

Adenocarcinoma polmonare nelle specie ovi-caprine e studio dei meccanismi della cancerogenesi

Gabriella Di Francesco

Auditorium Parco Della Scienza –Teramo

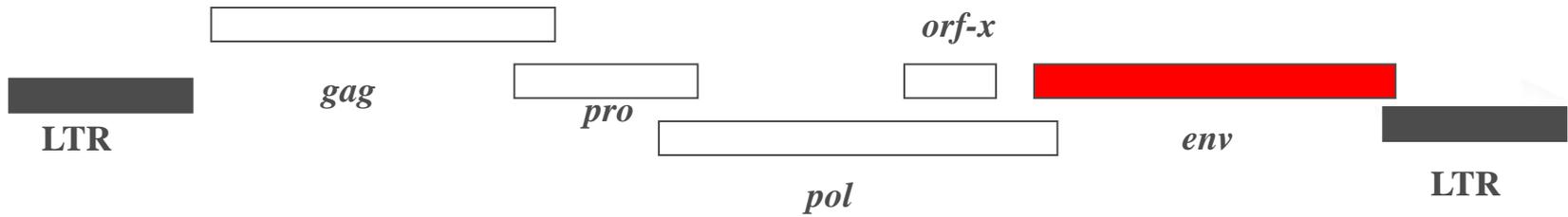
9 Luglio 2012



Ovine Pulmonary Adenocarcinoma (OPA)



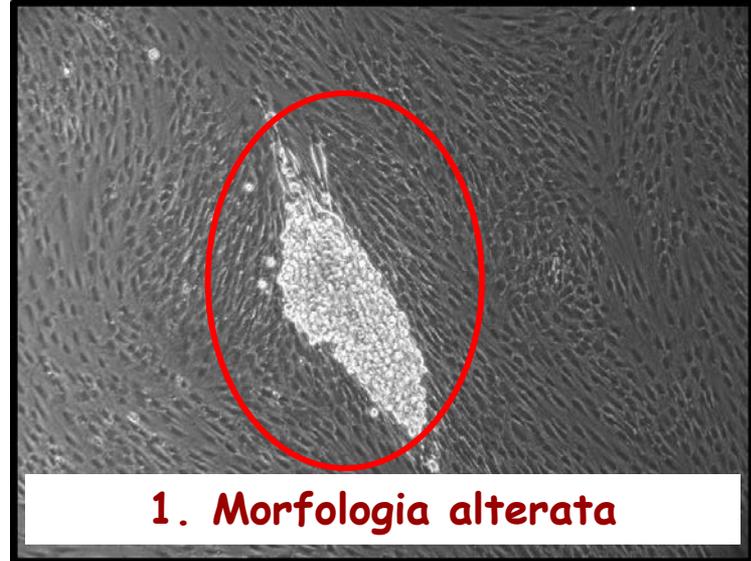
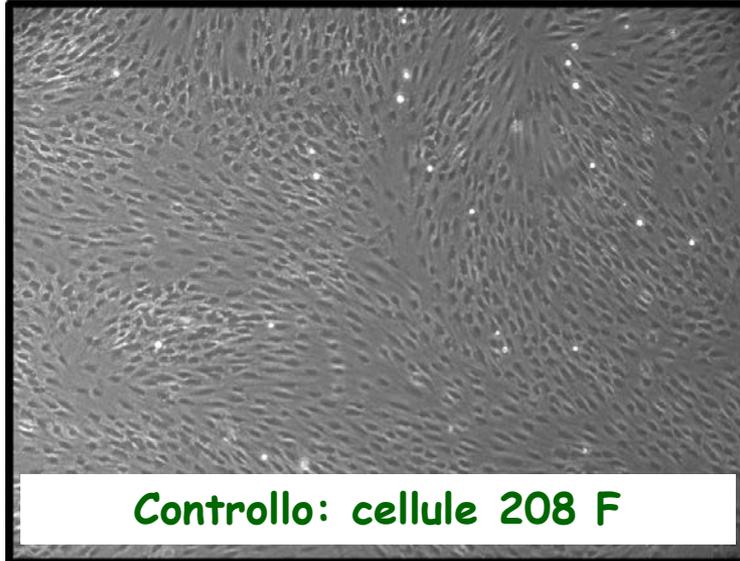
OPA e' causata da un Betaretrovirus: Jaagsiekte sheep retrovirus (JSRV)



Genoma di JSRV



L'env di JSRV Env e' un oncogene *in vitro*



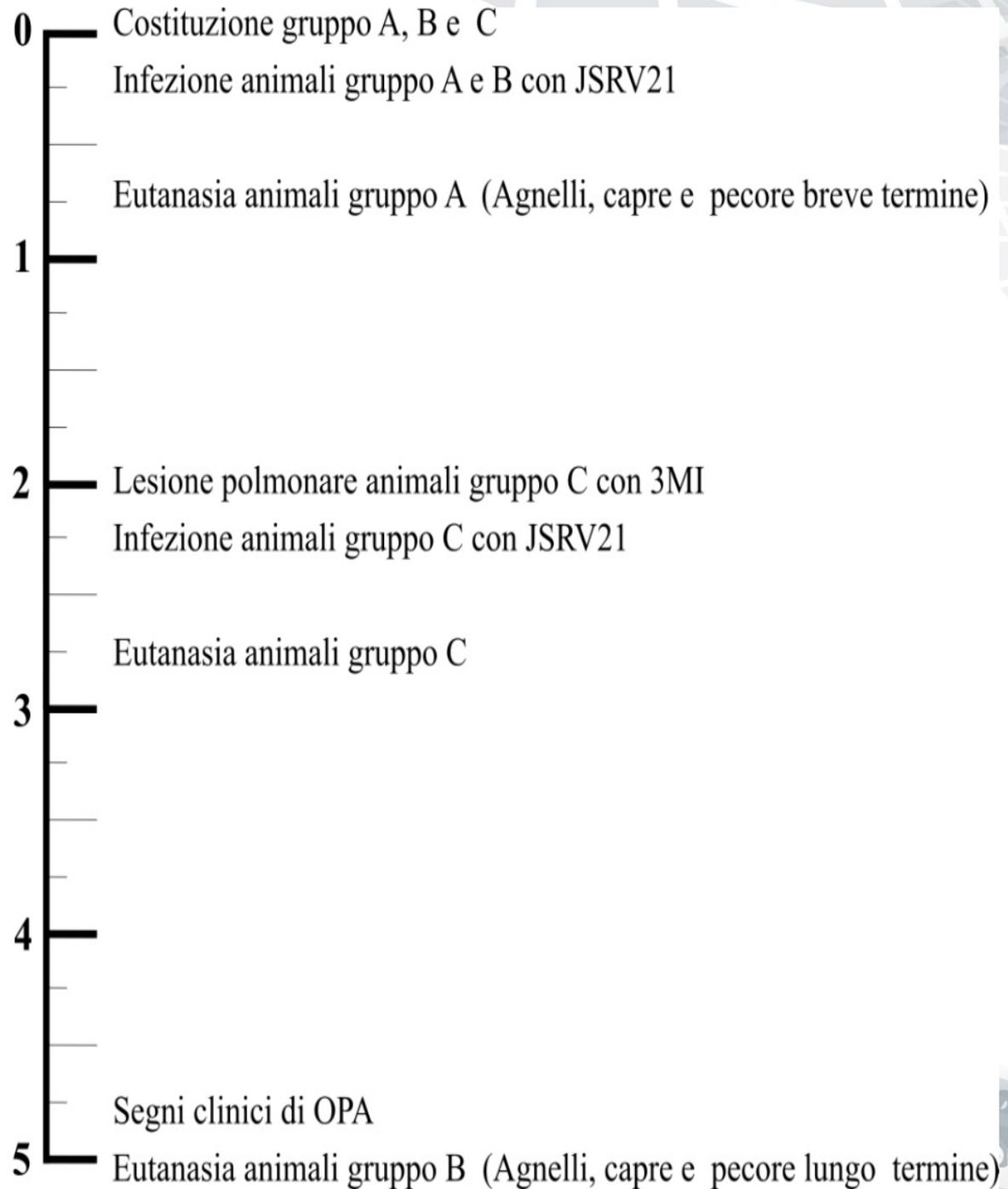
Domande

- Esiste una differente suscettibilità all'infezione da JRSV tra ovini e caprini?**
- Può un animale adulto sviluppare l'infezione da JRSV?**



Cronologia dello studio

Tempo (mesi)





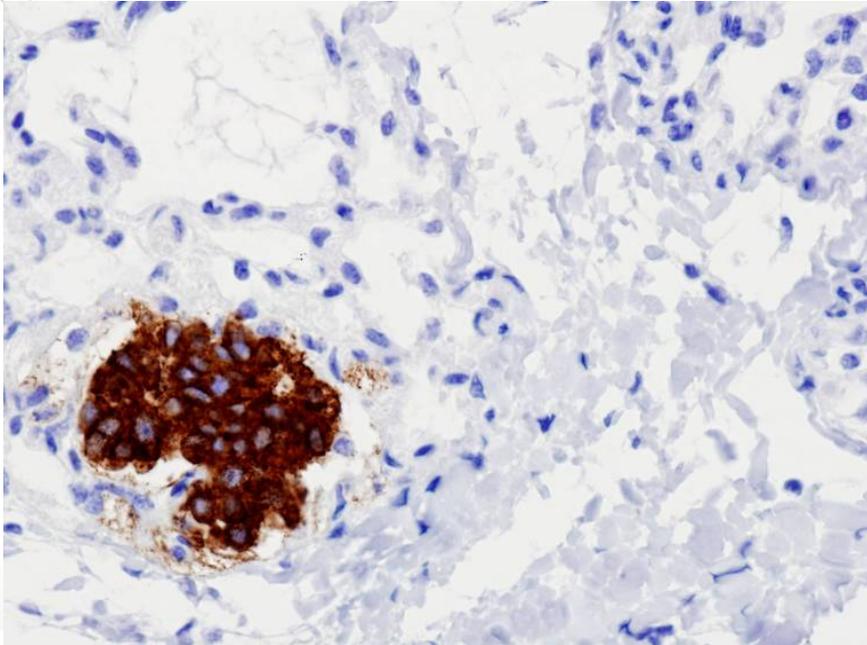
Disegno del progetto

Tutti gli animali sono stati inoculati con la stessa quantita' di virus

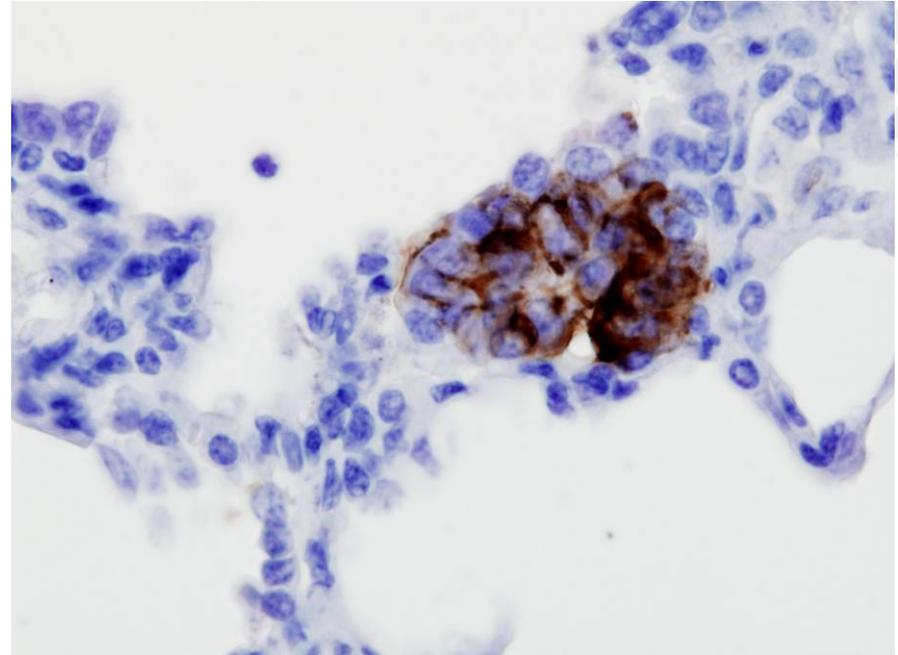


Risultati short term

Agnello



Capretto



A 14 g p.i in assenza di lesioni tumorali
Si evidenziano cellule infette



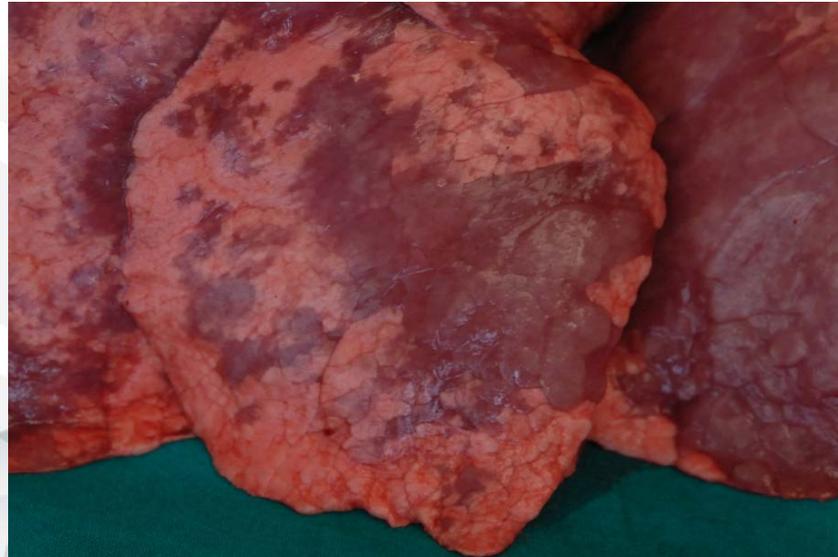
Risultati short term

	Agnelli	Capretti
Cluster tumorali	104	12
Cellule infette	515	86

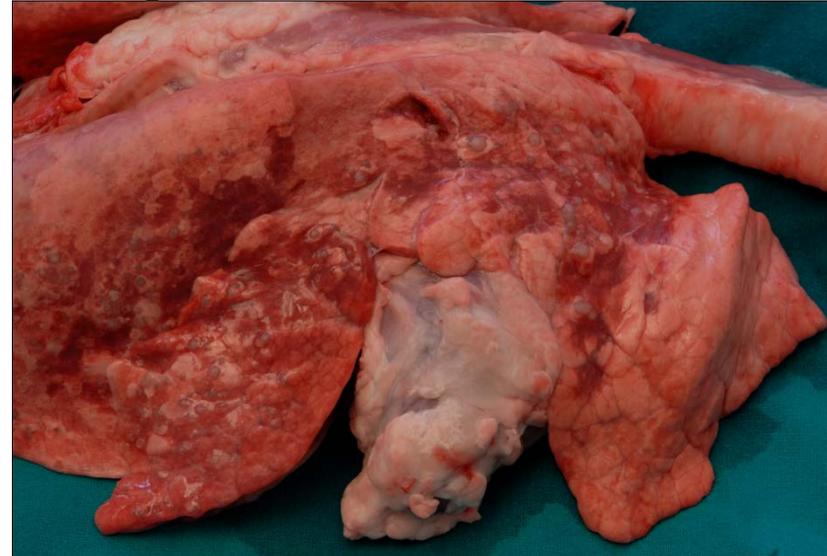


Risultati long term

Agnello

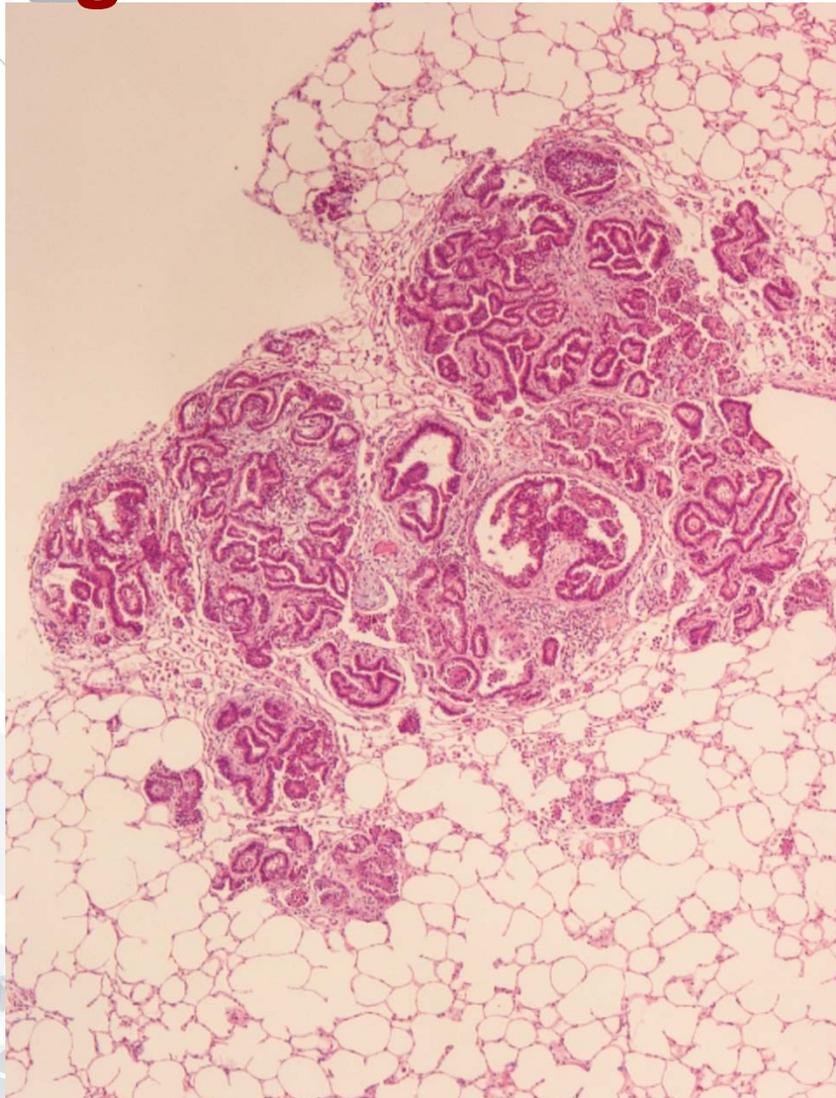


Capretto

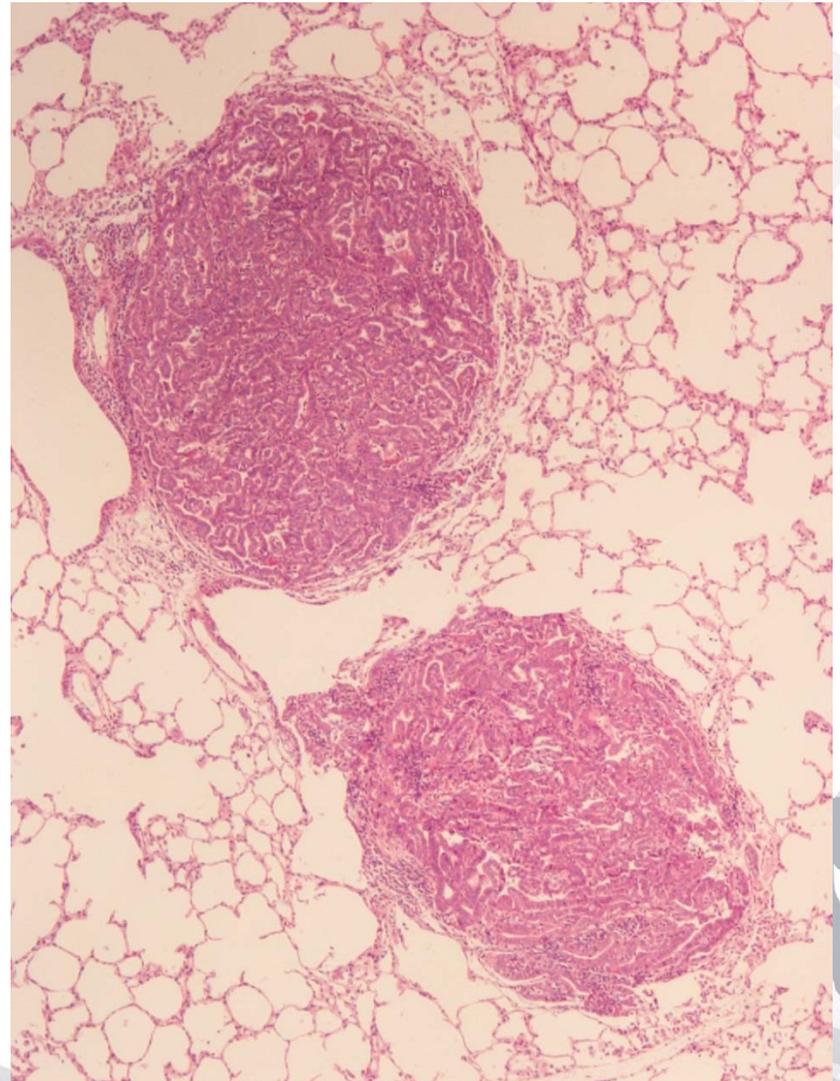


Risultati long term

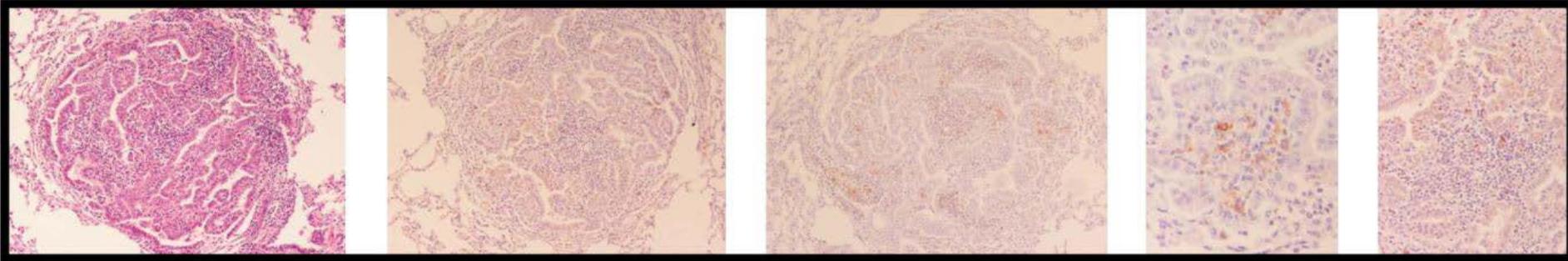
Agnello



Capretto



Lesione infiammatoria polmonare associata alla lesione neoplastica



- Presenza di cellule positive al MHC II (fibroblasti)
- Comune il riscontro di cellule delta/gamma
- Raramente invece e' stato possibile identificare la presenza di cellule CD8 positive.
- Non e' stato possibile trovare linfociti del tipo CD4



Domanda

Quali sono le cellule infettate da JSRV in vivo?

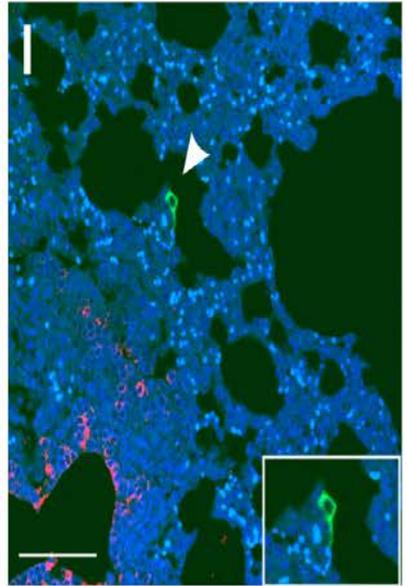
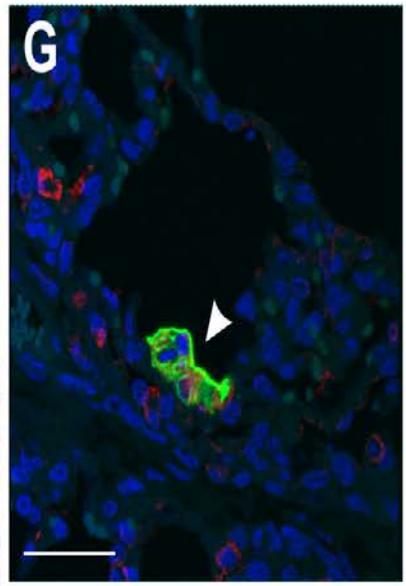
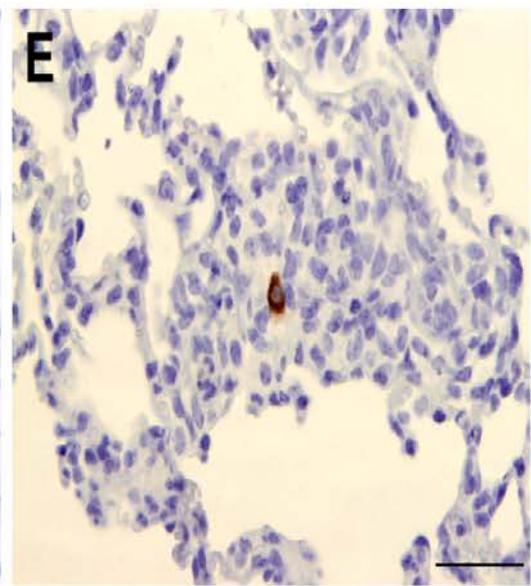
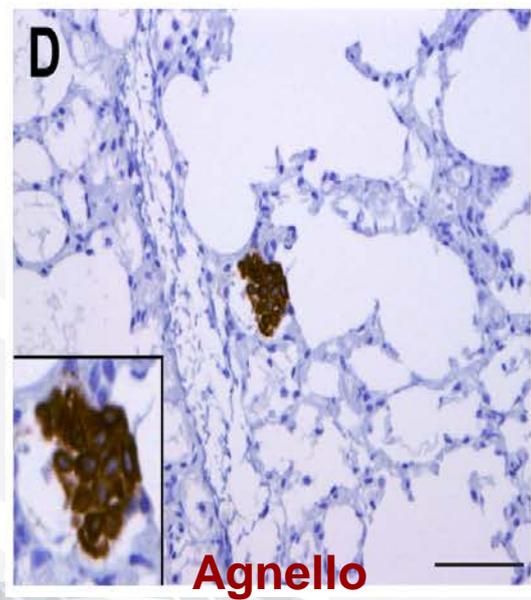
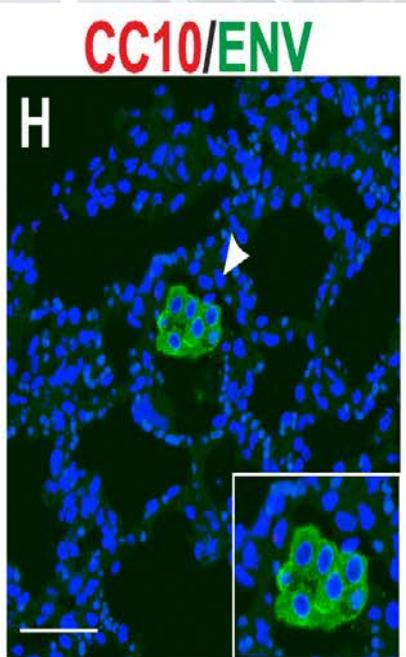
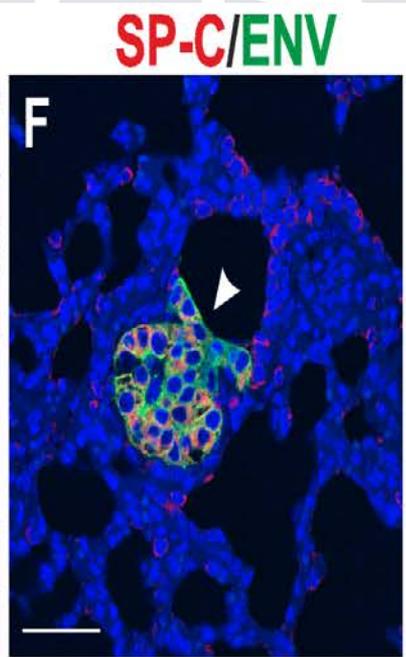
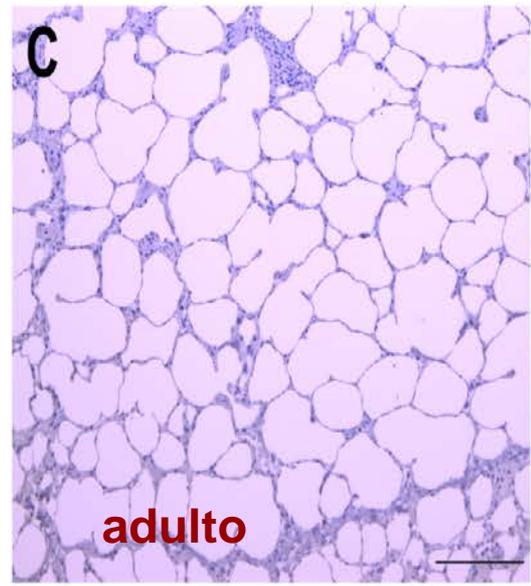
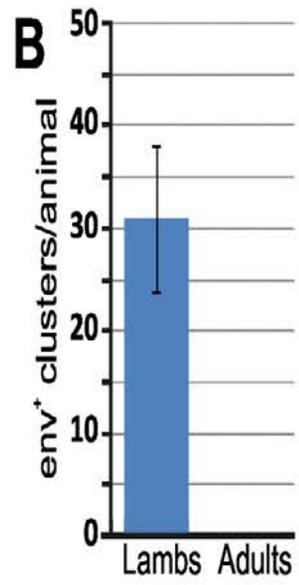
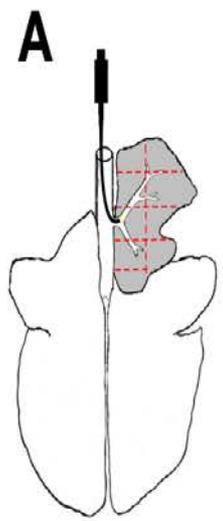




Caratterizzazione delle cellule polmonari infettate da JRSV

- anticorpo anti SU capace di riconoscere l'envelope del virus
- IIC marker per la proteina del surfactante A, Surfattante C (SP-C) e l'antigene da 10 kDa delle cellule del Clara
- Abbiamo colocalizzato l'env di JRSV con le cellule che esprimevano SP-C ma non con le cellule CC10 (spiega il fluido polmonare che scola dalle narici)(prova della carriola)

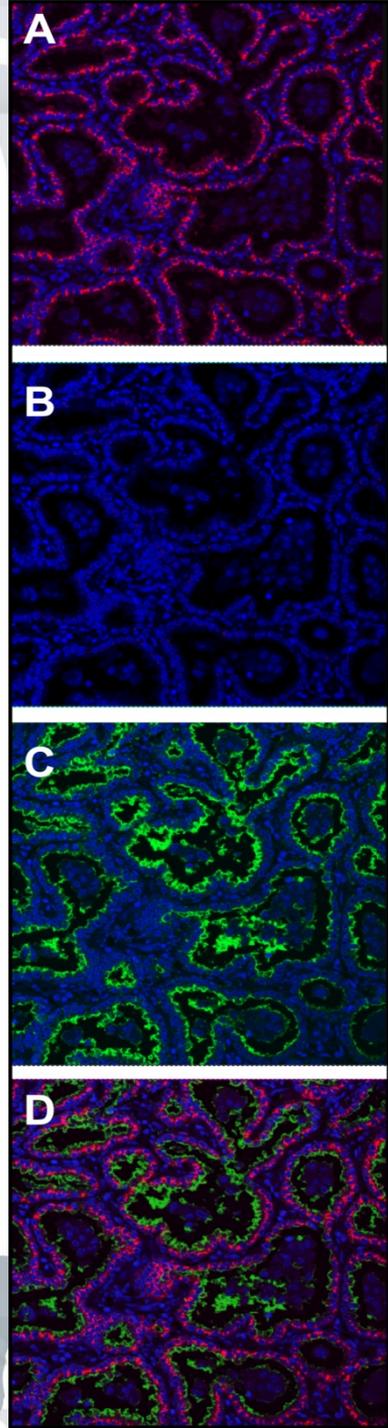




Il tumore causato da JSRV e' composto da cellule SP- positive

**Stadio cronico del tumore
polmonare:
(adulti infettati in condizioni
naturali)**

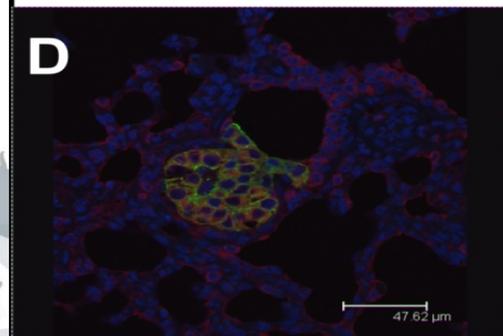
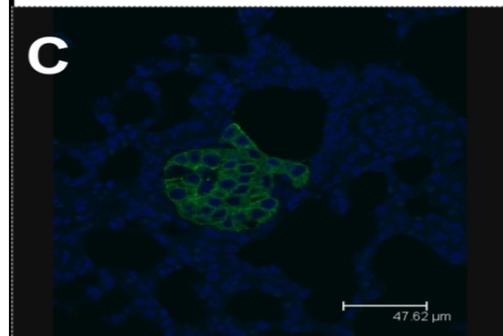
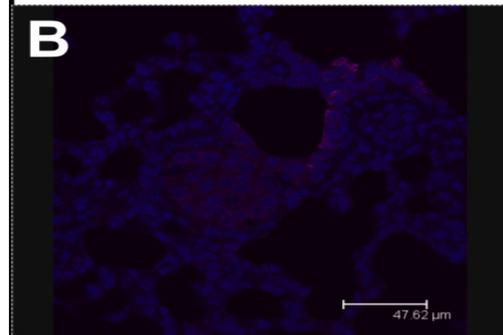
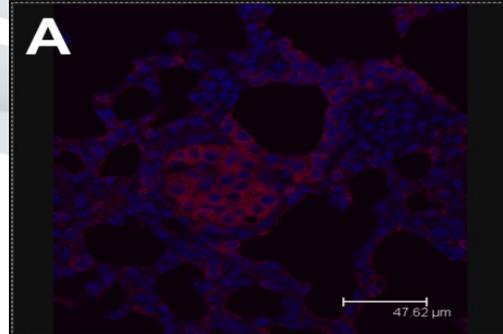
- **A SP-C in rosso,**
- **B CC-10 in rosso,**
- **C JSRV env verde,**
- **D colocalizzazione.**



JSRV env colocalizza con il marker del Surfactant Protein C

**Stadio precoce del tumore
polmonare:(agnelli infettati
sperimentalmente short)**

- **A SP-C in rosso**
- **B CC-10 in rosso (cellule del Clara)**
- **C JSRV env verde**
- **D colocalizzazione**



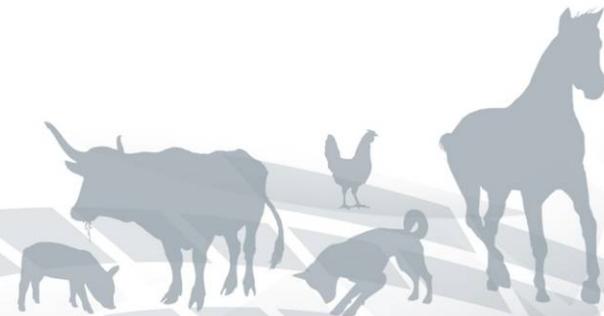
Domanda

Il solo envelope di JSRV e' in grado di causare tumore in un animale?



Suscettibilità in base all'età

- **OPA facilmente indotta in agnelli ma non negli adulti (3MI)**
- **Il periodo di incubazione è direttamente correlato all'età degli animali infetti**
- **Differente distribuzione di cellule target** 

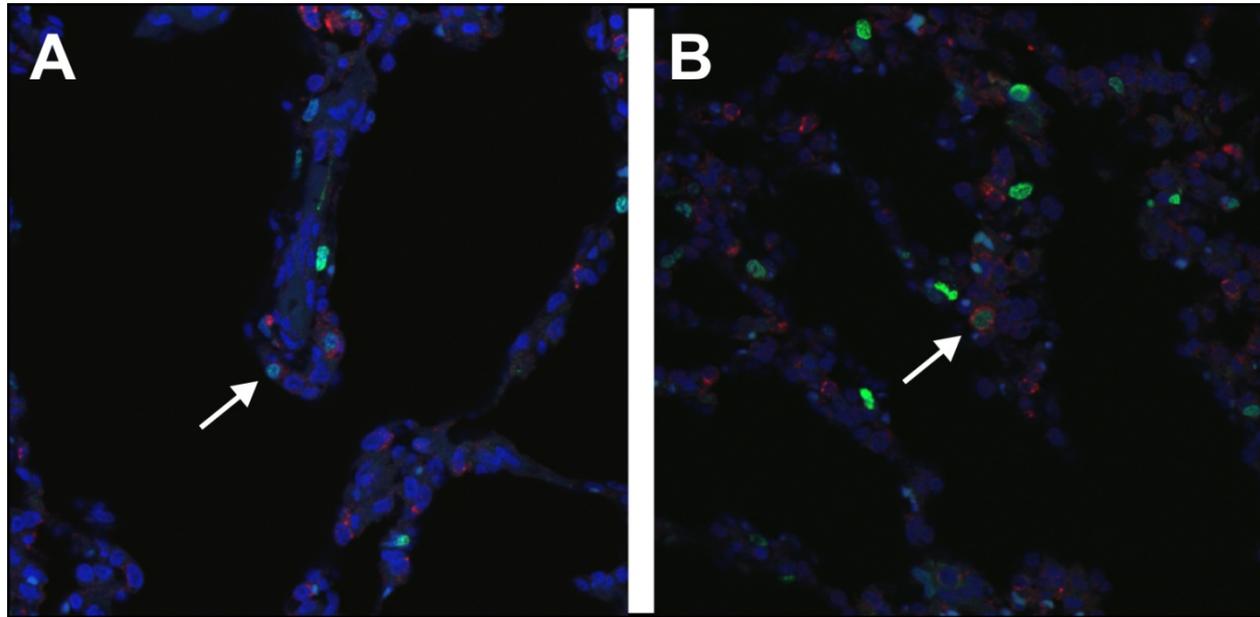


Ciclo infettante retrovirus

- **I retrovirus per esplicare il proprio ciclo infettante hanno bisogno di cellule in attiva replicazione**



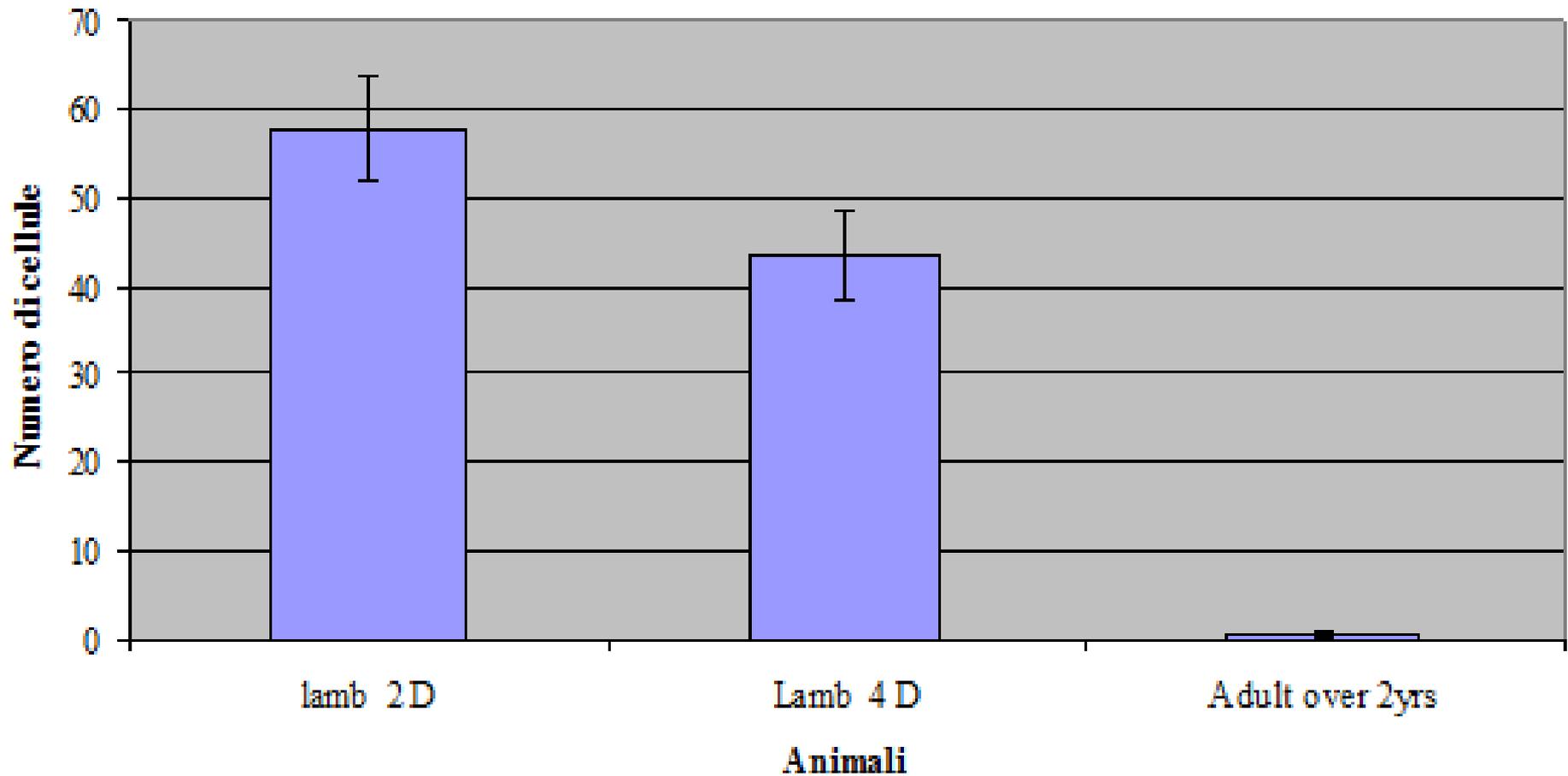
Agnello 2gg con cellule in attiva replicazione



- Doppio staining con **KI-67**, **SP-C**, nuclei (**DAPI**).
- Nel campo sono visibili cellule positive per KI-67 oppure per SP-C.
- La freccia indica una cellula doppiamente positiva per KI-67 ed SP-C in attiva replicazione e potenziale target di infezione per JSRV.



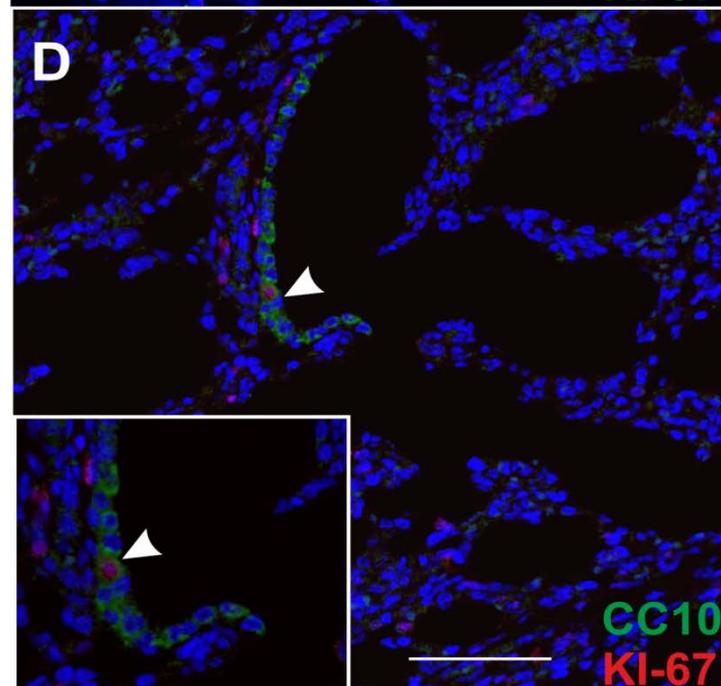
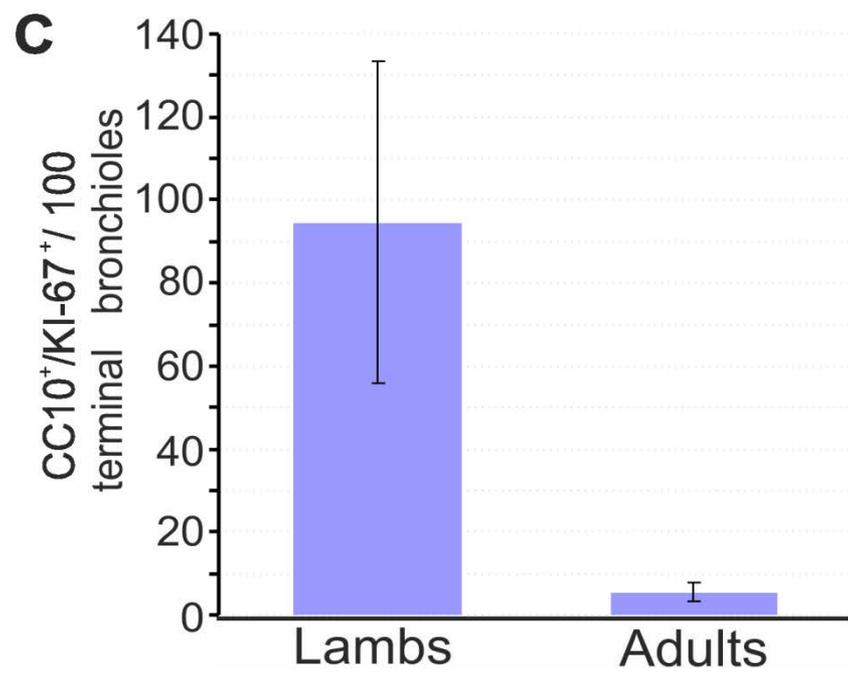
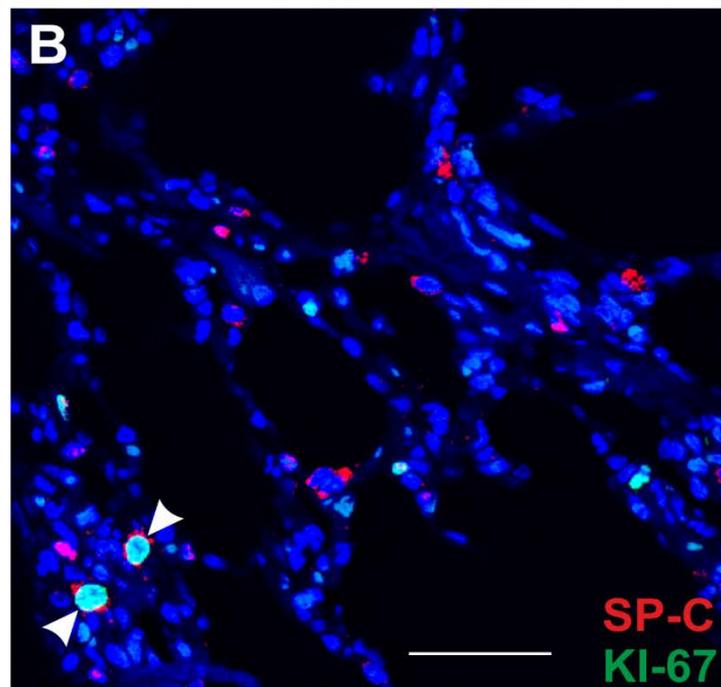
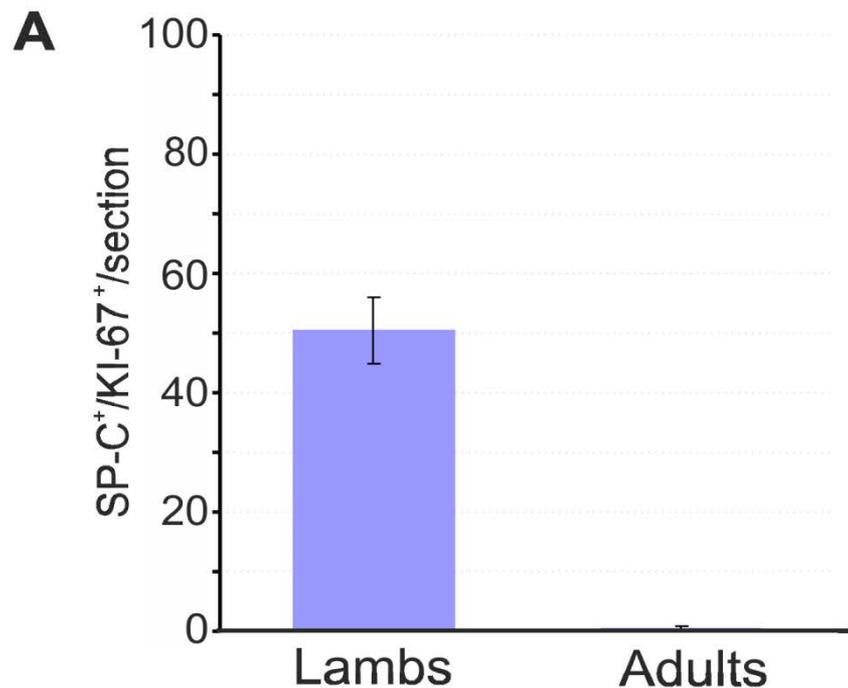
Cellule doppie positive ki67/sp-c



Differenza di numero di cellule in attiva replicazione tra agnelli di diversa età ed animale adulto.

Il numero di cellule in grado di sostenere l'infezione di JSRV decresce in maniera esponenziale all'aumentare dell'età dell'animale. In un animale adulto le cellule Ki-67 e SP-C sono praticamente assenti.

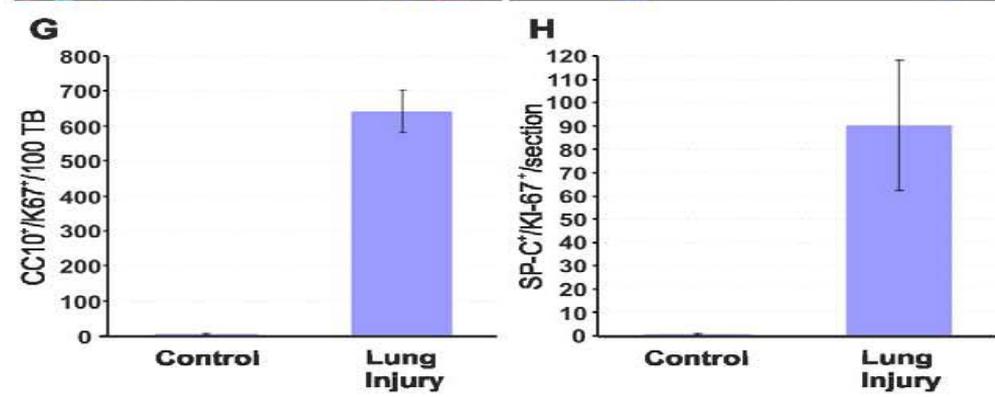
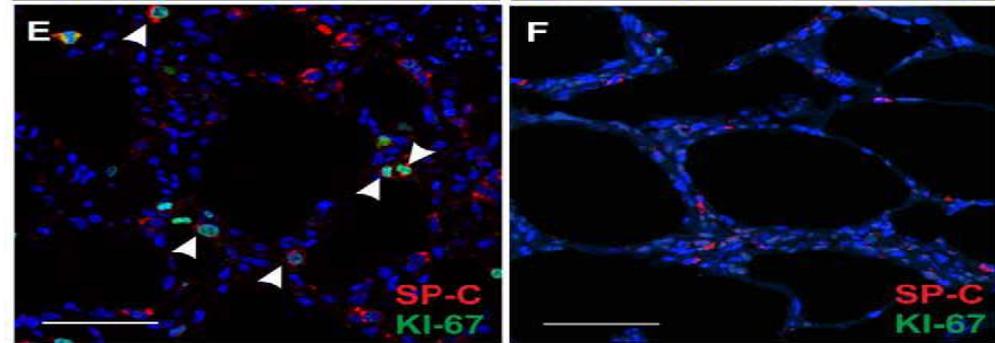
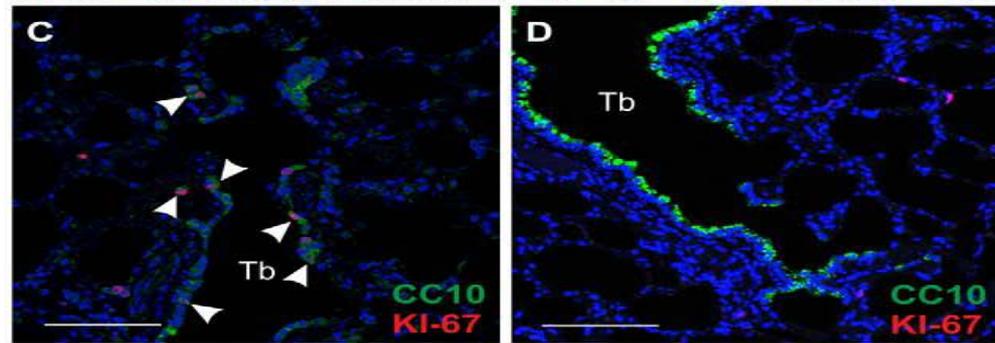
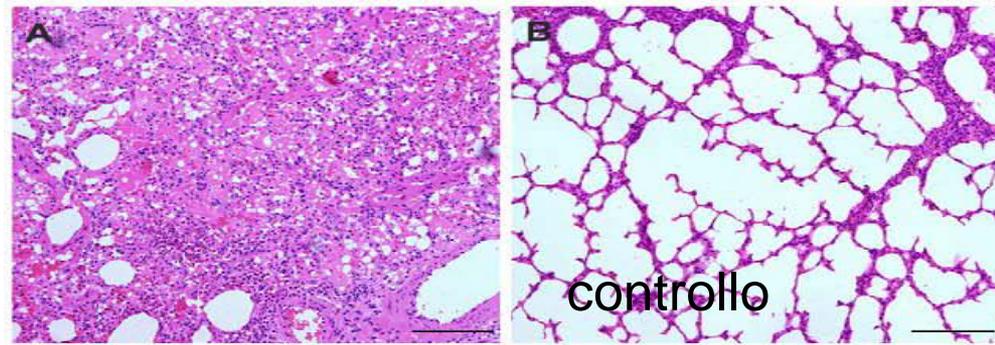


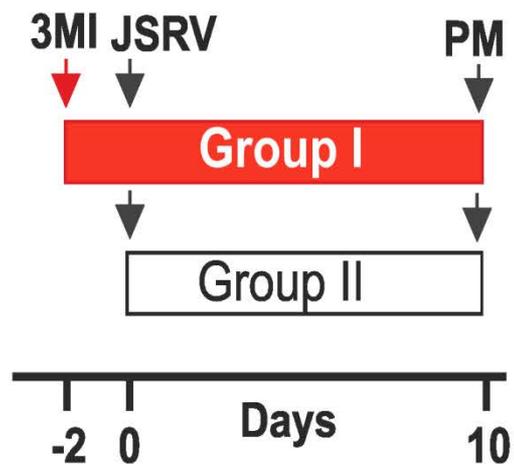
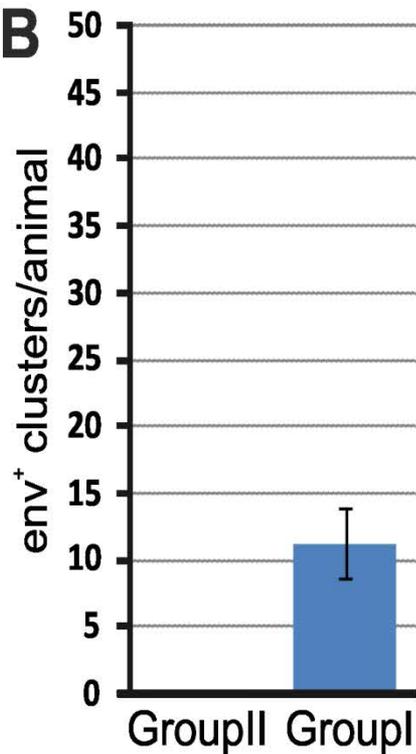
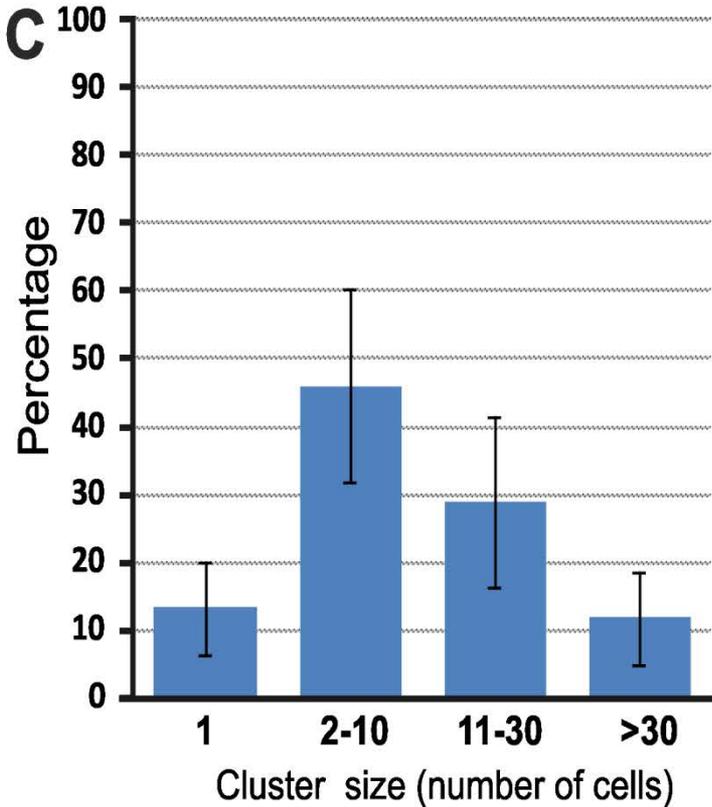
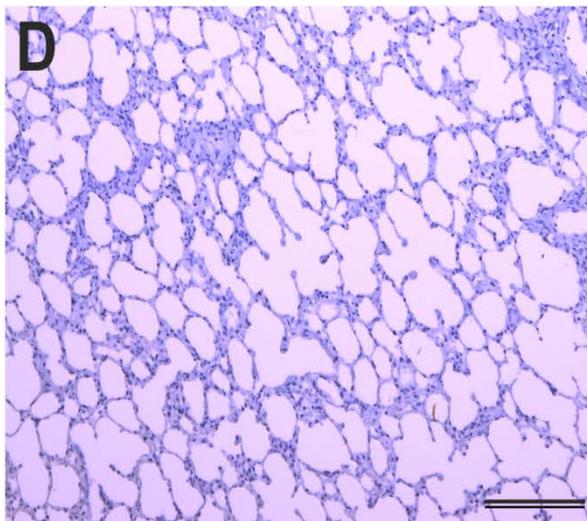
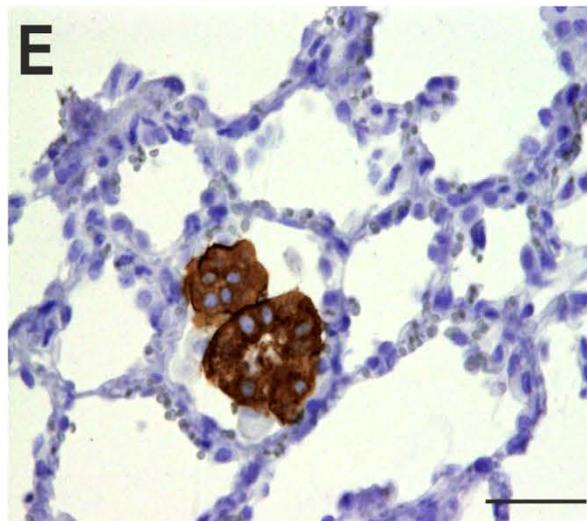
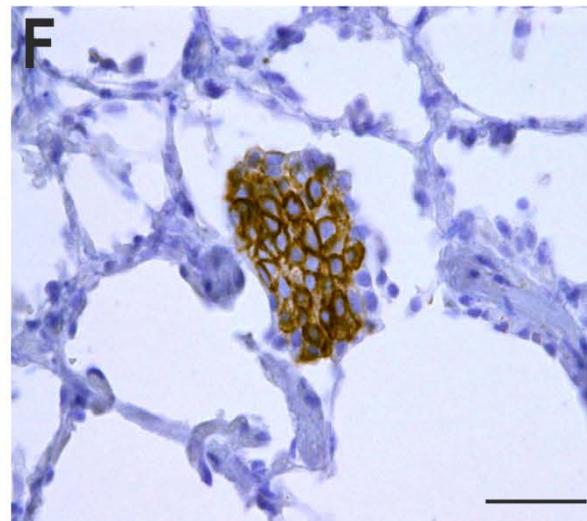


A) Animali trattati a 48h dall'induzione del danno esame istologico evidenzia edema ed emorragie C) trattate con 3 MI CC10/KI-67

E) rapporto SP-C/KI-67

B,D,F- controllo non trattato

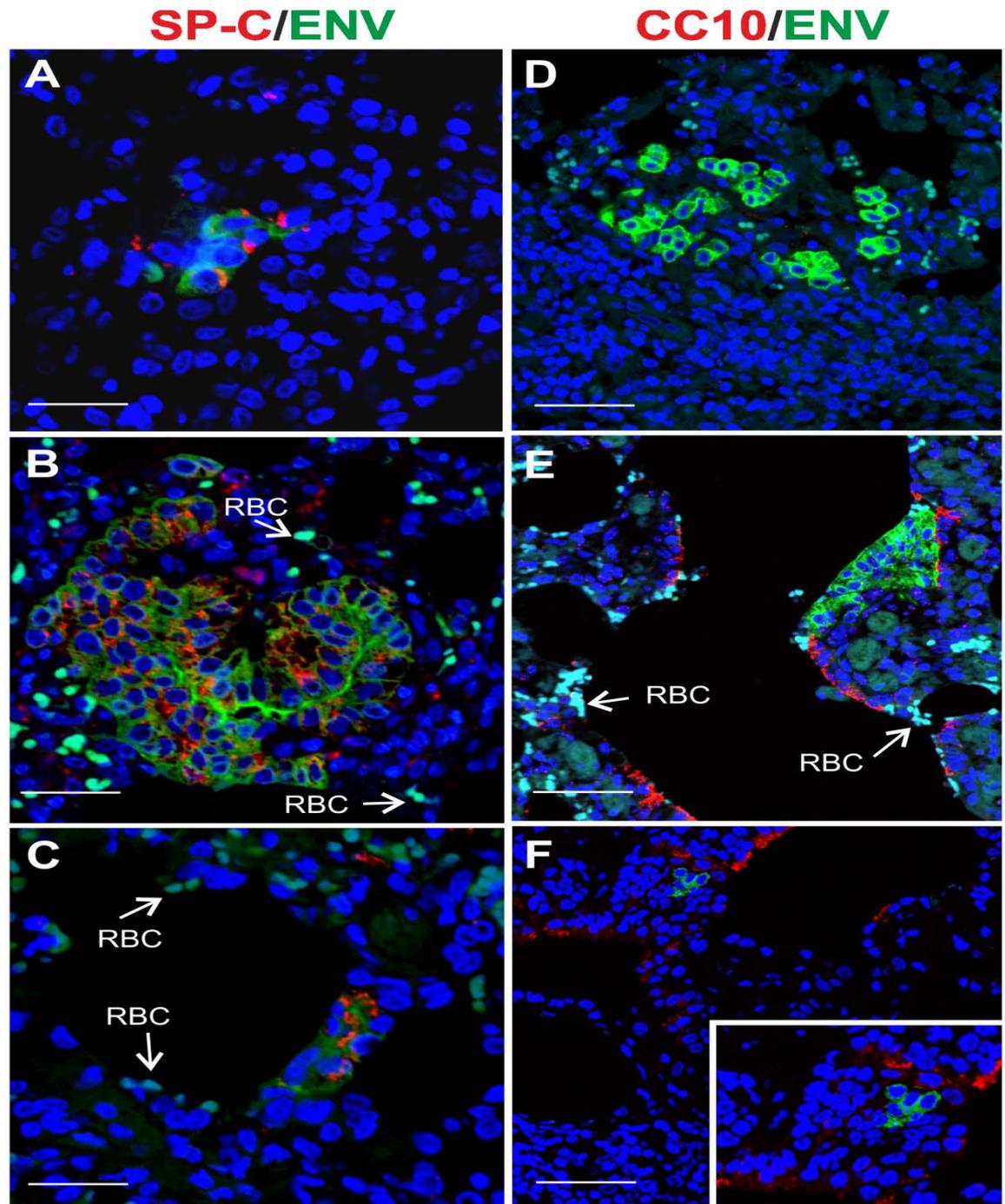


A**B****C****D****E****F**

Sezioni polmonari di pecora pretrattate con 3MI A-C;

Cellule JRSV infette
Solo le SP-C
positive

Nonostante un aumento delle CC10, il virus localizza in altri
Target cellulari
LAPCs



Conclusioni

- **Suscettibilità in relazione all'età, fattori genetici (ovini più delle capre)**
- **L'Adenocarcinoma polmonare ovino ha origine da cellule progenitrici dell'epitelio alveolare (LAPCs) degli agnelli**
- **Negli adulti è necessaria una lesione polmonare predisponente (coesistenza di infezioni batteriche, virali e/o parassitarie)**



Conclusioni

- **Analogia con le forme tumorali polmonari carcinomatose dell'uomo**
- **L'identificazione di cellule target aiuta a comprendere la carcinogenesi e quindi potrebbe rappresentare un modo per valutare delle efficaci strategie terapeutiche**



Ovine pulmonary adenocarcinoma (OPA) is caused by Jaagsiekte sheep retrovirus (JSRV), the causative agent of an infectious lung cancer of sheep with similarities to some forms of human lung cancer

Murgia C., Caporale M., Martineau H., Ceesay O., Di Francesco G., Martella S., Lopes F., D'Innocenzo G., Varasano V., Griffiths D.J., de la Heras M., Palmarini M.

SGM Spring 2010 Meeting. Edinburgh International Conference Centre
29 March-1 April 2010

 **OPEN ACCESS** Freely available online

PLoS **PATHOGENS**

Lung Adenocarcinoma Originates from Retrovirus Infection of Proliferating Type 2 Pneumocytes during Pulmonary Post-Natal Development or Tissue Repair

Claudio Murgia¹, Marco Caporale^{1,2}, Ousman Ceesay¹, Gabriella Di Francesco², Nicola Ferri², Vincenzo Varasano³, Marcelo de las Heras⁴, Massimo Palmarini^{1*}

1 Medical Research Council – University of Glasgow Centre for Virus Research, Institute of Infection, Inflammation and Immunity, College of Medical, Veterinary and Life Sciences, University of Glasgow, United Kingdom, **2** Istituto G. Caporale, Teramo, Italy, **3** Dipartimento di Scienze Cliniche Veterinarie, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Teramo, Italy, **4** Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza, Zaragoza, Spain

RINGRAZIAMENTI

 Caporale	Marco	ICT Teramo
Ceesay	Ousman	Università di Glasgow
De las Heras	Marcelo	Università di Saragozza
D'Innocenzo	Gino	ICT Teramo
Ferri	Nicola	ICT Teramo
Lopes	Federica	ICT Teramo
Martella	Sandro	ICT Teramo
Murgia	Claudio	Università di Glasgow
Palmarini	Massimo	Università di Glasgow
Varasano	Vincenzo	Università di Teramo

IZS RC 02 06

**“Valutazione comparativa della
resistenza all’infezione da Jaagsiekte
Sheep retrovirus (JRSV) nelle specie
ovi-caprine”**



Protocolli utilizzati

- 
- **Protocolli diagnostici standard di**
 - Istologia, immunofluorescenza ed immunoistochimica
 - **L'identificazione dei tipi cellulari è stata condotta con una serie di anticorpi primari**
 - Anticorpo policlonale rb anti pro-SPC7/HRP donkey anti rb coniugato con Alexa –Fluor 488
 - Monoclonale anti Ki67/Goat anti mouse coniugato Alexa-Fluor 488 e Alexa Fluor-555
 - Policlonale anti JRSV
 - Anticorpo policlonale rb CC-10/HRP donkey anti rb coniugato con Alexa –Fluor 488

