

DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE MEDICHE E CHIRURGICHE TRASLAZIONALI– XXXIV CICLO

RELAZIONE FINALE TRIENNIO DOTTORATO

DOTTORANDA: Valentina Marchica

STRUTTURA OSPITANTE: Laboratorio di Ematologia - Dipartimento di Medicina e Chirurgia

TUTOR: Prof. Nicola Giuliani

LINEA DI RICERCA: Terapie sperimentali nel mieloma multiplo: focus sulla terapia oncolitica

BACKGROUND: Il mieloma multiplo (MM) è una neoplasia ematologica incurabile caratterizzata da remissione e ricaduta con resistenza ai farmaci. Pertanto, sono necessari nuovi approcci terapeutici. I virus oncolitici rappresentano una nuova strategia per aumentare lo spettro delle terapie contro il cancro. Diversi studi hanno riportato che, nel MM, i virus oncolitici agiscono attraverso la lisi tumore-specifica e la generazione di una risposta immunitaria anti-tumorale. I principali virus che sono stati studiati per il MM sono virus umani, questo approccio è fortemente limitato dall'immunità umorale anti-virus preesistente che neutralizza l'effetto antitumorale dei virus oncolitici.

OBIETTIVO DEL PROGETTO: l'obiettivo del mio progetto di dottorato è stato valutare la potenziale attività oncolitica di virus di origine bovina, in particolare Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) e Bovine Herpes Virus type-4 (BoHV-4), come strategia terapeutica alternativa nel mieloma multiplo.

ATTIVITÀ DI RICERCA I ANNO DI DOTTORATO

Durante il primo anno di dottorato mi sono occupata della valutazione in vitro ed ex vivo dell'effetto di BVDV su cellule di MM. In particolare è stato studiato:

1. L'effetto in vitro del trattamento di BVDV su vitalità, apoptosi e proliferazione cellulare sia su linee di MM che su linee di leucemia linfoblastica acuta B, T e linee di linfoma.
2. L'effetto ex vivo di BVDV su una coorte di pazienti con MM, afferenti all'Unità Operativa di Ematologia e CTMO dell'Azienda ospedaliero-universitaria di Parma.

I risultati ottenuti hanno mostrato che l'effetto di BVDV influenza solo le cellule di MM, riducendo la loro vitalità cellulare e inducendo contemporaneamente apoptosi. Inoltre, l'effetto di BVDV sembra essere specifico per le plasmacellule maligne, e non influenza le altre popolazioni midollari.

PARTECIPAZIONE AD ALTRI PROGETTI DI RICERCA

- 1) GLUTAMINE METABOLISM FOR TARGETING AND IMAGING IN MYELOMA BONE MICROENVIRONMENT (AIRC_IG201720299). Studiare il ruolo del metabolismo della Glutamina (Gln) nell'interazione tra cellule di MM e microambiente midollare.
- 2) IDENTIFICATION OF ONCOGENES AND TUMOR SUPPRESSOR GENES OR ALTERATIONS IN THEIR EXPRESSION, REGULATION OR FUNCTION THAT MAY CONTRIBUTE TO ONCOGENIC TRANSFORMATION (FINALIZZATA_PE-2016-02361261)

PUBBLICAZIONI I ANNO DI DOTTORATO

1. Novel targets for the treatment of relapsing multiple myeloma. Giuliani N, Accardi F, **Marchica V**, Dalla Palma B, Storti P, Toscani D, Vicario E, Malavasi F. Expert Rev Hematol, 2019. **[I.F.2.07]**
2. Bone Marrow CX3CL1/Fractalkine is a New Player of the Pro-Angiogenic Microenvironment in Multiple Myeloma Patients. **Marchica V**, Toscani D, Corcione A, Bolzoni M, Storti P, Vescovini R, Ferretti E, Dalla Palma B, Vicario E, Accardi F, Mancini C, Martella E, Ribatti D, Vacca A, Pistoia V, Giuliani N. Cancers, 2019. **[I.F.6.10]**
3. The transcriptomic profile of CD138+ cells from patients with early progression from smoldering to active multiple myeloma remains substantially unchanged. Storti P, Agnelli L, Palma BD, Todoerti K, **Marchica V**, Accardi F, Sammarelli G, Deluca F, Toscani D, Costa F, Vicario E, Todaro G, Martella E, Neri A, Giuliani N. Haematologica, 2019. **[I.F.7.57]**
4. Bone marrow Dkkopf-1 levels are a new independent risk factor for progression in patients with smouldering myeloma. Dalla Palma B, **Marchica V**, Pedrazzoni M, Accardi F, Notarfranchi L, Goldoni M, De Luca F, Costa F, Storti P, Toscani D, Sammarelli G, Bonomini S, Aversa F, Giuliani N. Br J Haematol, 2018. **[I.F: 5.128]**

ATTIVITÀ DI RICERCA II ANNO DI DOTTORATO

Durante il secondo anno di dottorato il mio progetto si è focalizzato sulla valutazione *in vitro* ed *in vivo* dell'effetto di BVDV su cellule di MM. In particolare è stato studiato:

1. L'effetto *in vitro* del trattamento di BVDV in combinazione con il Bortezomib su linee di MM.
2. L'effetto *in vivo* del trattamento di BVDV in un modello murino di MM.

Sulla base dell'evidenza dell'attività oncolitica di BVDV nelle cellule di MM osservata dai risultati del primo anno, abbiamo verificato se i farmaci anti-MM potessero migliorare l'attività di BVDV. Abbiamo dimostrato che il pre-

trattamento con Bortezomib, inibitore del proteasoma ampiamente utilizzato nella terapia del MM, aumenta significativamente l'effetto oncolitico di BVDV con un effetto sinergico dovuto all'attivazione della stessa segnalazione apoptotica. Nella seconda fase dello studio abbiamo analizzato l'effetto *in vivo* del trattamento di BVDV in un modello murino sottocutaneo di MM. Questo modello preclinico ha mostrato un significativo effetto anti-MM *in vivo* con una progressiva riduzione della crescita del tumore nei topi trattati con BVDV. In particolare, abbiamo osservato che la riduzione della massa tumorale è associata ad apoptosi delle cellule tumorali, confermando i dati *in vitro*.

Il progetto in seguito a due processi di revisione è stato accettato per la pubblicazione in Journal of Hematology & Oncology con il titolo: "Bovine pestivirus is a new alternative virus for multiple myeloma oncolytic virotherapy".

PARTECIPAZIONE AD ALTRI PROGETTI DI RICERCA

1) GLUTAMINE METABOLISM FOR TARGETING AND IMAGING IN MYELOMA BONE MICROENVIRONMENT. Progetto finanziato da AIRC (ID: IG201720299).

2) IDENTIFICATION OF ONCOGENES AND TUMOR SUPPRESSOR GENES OR ALTERATIONS IN THEIR EXPRESSION, REGULATION OR FUNCTION THAT MAY CONTRIBUTE TO ONCOGENIC TRANSFORMATION. Progetto finanziato da Ministero della Salute Ricerca Finalizzata (ID:PE-2016-02361261)

PUBBLICAZIONI II ANNO DI DOTTORATO

1. Monoclonal and Bispecific Anti-BCMA Antibodies in Multiple Myeloma. Dalla Palma B, **Marchica V**, Catarozzo MT, Giuliani N, Accardi F. J Clin Med. 2020 [**I.F. 3.30**]
2. Concomitant Primary Hyperparathyroidism in Patients with Multiple Myeloma: A Possible Link? Notarfranchi L, **Marchica V**, Dalla Palma B, Pelagatti L, Burroughs-Garcia J, Pedrazzoni M, Ruffini L, Cetani F, Marocchi C, Giuliani N. Acta Haematol. 2020 [**I.F. 1.19**]
3. Novel Approaches to Improve Myeloma Cell Killing by Monoclonal Antibodies. Storti P, Costa F, **Marchica V**, Burroughs-Garcia J, Dalla Palma B, Toscani D, Eufemiese RA, Giuliani N. J Clin Med. 2020 [**I.F. 3.30**]
4. Bovine pestivirus is a new alternative virus for multiple myeloma oncolytic virotherapy. **Marchica V**, Franceschi V, Veskovini R, Storti P, Vicario E, Toscani D, Zorzoli A, Airoidi I, Dalla Palma B, Campanini N, Martella E, Mancini C, Costa F, Donofrio G, Giuliani N. J Hematol Oncol. 2020 [**I.F.11.05**]
5. Application of Next-Generation Sequencing for the Genomic Characterization of Patients with Smoldering Myeloma. Manzoni M, **Marchica V**, Storti P, Ziccheddu B, Sammarelli G, Todaro G, Pelizzoni F, Salerio S, Notarfranchi L, Pompa A, Baldini L, Bolli N, Neri A, Giuliani N, Lionetti M. Cancers. 2020 [**I.F.6.10**]

6. CD14+ CD16+ monocytes are involved in daratumumab-mediated myeloma cells killing and in anti-CD47 therapeutic strategy. Storti P, Vescovini R, Costa F, **Marchica V**, Toscani D, Dalla Palma B, Cravioetto L, Malavasi F, Giuliani N. Br J Haematol. 2020. **[I.F.5.20]**

7. Novel targets for the treatment of relapsing multiple myeloma. Giuliani N, Accardi F, **Marchica V**, Dalla Palma B, Storti P, Toscani D, Vicario E, Malavasi F. Expert Rev Hematol, 2019. **[I.F.2.07]**

ATTIVITÀ DI RICERCA III ANNO DI DOTTORATO

Nel corso del terzo ed ultimo anno di dottorato ho esplorato il possibile ruolo di un altro virus di origine bovina il BoHV-4 nella viroterapia anti-MM. In particolare è stato studiato:

1. L'effetto *in vitro* del trattamento di BoHV-4 su linee di MM e su linee di cellule mesenchimali.
2. L'effetto *ex vivo* del trattamento di BoHV-4 su cellule mononucleate midollari ottenute da pazienti con MM.

I nostri risultati hanno dimostrato che BoHV-4: non ha un effetto oncolitico diretto sulle plasmacellule, non può essere usato indirettamente attraverso cellule carriers di infezione e sembra avere un effetto mieloablativo, suggerendo che BoHV-4 non può essere considerato un buon candidato come strategia alternativa nella terapia oncolitica del MM.

PARTECIPAZIONE AD ALTRI PROGETTI DI RICERCA

- 1) GLUTAMINE METABOLISM FOR TARGETING AND IMAGING IN MYELOMA BONE MICROENVIRONMENT. Progetto finanziato da AIRC (ID: IG201720299).
- 2) IDENTIFICATION OF ONCOGENES AND TUMOR SUPPRESSOR GENES OR ALTERATIONS IN THEIR EXPRESSION, REGULATION OR FUNCTION THAT MAY CONTRIBUTE TO ONCOGENIC TRANSFORMATION. Progetto finanziato da Ministero della Salute Ricerca Finalizzata (ID:PE-2016-02361261)
- 3) UNRAVELING THE MECHANISM BEHIND THE PROGRESSION OF INDOLENT MONOCLONAL GAMMOPATHIES TO MULTIPLE MYELOMA. Progetto finanziato da AIRC (ID: MFAG2020_24932).

PUBBLICAZIONI III ANNO DI DOTTORATO

1. Stem cell architecture drives myelodysplastic syndrome progression and predicts response to venetoclax-based therapy. Ganan-Gomez I, Yang H, Ma f, Montalban-Bravo G, Thongon N, **Marchica V**, Richard-Carpentier

G, Chien K, Manyam G, Wang F, Alfonso A, Chen S, Class C, Kanagal-Shamanna R, Ingram JP, Ogoti Y, Rose A, Loghavi S, Lockyer P, Cambo B, Muftuoglu M, Schneider S, Adema V, McLellan M, Garza J, Marchesini M, Giuliani N, Pellegrini M, Wang J, Walker J, Li Z, Takahashi K, Levenson JD, Bueso-Ramos C, Andreeff M, Clise-Dwyer K, Garcia-Manero G, Colla S. *Nat Med*. 2022. **[I.F. 53.44]**

2. Mechanisms of Action of the New Antibodies in Use in Multiple Myeloma. Romano A, Storti P, **Marchica V**, Scandura G, Notarfranchi L, Cravioetto L, Di Raimondo F, Giuliani N. *Front Oncol*. 2021 **[I.F. 6.24]**

3. Role of 1q21 in Multiple Myeloma: From Pathogenesis to Possible Therapeutic Targets. Burroughs Garcia J, Eufemiese RA, Storti P, Sammarelli G, Cravioetto L, Todaro G, Toscani D, **Marchica V**, Giuliani N. *Cells*. 2021 **[I.F. 6.60]**

4. A Simplified SARS-CoV-2 Pseudovirus Neutralization Assay. Donofrio G, Franceschi V, Macchi F, Russo L, Rocci A, **Marchica V**, Costa F, Giuliani N, Ferrari C, Missale G. *Vaccines*. 2021 **[I.F. 4.12]**

5. Oncolytic Virotherapy and Microenvironment in Multiple Myeloma. **Marchica V**, Costa F, Donofrio G, Giuliani N. *Int J Mol Sci*. 2021 **[I.F. 5.92]**

6. Concomitant Primary Hyperparathyroidism in Patients with Multiple Myeloma: A Possible Link? Notarfranchi L, **Marchica V**, Dalla Palma B, Pelagatti L, Burroughs-Garcia J, Pedrazzoni M, Ruffini L, Cetani F, Marocci C, Giuliani N. *Acta Haematol*. 2021 **[I.F. 2.19]**

7. PD-L1/PD-1 Axis in Multiple Myeloma Microenvironment and a Possible Link with CD38-Mediated Immune-Suppression. Costa F, **Marchica V**, Storti P, Malavasi F, Giuliani N. *Cancers*. 2021 **[I.F. 6.10]**

8. PD-L1/PD-1 Pattern of Expression Within the Bone Marrow Immune Microenvironment in Smoldering Myeloma and Active Multiple Myeloma Patients. Costa F, Vescovini R, **Marchica V**, Storti P, Notarfranchi L, Dalla Palma B, Toscani D, Burroughs-Garcia J, Catarozzo MT, Sammarelli G, Giuliani N. *Front Immunol*. 2021 **[I.F. 7.56]**

9. Myeloma Cells Deplete Bone Marrow Glutamine and Inhibit Osteoblast Differentiation Limiting Asparagine Availability. Chiu M, Toscani D, **Marchica V**, Taurino G, Costa F, Bianchi MG, Andreoli R, Franceschi V, Storti P, Burroughs-Garcia J, Eufemiese R, Dalla Palma B, Campanini N, Martella E, Mancini C, Shan J, Kilberg MS, D'Amico G, Dander E, Agnelli L, Pruneri G, Donofrio G, Bussolati O, Giuliani N **[I.F. 6.10]**