



Claudia Ghigna

IGM-CNR

Via Abbiategrasso 207, 27100 Pavia

Tel. 0382 546322

E-mail (n1): arneri@igm.cnr.it

E-mail (n2): claudia.ghigna@cnr.it

ORCID ID: [https://orcid.org/0000-0003-](https://orcid.org/0000-0003-0362-783X)

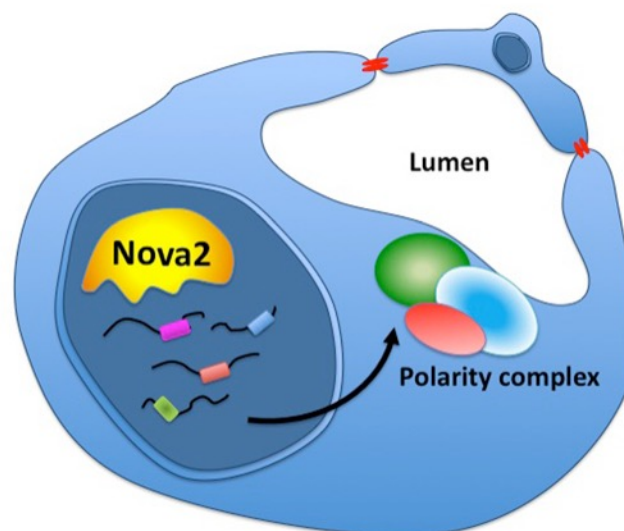
0362-783X

Attività di ricerca

Lo splicing alternativo (AS) è il processo che produce diverse trascritti maturi (mRNA) a partire da un singolo RNA primario (pre-mRNA). L'inclusione o l'esclusione dall'mRNA maturo di specifici esoni dipende dall'azione combinata di fattori di regolazione dello splicing che legano sequenze in *cis* presenti sul pre-mRNA. Quasi tutti i geni umani va incontro ad AS, dando origine a diverse isoforme proteiche con proprietà strutturali e funzionali distinte, differente localizzazione o stabilità. Nell'uomo la maggior parte dei trascritti generati tramite AS mostra un'espressione tessuto-specifica e AS rappresenta uno dei principali meccanismi che consente di espandere il potenziale codificante del nostro genoma costituito da un numero limitato di geni

Nell'ultimo decennio, diversi lavori hanno messo in luce un ruolo diretto di AS nel processo di tumorigenesi. In particolare, l'espressione alterata di specifici fattori di splicing consente alle cellule neoplastiche di generare isoforme proteiche coinvolte nello sviluppo del tumore, nella sua progressione e metastatizzazione oppure nella resistenza ai trattamenti terapeutici. L'interesse per lo splicing alternativo è cresciuto esponenzialmente negli ultimi anni in seguito all'osservazione che moltissimi oncogeni e "tumor suppressor" sono regolati tramite AS. Inoltre, recenti analisi hanno mostrato che esistono numerose varianti generate da AS espresse solo nelle cellule tumorali (ma non nelle cellule normali) e che possano essere utilizzate come nuovo strumento diagnostico, prognostico o addirittura terapeutico.

Regolazione post-trascrizionale dell'angiogenesi



L'angiogenesi (la formazione di vasi sanguigni da vasi già esistenti) è un processo che caratterizza lo sviluppo di tutti i tumori solidi. Infatti, lo sviluppo della vascolatura tumorale consente all'ossigeno e ai nutrienti di raggiungere le cellule neoplastiche, oltre che fornire una via per la formazione di

metastasi in organi distanti. Paradossalmente, a differenza dei ben noti meccanismi che controllano l'angiogenesi a livello trascrizionale, le nostre informazioni riguardanti il ruolo di AS durante l'angiogenesi sono molto limitate. Ciò è molto sorprendente poiché le cellule endoteliali (ECs) che costituiscono la vascolatura tumorale esprimono diverse proteine generate mediante AS assenti nei vasi sani. Cosa importante, alcune di queste proteine sono usate in studi clinici per sviluppare trattamenti anti-angiogenici per la cura del cancro. È da sottolineare il fatto che l'attività biologica della maggior parte di queste varianti di AS (così come i fattori di splicing responsabili della loro produzione) sono ancora in gran parte sconosciuti. E' chiaro che una migliore comprensione dei meccanismi molecolari che sostengono la crescita dei vasi tumorali è di cruciale importanza per identificare nuove e più efficaci terapie anti-angiogeniche per il trattamento del cancro.

Il mio gruppo di ricerca ha scoperto che NOVA2, un fattore di AS precedentemente caratterizzato per le sue importanti funzioni nei neuroni del sistema nervoso centrale, è anche espresso nelle ECs che compongono i vasi sanguigni. Utilizzando approcci "genome-wide" e la tecnologia CRISPR/Cas9 per generare animali mutati nel gene *Nova2*, abbiamo dimostrato che NOVA2 svolge un ruolo rilevante nell'angiogenesi durante lo sviluppo del sistema vascolare. Inoltre, abbiamo identificato nuovi geni regolati a livelli di AS da NOVA2 nelle ECs e caratterizzato il ruolo nell'angiogenesi delle corrispondenti varianti proteiche prodotte in seguito alla reazione di splicing. I nostri risultati recentemente pubblicati hanno anche mostrato che NOVA2 è sovra-espresso nel sistema vascolare del tumore, mentre risulta assenta in altri tipi cellulari presenti all'interno della massa neoplastica. La cosa importante che abbiamo evidenziato è che NOVA2 ha un valore prognostico nella progressione del tumore, poiché i suoi livelli di espressione sono correlati a una ridotta sopravvivenza dei pazienti oncologici. Ad oggi, NOVA2 è l'unico fattore di splicing upregolato specificamente nella vascolatura tumorale.

I nostri principali interessi sono:

- **Progetto 1.** Comprendere la rilevanza di NOVA2 durante l'angiogenesi tumorale per identificare nuovi "pathways" rilevanti per la progressione del cancro. A questo scopo, in collaborazione con il gruppo di Serena Zacchigna (ICGEB di Trieste), abbiamo generato topi "knockout" per NOVA2 solo nelle ECs che verranno utilizzati per studiare la crescita del tumore e lo sviluppo della sua vascolatura.
- **Progetto 2.** Caratterizzare i meccanismi molecolari che sostengono la upregolazione di NOVA2 nei vasi sanguigni tumorali. Abbiamo identificato un numero ristretto di fattori di trascrizione che possono controllare l'espressione di NOVA2 nel sistema vascolare del tumore.
- **Progetto 3.** Studiare l'interazione tra NOVA2 e altri regolatori di AS nelle ECs. A questo proposito, abbiamo individuato altri fattori di splicing che cooperano con NOVA2 nel regolare l'angiogenesi.
- **Progetto 4.** Identificare nuove isoforme di AS generate da NOVA2 e specificamente espresse nel sistema vascolare tumorale allo scopo di sviluppare strategie terapeutiche innovative. In collaborazione con Benjamin Blencowe (Università di Toronto) e Raffaella Giavazzi (Ist. Mario Negri di Milano) abbiamo purificato ECs da diversi tumori umani e dalla controparte normale; le ECs sono state silenziate *in vitro* per NOVA2 allo scopo di eseguire esperimenti di sequenziamento massivo dell'RNA (RNA-seq).

Pubblicazioni selezionate

1) Pradella D, Deflorian G, Pezzotta A, Di Matteo A, Belloni E, Campolungo D, Paradisi A, Bugatti M, Vermi W, Campioni M, Chiapparino A, Scietti L, Forneris F, Giampietro C, Volf N, Rehman M,

Zacchigna S, Paronetto MP, Pistocchi A, Eichmann A, Mehlen P, **Ghigna C**. A ligand-insensitive UNC5B splicing isoform regulates angiogenesis by promoting apoptosis. *Nat Commun*. 2021;12: 4872. **IF= 14.919**

2) Di Matteo A, Belloni E, Pradella D, Cappelletto A, Volf N, Zacchigna S, **Ghigna C**. Alternative splicing in endothelial cells: novel therapeutic opportunities in cancer angiogenesis. *J Exp Clin Cancer Res*. 2020; 39:275. **IF= 11.161**

3) Belloni E, Di Matteo A, Pradella D, Vacca M, Wyatt CDR, Alfieri R, Maffia A, Sabbioneda S, Ghigna C. Gene Expression Profiles Controlled by the Alternative Splicing Factor Nova2 in Endothelial Cells. *Cells* 2019; 8:1498. **IF= 6.6**

4) Angiolini F, Belloni E, Giordano M, Campioni M, Forneris F, Paronetto MP, Lupia M, Brandas C, Pradella D, Di Matteo A, Giampietro C, Jodice G, Luise C, Bertalot G, Freddi S, Malinverno M, Irimia M, Moulton JD, Summerton J, Chiapparino A, Ghilardi C, Giavazzi R, Nyqvist D, Gabellini D, Dejana E, Cavallaro U, **Ghigna C**. A novel L1CAM isoform with angiogenic activity generated by NOVA2-mediated alternative splicing. *eLife* 2019; 8:e44305. **IF= 8.140**

5) Pradella D, Naro C, Sette C, **Ghigna C**. EMT and stemness: flexible processes tuned by alternative splicing in development and cancer progression. *Molecular Cancer* 2017; 16:8. **IF= 27.401**

6) Giampietro C, Deflorian G, Gallo S, Di Matteo A, Pradella D, Bonomi S, Belloni E, Nyqvist D, Quaranta V, Confalonieri S, Bertalot G, Orsenigo F, Pisati F, Ferrero E, Biamonti G, Fredrickx E, Taveggia C, Wyatt CD, Irimia M, Di Fiore PP, Blencowe BJ, Dejana E, **Ghigna C**. The alternative splicing factor Nova2 regulates vascular development and lumen formation. *Nat Commun*. 2015; 6:8479. **IF= 14.919**