



## **Relazione delle attività di ricerca e didattica in relazione alla posizione di Ricercatore a Tempo Determinato di tipo A**

**Codice selezione:** DR1093\_2015-AP\_rtda\_0415\_06A2, (D.R. 616 del 01.04.2015)

**Nome del Ricercatore:** Fabio Marongiu

**Titolo del progetto:** Ruolo del microambiente tissutale epatico nello sviluppo della patologia neoplastica e strategie di medicina rigenerativa

**Supervisore:** Ezio Laconi

**Data nomina:** 01/10/2015

### **Attività di ricerca**

**Background:** La neoplasia epatica rappresenta una delle principali cause di morte per cancro nell'uomo a livello globale ed è una delle poche che registra un aumento di incidenza nei Paesi Occidentali. Il progetto di ricerca è focalizzato su questa patologia e in particolare, sul ruolo che il microambiente tissutale svolge nel favorirne la progressione. Tutte le patologie associate a danno cronico del fegato rappresentano infatti un fattore di rischio importante per il cancro e la nostra ipotesi è che tale associazione sia legata all'induzione di un alterato microambiente tissutale.

I nostri precedenti studi effettuati su un modello di esteso ripopolamento epatico hanno dimostrato come gli epatociti residenti entrino in uno stato irreversibile di senescenza e siano estesamente sostituiti da cellule trapiantate, avvantaggiate da un punto di vista replicativo. I risultati ottenuti suggeriscono inoltre che la senescenza cellulare e il fenotipo secretorio ad essa associato (in particolare l'espressione di citochine pro-infiammatorie e fattori di crescita coinvolti nei meccanismi di rigenerazione epatica) possano contribuire alla crescita selettiva delle cellule trapiantate, siano esse normali o preneoplastiche.

A supporto di questa interpretazione, studi effettuati nel nostro laboratorio indicano che anche epatociti isolati da noduli preneoplastici sono in grado di proliferare rapidamente e progredire a cancro se trapiantati in un fegato cronicamente danneggiato, mentre non proliferano in un fegato normale. Risultati più recenti indicano che anche i processi di invecchiamento fisiologico inducono nel fegato un microambiente predisponente allo sviluppo neoplastico.

Il focus di questi tre anni di ricerca è stato quello di dimostrare come le strategie rivolte a ri-normalizzare un tessuto cronicamente danneggiato, possano determinare una riduzione dei marcatori di senescenza tissutale e una minore incidenza di lesioni preneoplastiche.

In particolare, abbiamo valutato:

1. il ruolo della restrizione calorica nel rallentare i processi di progressione neoplastica associati a invecchiamento/senescenza.
2. il ruolo di strategie di medicina rigenerativa mediante il trapianto di cellule staminali per contrastare tali processi.



## Risultati Ottenuti:

### 1. *Il ruolo della Restrizione calorica nello sviluppo della patologia neoplastica*

Negli studi effettuati è stata testata l'ipotesi che la restrizione calorica potesse ritardare il processo di carcinogenesi tramite effetti modulatori esercitati sul microambiente tissutale invecchiato e predisposto allo sviluppo di neoplasia. Utilizzando un modello di trapianto (Tx) di cellule isolate ben caratterizzato nel ratto, epatociti preneoplastici isolati da noduli epatici sono stati iniettati in animali singenici di 18 mesi alimentati ad libitum (AL) o animali della stessa età alimentati con CR (70% dell'alimentazione AL). L'analisi dei cluster di cellule derivate da donatori è stata eseguita 10 settimane post-Tx ed ha rivelato come la dimensione di questi cluster sia significativamente inferiore nel gruppo CR. Cluster con più di 50 cellule, compresi noduli epatici di grandi dimensioni, erano tre volte più frequenti negli animali AL rispetto ai CR. Anche l'incidenza di noduli endogeni spontanei è diminuita in animali CR. I marcatori di senescenza cellulare erano ugualmente espressi nel fegato di animali AL e CR. Tuttavia, livelli più elevati di SIRT1 e FOXO1 sono stati rilevati in fegati esposti a CR, mentre l'espressione di HDAC1 e C/EBP $\beta$  è diminuita. Questi risultati indicano che la CR è in grado di ritardare l'insorgenza di malattie neoplastiche associate all'età, attraverso gli effetti esercitati, almeno in parte, sul microambiente tissutale.

### 2. *Utilizzo di cellule amniotiche epiteliali per la medicina rigenerativa del fegato*

In precedenti studi, abbiamo dimostrato come le cellule staminali derivate dall'epitelio della membrana amniotica (AEC) siano in grado di differenziare in epatociti maturi in vitro e in vivo, e senza fusione cellulare con gli epatociti del fegato ricevente. In studi più recenti abbiamo focalizzato la nostra attenzione sulla possibilità che le AEC possano differenziarsi in altri tipi cellulari epatici. Sebbene gli epatociti siano infatti il principale tipo cellulare del fegato, altri tipi cellulari hanno un ruolo importante durante i processi rigenerativi. In seguito ad epatectomia parziale, ad esempio, assieme agli epatociti, devono proliferare in maniera estesa anche le cellule endoteliali dei sinusoidi e i colangiociti, così da poter formare nuovi vasi e sinusoidi, e dotti biliari rispettivamente, ristabilendo quindi la struttura funzionale dei lobuli epatici. Mediante il trapianto di AEC isolate da placenta di ratto al 18° giorno di gestazione in un modello di ripopolamento epatico, abbiamo dimostrato come le cellule placentari siano in grado di differenziare in cellule epatiche sinusoidali endoteliali (HSEC). Le cellule derivate dalle AEC erano integrate nel parenchima tra gli epatociti e sia l'analisi morfologica che il pattern di espressione della CD26 erano tipici delle HSEC. Al fine di confermare la natura endoteliale delle cellule, è stata effettuata l'analisi in immunofluorescenza di RECA-1 e SE-1, che ha confermato che le cellule derivate dal donatore co-esprimevano la CD26 ed entrambi i marcatori endoteliali. Inoltre, queste non esprimevano marcatori di epatociti (Citocromo P450, HNF4 $\alpha$ ) suggerendo quindi che le AEC si sono differenziate in HSEC. I risultati ottenuti durante l'attività di ricerca supportano la conclusione che le AEC possiedono un'elevata plasticità e rappresentano quindi uno strumento promettente per la medicina rigenerativa del fegato.

**Publicazioni su riviste recensite:**

1. Jahouh F, **Marongiu F**, Serra MP, Laconi E, Banoub J. *Gas-phase fragmentation of the N-oxide and N-hydroxylated derivatives of retrorsine using liquid chromatography/electrospray ionization quadrupole time-of-flight tandem mass spectrometry*. Rapid Commun Mass Spectrom. 2015 Oct 15;29(19):1733-48. doi: 10.1002/rcm.7276.
2. Hansel MC, Davila JC, Vosough M, Gramignoli R, Skvorak KJ, Dorko K, **Marongiu F**, Blake W, Strom SC. *The Use of Induced Pluripotent Stem Cells for the Study and Treatment of Liver Diseases*. Curr Protoc Toxicol. 2016 Feb 1;67:14.13.1-14.13.27. doi: 10.1002/0471140856.tx1413s67.
3. **Marongiu F**, Serra MP, Doratiotto S, Sini M, Fanti M, Cadoni E, Serra M and Laconi E. *Aging promotes neoplastic disease through effects on the tissue microenvironment*. Aging, 2016, 8(12), pp. 3390-3399. doi: 10.18632/aging.101128
4. Murgia A, Caboni P, Cadoni E, Serra M, **Marongiu F**, Laconi E. *A GC-MS untargeted metabolomics analysis in the plasma and liver of rats lacking dipeptidyl-peptidase type IV enzyme activity*. J Physiol Biochem. 2017 Nov;73(4):575-582. doi: 10.1007/s13105-017-0588-7.
5. **Marongiu F**, Marongiu M, Contini A, Serra M, Cadoni E, Murgia R, Laconi E. *Hyperplasia and hypertrophy in tissue regeneration after extensive liver resection*. World J Gastroenterol. 2017 Mar 14;23(10):1764-1770. doi: 10.3748/wjg.v23.i10.1764.
6. Fanti M, Gramignoli R, Serra M, Cadoni E, Strom SC, **Marongiu F**. *Differentiation of amniotic epithelial cells into various liver cell types and potential therapeutic applications*. Placenta. 2017 Nov;59:139-145. doi: 10.1016/j.placenta.2017.03.020.
7. Cadoni E, **Marongiu F**, Fanti M, Serra M, Laconi E. *Caloric restriction delays early phases of carcinogenesis via effects on the tissue microenvironment*. Oncotarget. 2017 May 30;8(22):36020-36032. doi: 10.18632/oncotarget.16421.
8. Fraumene C, Manghina V, Cadoni E, **Marongiu F**, Abbondio M, Serra M, Palomba A, Tanca A, Laconi E, Uzzau S. *Caloric restriction promotes rapid expansion and long-lasting increase of Lactobacillus in the rat fecal microbiota*. Gut Microbes. 2017 Sep 11:1-11. doi: 10.1080/19490976.2017.1371894.
9. **Marongiu F**, Serra MP, Fanti M, Cadoni E, Serra M, Laconi E. *Regenerative Medicine: Shedding Light on the Link between Aging and Cancer*. Cell Transplant. 2017 Sep;26(9):1530-1537. doi: 10.1177/0963689717721224.



10. Serra M, Marongiu M, Contini A, Miki T, Cadoni E, Laconi E, **Marongiu F**. *Evidence of Amniotic Epithelial Cell Differentiation toward Hepatic Sinusoidal Endothelial Cells*. Cell Transplant. 2018 Jan;27(1):23-30. doi: 10.1177/0963689717727541.
11. **Marongiu F**, Serra M, Laconi E. *Development versus Evolution in Cancer Biology*. Trends Cancer. 2018 May;4(5):342-348. doi: 10.1016/j.trecan.2018.03.007.

#### Capitoli di Libro:

1. **Marongiu F**, Serra MP and Laconi E. *Oxidative Mechanisms in Liver Senescence and Regeneration* in E. Albano, M. Parola (eds.), Studies on Hepatic Disorders, Oxidative Stress in Applied Basic Research and Clinical Practice, DOI 10.1007/978-3-319-15539-5\_3
2. Gramignoli R, **Marongiu F**, Strom SC. *Use of Amnion Epithelial Cells in Metabolic Liver Disorders* in O. Parolini, A. Silini (eds.), Placenta: The Tree of Life, CRC Press, Feb 22, 2016
3. **Marongiu F**. *Cellule Staminali e fegato* in G.P. Bagnara, Cellule Staminali (Nuova Edizione, in stampa) Società Editrice Esculapio

#### Partecipazioni a Convegni internazionali come relatore:

1. Marongiu M, Contini A, Cadoni E, Laconi E, **Marongiu F**. *Amniotic Epithelial Cells differentiate into hepatic sinusoidal endothelial cells in vivo*. CTS-IPITA-IXA 2015 Joint Conference. 15-19 November 2015, Melbourne, Australia (Poster – Winner of the “Selected Poster Presentation Award”)
2. Fanti M, Romele P, Vertua E, Bonassi Signoroni P, Silini A, Parolini P, **Marongiu F**. *hAEC-derived hepatocyte-like cells maintain the ability to inhibit proliferation of activated PBMC*. 3<sup>rd</sup> Stem Cell Congress, IV IPLASS Meeting. 19-21 September 2016, Riyadh, Saudi Arabia (Poster)
3. Marongiu M, Fanti M, Contini A, Cadoni E, Laconi E, **Marongiu F**. *In vivo differentiation of Amniotic Epithelial Cells into hepatic sinusoidal endothelial cells*. 3<sup>rd</sup> Stem Cell Congress, IV IPLASS Meeting. 19-21 September 2016, Riyadh, Saudi Arabia (Oral – Winner of the “Selected Oral Presentation Award”)
4. Passaretta F, Centurione L, Centurione MA, Di Pietro R, **Marongiu F**. *Differential response to hepatic differentiation stimuli of Amniotic Epithelial Cells isolated from four regions of the Amniotic Membrane*. 2017 CST-CTRMS Joint Scientific Meeting, 25-29 September 2017 Halifax, Canada (Oral)



### Attività didattica

**Facoltà:** Medicina e Chirurgia

**Corso di Studi:** Corso di Laurea in Tecniche di Laboratorio Biomedico (secondo anno, A.A. 2015/2016)

**Insegnamento:** Patologia Generale e Fisiopatologia

**CFU e ore frontali:** 6 CFU, 48 ore frontali

**Facoltà:** Medicina e Chirurgia

**Corso di Studi:** Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia (secondo anno, A.A. 2016/2017)

**Insegnamento:** Immunologia Generale (Corso Integrato di Microbiologia e Immunologia Generale)

**CFU e ore frontali:** 4 CFU, 40 ore frontali

**Facoltà:** Medicina e Chirurgia

**Corso di Studi:** Corso di Laurea in Ostetricia (secondo anno, A.A. 2017/2018)

**Insegnamento:** Patologia Clinica (Corso Integrato di Patologia Clinica, Biochimica Clinica e Fisiologia Ostetrica)

**CFU e ore frontali:** 2 CFU, 16 ore frontali

**Facoltà:** Medicina e Chirurgia

**Corso di Studi:** Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia (secondo anno, A.A. 2017/2018)

**Insegnamento:** Immunologia Generale (Corso Integrato di Microbiologia e Immunologia Generale)

**CFU e ore frontali:** 4 CFU, 40 ore frontali

Cagliari, 31 Maggio 2018

**Firma del Ricercatore**

**Firma del Supervisore**