., Roz L., Pelosi G., Goldstrow P., **Sozzi G.**, Pastorino U. Detecting lung cancer in plasma with the use of multiple genetic markers. Int J Cancer, 108:91-96, 2004 (*I.F.4.375*)
7. Pastorino U., Leon M E., .Roz L., and **Sozzi G.** In Reply: Quantification of free circulating DNA as a diagnostic marker in lung cancer J Clin Oncol, 22(15), 3202, 2004 (*I.F. 10.864*)
8. Cavazzoni A., Petronini P.G., Galetti M., Roz L., Andriani F., Carbognani P., Rusca M., Fumarola C., Alfieri R., **Sozzi G.** Dose-dependent effect of FHIT-inducible expression in Calu-1 lung cancer cell line. Oncogene, 23(52): 8439-46, 2004 (*I.F. 6.495*)
9. Bianchi F., Hu J., Pelosi G., Cirincione C.R., Ferguson M., Ratcliffe C., Di Fiore P.P., Gatter K., Pezzella F., Pastorino U. Lung cancer detected by screening with spiral computed tomography have a malignant phenotype when analyzed by cDNA microarray. Clinical Cancer Res, 10: 6023-6028, 2004 (*I.F. 6.511*)
10. Roz L., Andriani F., Ferreira C.G., Giaccone G., **Sozzi G.** The apoptotic pathway triggered by the FHIT protein in lung cancer cell lines is not affected by Bcl-2 or Bcl-XL over expression. Oncogene, 23: 9102-9110, 2004 (*I.F. 6.495*)

11. Nonaka D., Fabbri A., Roz L., Mariani L., Vecchione A., Moore GW., Tavecchio L., Croce CM., **Sozzi G.** Reduced FEZ1/LZTS1 expression and outcome prediction in lung cancer. *Cancer Res*, 65(4): 1207-1212, 2005 (*I.F.* 6.511)
12. **Sozzi G.**, Conte D., Roz L. In Reply: Reproducibility of a semiquantitative measurement of circulating DNA in plasma from neoplastic patients. *J Clin Oncol.*, 23(13): 2005 (*I.F.* 9.835)
13. Cirincione R., Lintas C., Conte D., Mariani L., Roz L., Vignola M., Pastorino U., **Sozzi G.** Methylation profile in tumor and sputum samples of lung cancer patients detected by spiral computed tomography: a nested case-control study. *Int J Cancer.*, 118(5), :1248-1253, 2005 (*I.F.* 4.416)
14. Pelosi G., Schianchi E., Dell'Orto P., Veronesi G., Spaggiari L., Pasini F., **Sozzi G.**, Brambilla E., Griso C., Viale G. Detecting cell-free circulating hTERT mRNA in the plasma may identify a subset of nonsmall cell lung cancer patients. *Virchows Arch.*, Sep 29: 1-9, 2005 (*I.F.* 2.227)
15. Frattini M., Balestra D., Verderio P., Gallino G., Leo E., **Sozzi G.**, Pierotti MA., Daidone MG. Reproducibility of a semiquantitative measurement of circulating DNA in plasma from neoplastic patients. *J Clin Oncol.*, 23(13): 3163-3164, 2005; author reply 3164-3165 (*I.F.* 9.835)
16. Gabriella **Sozzi**, Luca Roz, Davide Conte, Luigi Mariani, Francesca Andriani, Paolo Verderio, Ugo Pastorino. Effects of prolonged storage of whole plasma or isolated plasma DNA affects the results of circulating DNA quantification assays. *JNCI* 97(24):1848-1850, 2005 (*I.F.* 13.856)
17. Andriani F., Perego P., Carenini N., **Sozzi G.** and Roz L. Increased sensitivity to cisplatin in non-small cell lung cancer cell lines after FHIT gene transfer. *Neoplasia*, *Neoplasia*, 8(1): 9-17, 2006 (*I.F.* 4.377)
18. Cavazzoni A, Galetti M., Fumarola C., Alfieri R.R., Roz L., Andriani F., Carbognani P., Rusca M., **Sozzi G.**, Petronini P.G. Effect of inducible FHIT and p53 expression in the Calu-1 lung cancer cell line . *Cancer Letters*, April 7, 2006
19. Cirincione R, Lintas C, Conte D, Mariani L, Roz L, Vignola AM, Pastorino U, **Sozzi G.** Methylation profile in tumor and sputum samples of lung cancer patients detected by spiral computed tomography: a nested case-control study. *Int J Cancer*. 2006 Mar 1;118(5):1248-53.
20. Campiglio M, Bianchi F, Andriani F, **Sozzi G**, Tagliabue E, Menard S, Roz L. Diadenosines as FHIT-ness instructors. *J Cell Physiol*. Mar 17, 2006.

