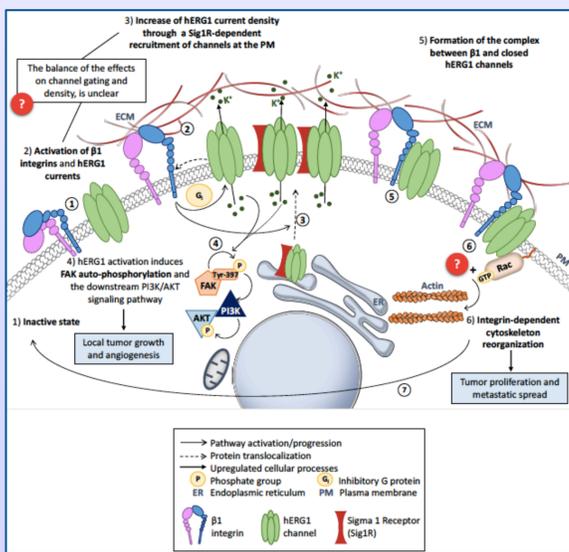


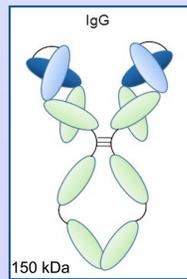
Biomarker prognostico per l'adenocarcinoma pancreatico duttale: valutazione del legame del complesso hERG1/ β 1 con un nuovo anticorpo bifunzionale a singola catena



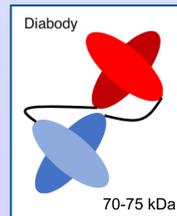
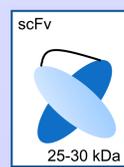
Signaling intracellulare di hERG1/ β 1 nella carcinogenesi (Bechetti A, Petroni G and Arcangeli A, Trends Cell Biol., 2019)

Background

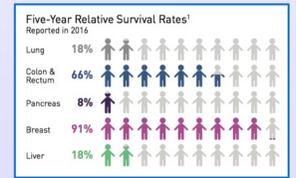
Il canale hERG1 modula la trasduzione del segnale integrinico promuovendo l'angiogenesi e la progressione del tumore pancreatico [1]. Il **complesso macromolecolare hERG1/ β 1** è selettivamente espresso nelle **cellule tumorali**, compreso PDAC, ed è legato da **scDb** [2]. Quest'ultimo è usato per mettere a punto un **protocollo immunocitochimico** finalizzato al riconoscimento del complesso stesso. Utilizzare questo complesso significa **non** coinvolgere il **miocardio**: in esso hERG1 non si complessa con l'integrina β 1.



Struttura Ig classica a confronto con single-chain variable fragment e diabody (Duranti C. et al., Oncotarget, 2018. Patent. Inventors: Arcangeli A, Duranti C. et al. Patent Ref: PCT/EP2018/067641)



Impatto della ricerca

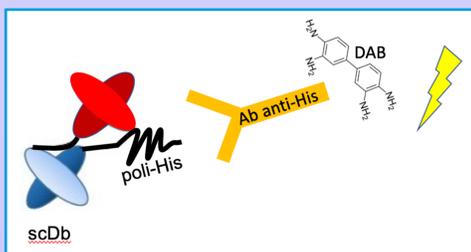


Epidemiologia di PDAC (<https://www.tumorepancreas.com/dati-statistici>)

Si prospetta che PDAC entro il 2030 diventi la **seconda causa di mortalità** associata a tumore, preceduta solo dal cancro al polmone. La sfida nel contrastarlo è aperta su vari fronti:

- Eterogeneità delle mutazioni genetiche causali
- Microambiente tumorale complesso
- Stroma impermeabile ai farmaci e frequente instaurazione di resistenze alle attuali terapie
- Bassa espressione antigenica delle cellule
- Assenza di biomarkers specifici

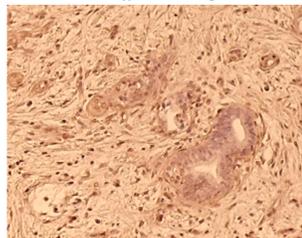
Metodi e materiali



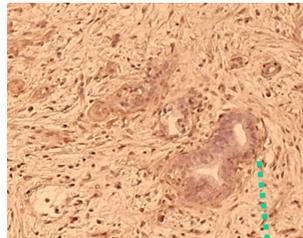
Ab primario privo di Fc ma provvisto di coda di poli-His - Ab anti-His secondario - Cromogeno

Il protocollo di immunocitochimica si svolge in due giornate. La prima giornata è finalizzata a permettere l'incubazione over-night di **scDb** nelle diluizioni di 1:50, 1:100 e un controllo negativo. Nel corso della seconda giornata, le sezioni vengono prima incubate con un **Ab anti-His** che riconosce la tag di poli-His di scDb e successivamente con la **diaminobenzidina** il cui tempo di reazione viene controllato al MO.

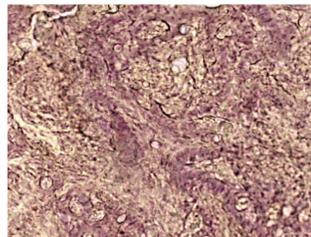
mAb hERG1 +



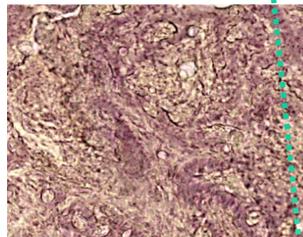
scDb +



mAb hERG1 -



scDb -



Confronto tra campioni PDAC marcati con Ab monoclonale per il solo hERG1 e con scDb

Risultati

La **diluizione** ottimale di scDb è **1:50**. Il tempo utile a rendere visibile il cromogeno (DAB) è di 10 minuti. La valutazione dei risultati riguardo al grado di espressione del complesso viene effettuata con uno score immunocitochimico il cui cut-off definisce la **positività (25% dei campioni)**. Non ci sono associazioni statisticamente significative tra la positività al complesso e le caratteristiche clinico-patologiche dei pazienti.

Tali risultati concordano con l'analisi condotta per il solo hERG1 mediante mAb [3].

Score combinato e correlazione di Pearson

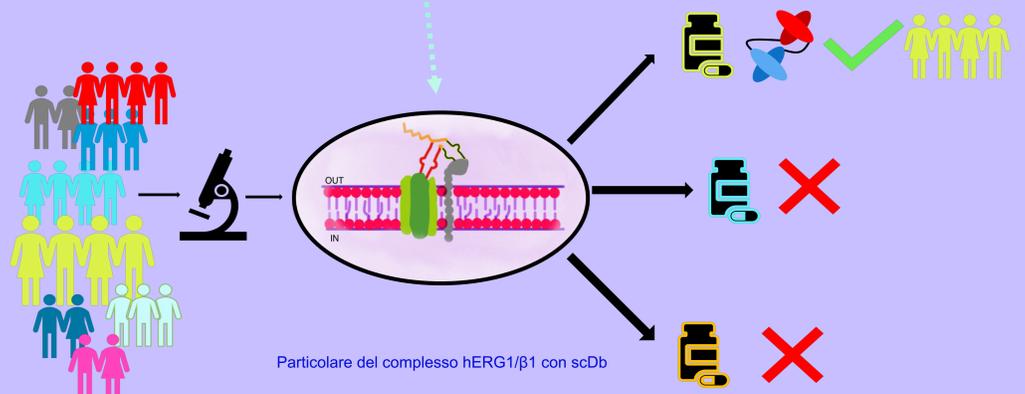
Score combinato [2]	<6% scDb	≥6% scDb
<6% mAb hERG1	10	1
≥6% mAb hERG1	4	5
mAb hERG1 vs scDb hERG1/β1	Coefficiente di correlazione di Pearson	
	R=0.55, p=0.0072	

Limitazioni e discussione

La ricerca condotta si è basata su un numero ristretto di campioni, tuttavia i risultati e la statistica a supporto sono promettenti. Il complesso hERG1/ β 1 è infatti un buon biomarcatore molecolare riconosciuto da scDb. L'allargamento della casistica potrebbe quindi consentire la valutazione del follow up dei pazienti sulla base dell'espressione del complesso.

Si propone l'impiego del **biomarker hERG1/ β 1** come **indice prognostico** nell'adenocarcinoma pancreatico duttale.

Da notare inoltre che la **selettività di scDb** lo rende un possibile candidato per la terapia di PDAC [4].



Particolare del complesso hERG1/ β 1 con scDb

Bibliografia

1. Bechetti et al., "The conformational state of hERG1 channels determines integrin association, downstream signaling, and cancer progression". (Sci Signal. 2017);
2. Duranti C. et al., "Generation and characterization of novel recombinant anti-hERG1 scFv antibodies for cancer molecular imaging". (Oncotarget, 2018);
3. Lastraioli E. et al., "hERG1 channels drive tumor malignancy and may serve as prognostic factor in pancreatic ductal adenocarcinoma". (BJC, 2015);
4. Duranti C. et al., "Harness the hERG1- β 1 macromolecular complex via a new bispecific antibody and its bifunctional TRAIL". AACR, Atlanta, USA, 2019