

Relazione Progetto di Ricerca Laboratorio Dott.ssa Rossella Galli – Progetto 2018

Grazie alla nostra esperienza nello studio delle cellule staminali nervose (CSN) e al fondamentale supporto dell'AST, negli ultimi anni il nostro gruppo ha generato diversi modelli animali di ST tramite la sola mutazione del gene *Tsc1* o tramite mutazione di *Tsc1* e *Pten* in diversi tipi di CSN. Tali modelli animali rappresentano validi modelli preclinici di ST, dato che riproducono tre delle sue manifestazioni più critiche, ovvero le malformazioni corticali, i noduli subependimali e gli astrocitomi subventricolari a cellule giganti (SEGA). I risultati di questi studi sono stati pubblicati su diverse riviste scientifiche internazionali (Magri et al, *Cell Stem Cell*, 2011; Magri et al, *Dis Models Mech*, 2013; **Zordan et al., *Journal of Clinical Investigation*, 2018**). Durante i primi 12 mesi del 2018, abbiamo sottoposto diverse linee di CSN, ottenute da SEN e SEGA murini, ad analisi del profilo di espressione genica tramite RNA-seq. Il risultato più promettente ottenuto consiste nell'osservazione che molti geni che sono risultati presenti nelle cellule dei SEN e dei SEGA nel topo sono presenti anche nelle corrispondenti lesioni dei pazienti (**Fig.1**), suggerendo che le nostre CSN riproducono fedelmente le caratteristiche molecolari delle lesioni patologiche ritrovate nei pazienti con ST.

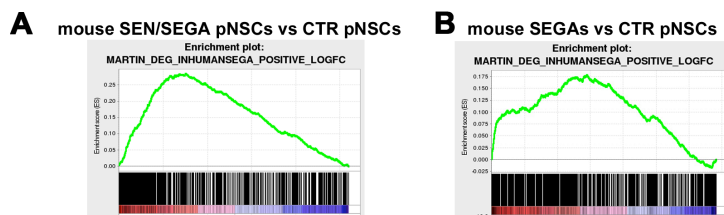


Fig. 1 I grafici GSEA indicano che i geni presenti nelle lesioni SEGA dei pazienti (linea verde nel grafico A) sono presenti anche nelle CSN di SEN e SEGA derivate dai topi modello di ST (quadrantini rossi nel grafico A). Analogamente, i geni presenti nelle lesioni SEGA dei pazienti (linea verde nel grafico B) sono presenti anche nei tumori SEGA che si sviluppano nei topi modello di ST.

Tramite analisi bioinformatica, abbiamo iniziato a selezionare alcuni di questi geni; in particolare, abbiamo focalizzato la nostra attenzione sul primo dei geni a risultare molto espresso sia nelle CSN da SEN/SEGA sia nei SEGA umani, ovvero *Gpnmb* (**Fig. 2**).

GeneID	logFC	Pvalue	Pvalue_adj	significance
Gpnmb	7,510743	5,21E-25	6,86874E-21	1
Tacr1	6,635564	1,16E-11	7,62539E-08	1
Erb2	-5,936	1,16E-10	5,0757E-07	-1
Renbp	3,195988	8,51E-10	2,47787E-06	1
Lgals3	5,341144	9,4E-10	2,47787E-06	1
Fam134b	5,698354	1,26E-08	2,76392E-05	1
Fos1	5,702017	1,66E-08	3,12504E-05	1
Adams4	2,579505	1,92E-08	3,16503E-05	1
Cep170b	2,828202	3,82E-08	5,01976E-05	1

Fig. 2 Lista dei primi 10 geni presenti (significance 1) o non presenti (significance -1) sia nelle CSN di SEN/SEGA di topo sia nei SEGA di paziente.

Utilizzando diversi tool bioinformatici, tra cui R2 (Genomics Analysis and Visualization Platform, <http://r2.amc.nl>), abbiamo iniziato a valutare l'espressione di *Gpnmb* in diversi dataset trascrizionali di gliomi umani a basso grado, che includono anche gli astrocitomi che, per alcuni aspetti, sono simili ai SEGA. Di notevole interesse è risultata l'osservazione che *Gpnmb* risulta espresso a livelli elevati nei gliomi astrocitari umani (**Fig. 3**). A conferma della validità di questo gene come possibile marker di lesioni SEN/SEGA, abbiamo dimostrato che la sua espressione è elevata nei tumori SEGA indotti dal trapianto delle CSN SEGA rispetto ai controlli tramite qPCR (validazione 'wet') (**Fig. 4**) e a livello proteico anche in campioni umani di SEGA (**Fig. 5**).

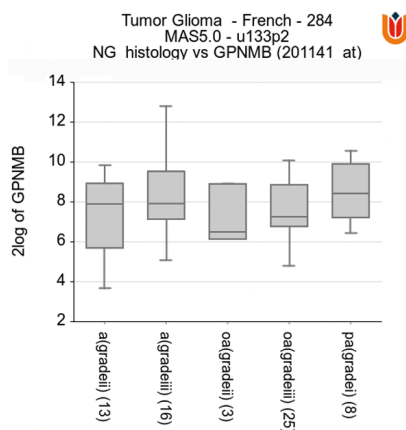


Fig. 3 *Gpnmb* è espresso a livelli elevati negli astrocitomi (a) umani rispetto agli oligoastrocitomi (oa).

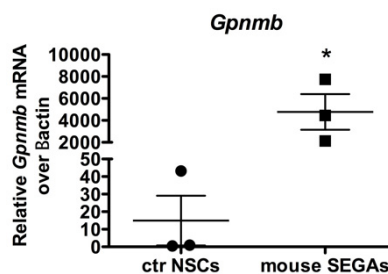


Fig. 4 *Gpnmb* è espresso a livelli elevati nei SEGA di topo ottenuti tramite impianto delle CSN da SEGA rispetto a quelle controllo. Quantitative PCR.

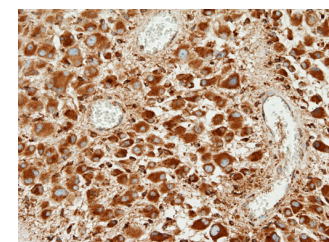


Fig. 5 La proteina *Gpnmb* è espressa a livelli elevati nei SEGA umani. Immunohistochemica.