



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE

DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

Corso di Laurea in Scienze Biologiche

---

**USO DELLE CELLULE STAMINALI MESENCHIMALI ISOLATE DAL  
SANGUE CORDONALE PER LA CURA DEL TUMORE ALLA PROSTATA**

**USE OF MESENCHYMAL STEM CELLS ISOLATED FROM CORD  
BLOOD FOR THE TREATMENT OF PROSTATE CANCER**

Tesi di Laurea di:  
Alice Renzi

Docente Referente  
Chiar.ma Prof.  
Francesca Maradonna

Anno Accademico 2022/2023

# ***INTRODUZIONE***

## CANCRO ALLA PROSTATA (PCa)

- Proprietà indolenti, natura non invasiva; scarso controllo del processo metastatico
- Contratto da più del 90% degli uomini di età superiore agli 80 anni
- Tasso di mortalità significativo
- Eterogeneità biologica
- Terapie attuali: chirurgia, deprivazione androgenica, chemioterapia, radioterapia, sorveglianza attiva mediante antigene prostatico specifico
- Cancro recidivo, comparsa di tumori resistenti

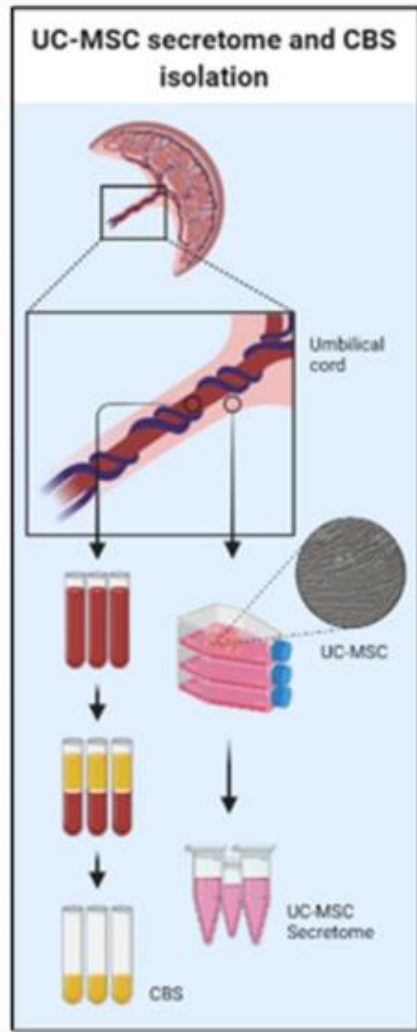
## SCOPO DELLO STUDIO



La finalità dello studio è di valutare l'efficacia dell'utilizzo del secretoma di UC-MSc e CBS per la cura del tumore alla prostata.

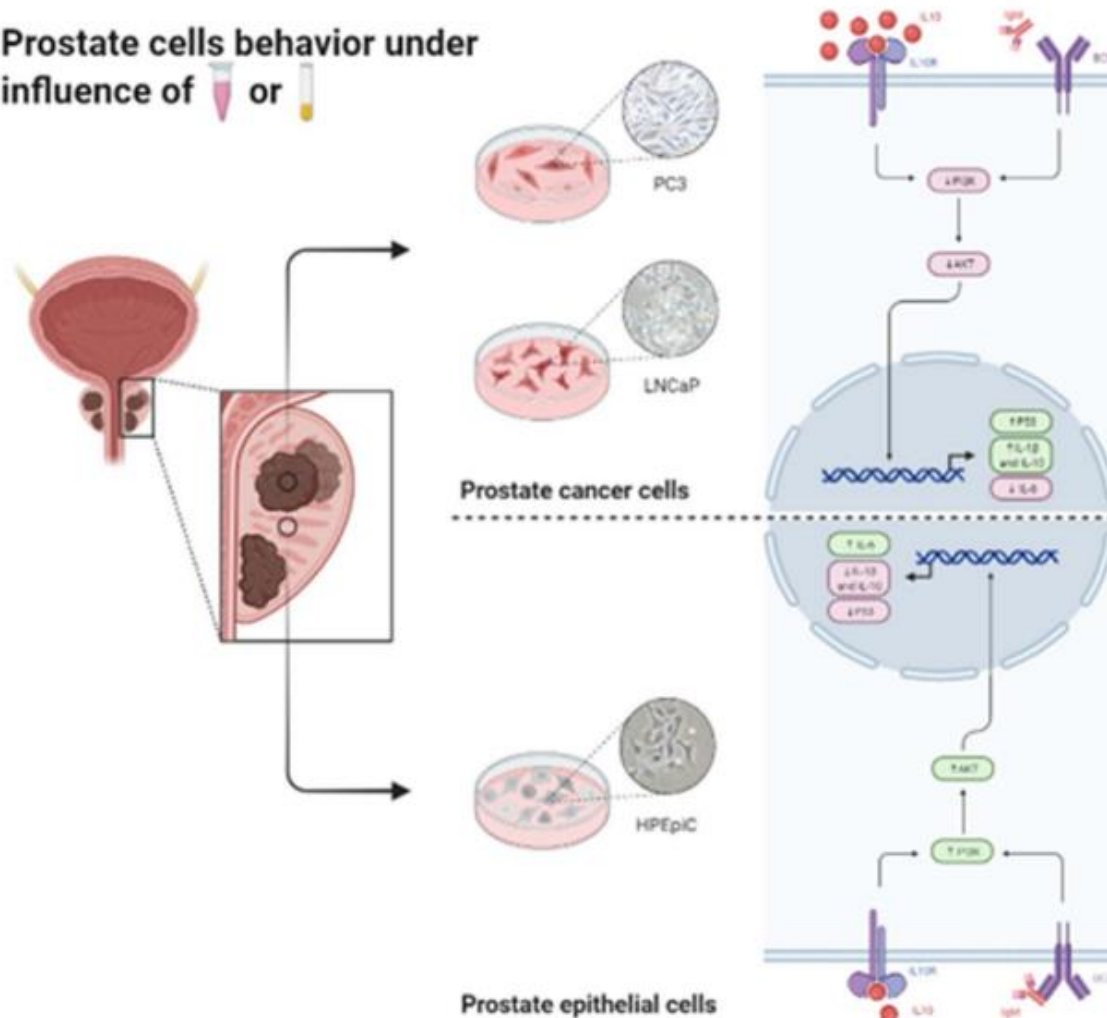
## COMPONENTI ESTRATTE DAL CORDONE OMBELICALE

- **UC-MSc:** cellule staminali mesenchimali isolate dal cordone ombelicale
- **CBS:** siero del sangue cordonale

# METODOLOGIA



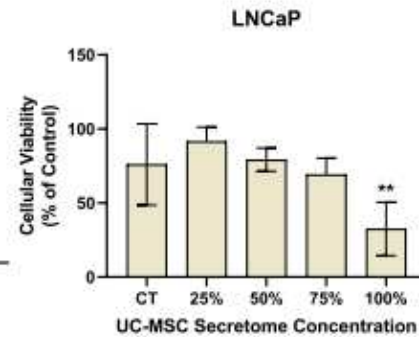
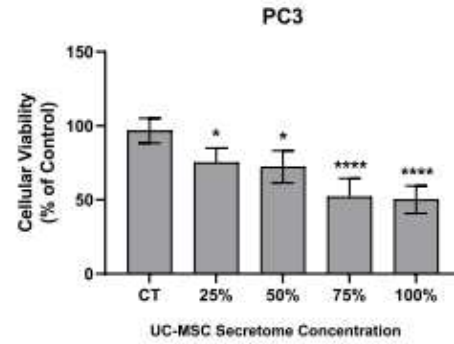
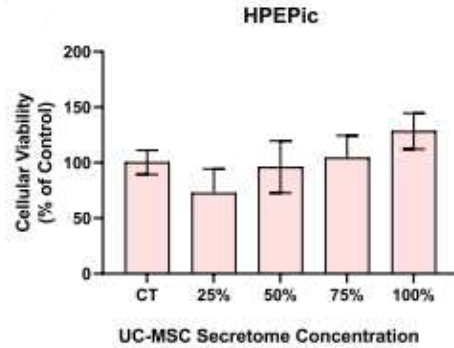
Prostate cells behavior under influence of  or 



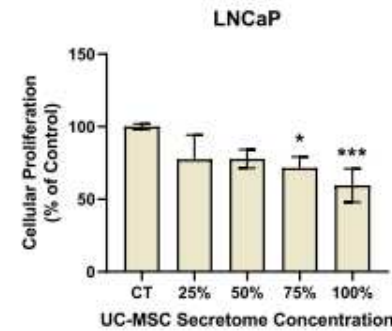
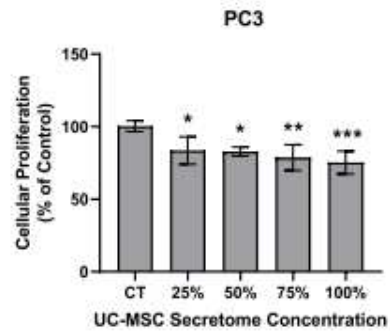
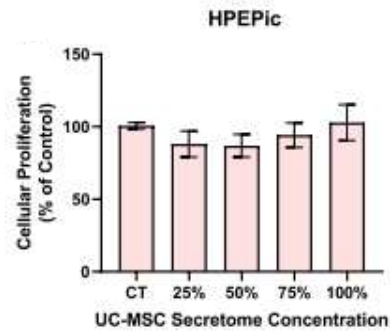
- **Raccolta campione:** svolta in ospedali di maternità autorizzati, con consenso firmato delle madri. Campione CB sottoposto ad analisi sierologica e microbiologica completa.
- **Coltura cellulare:** UC-MS-C isolate dai cordoni ombelicali UC è stato digerito con collagenase e ialuronidase e le MSC sono state caratterizzate e messe in coltura. Sono state messe in coltura anche le linee cellulari PCa: PC3 (adenocarcinoma prostatico di grado IV non sensibile agli androgeni) e LNCaP (adenocarcinoma prostatico umano sensibile agli androgeni). Anche la linea cellulare epiteliale non tumorale HPEpIC è messa in coltura.
- **Trattamento delle cellule della prostata con il secretoma di UC-MS-C e CBS:** ciascuna linea cellulare è stata incubata in coltura per 24h utilizzando una concentrazione finale del 10%, 20%, 25% di CBS e 25%, 50%, 75% e 100% di secretoma di UC-MS-C.
- **Saggio di citotossicità**
- **Saggio di proliferazione**
- **Analisi delle lesioni**
- **Estrazione dell'mRNA:** PC3, LNCaP e HPEpIC sono state seminate, trattate e quindi sottoposte a estrazione; l'RNA totale è stato purificato e sciolto in H<sub>2</sub>O trattata con DEPC
- **One-step RT-qPCR**
- **Analisi statistica**

# RISULTATI

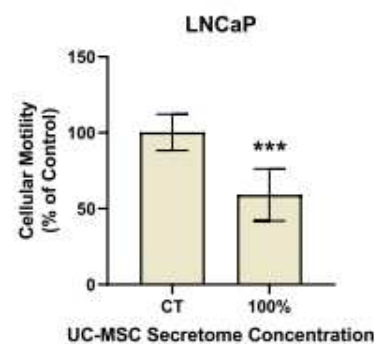
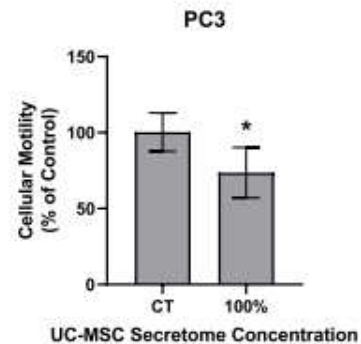
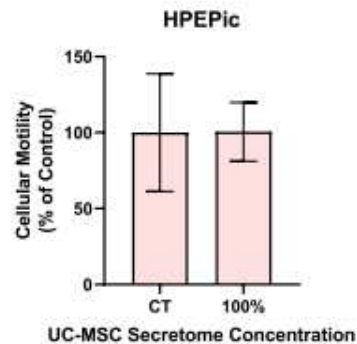
## Valutazione funzionale sulle cellule prostatiche esposte al secretoma UC-MSC



*Vitalità cellulare*



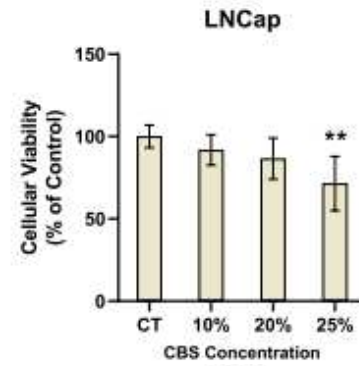
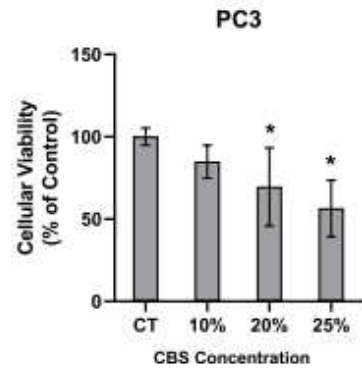
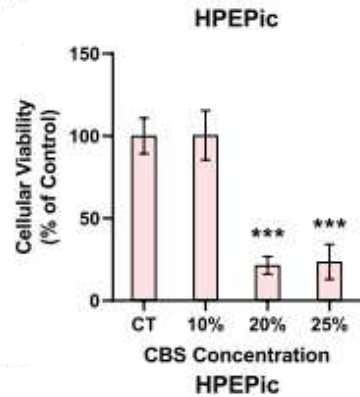
*Proliferaazione cellulare*



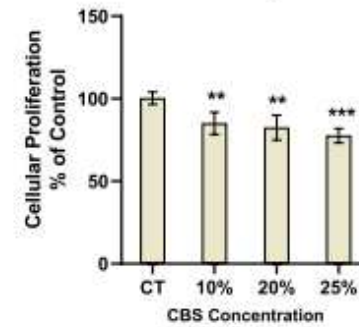
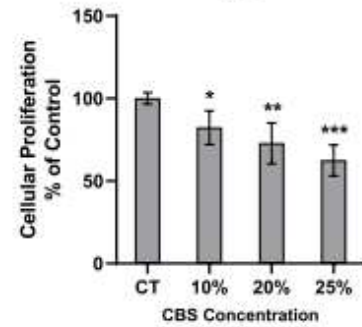
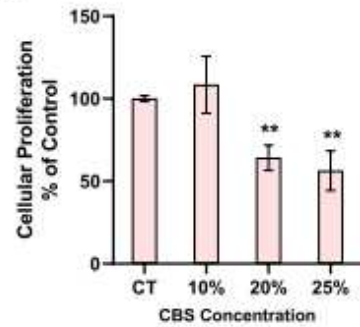
*Capacità migratoria*

# RISULTATI

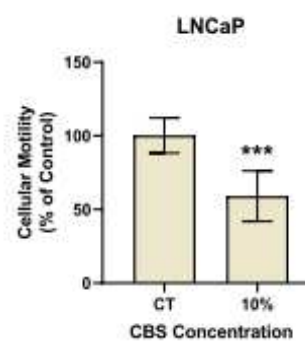
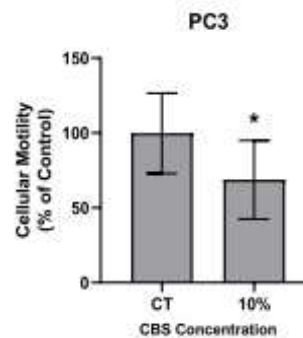
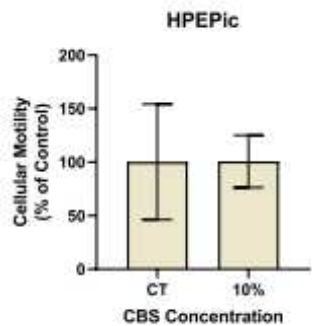
## Valutazioni funzionali sulle cellule prostatiche esposte a CBS



*Vitalità cellulare*



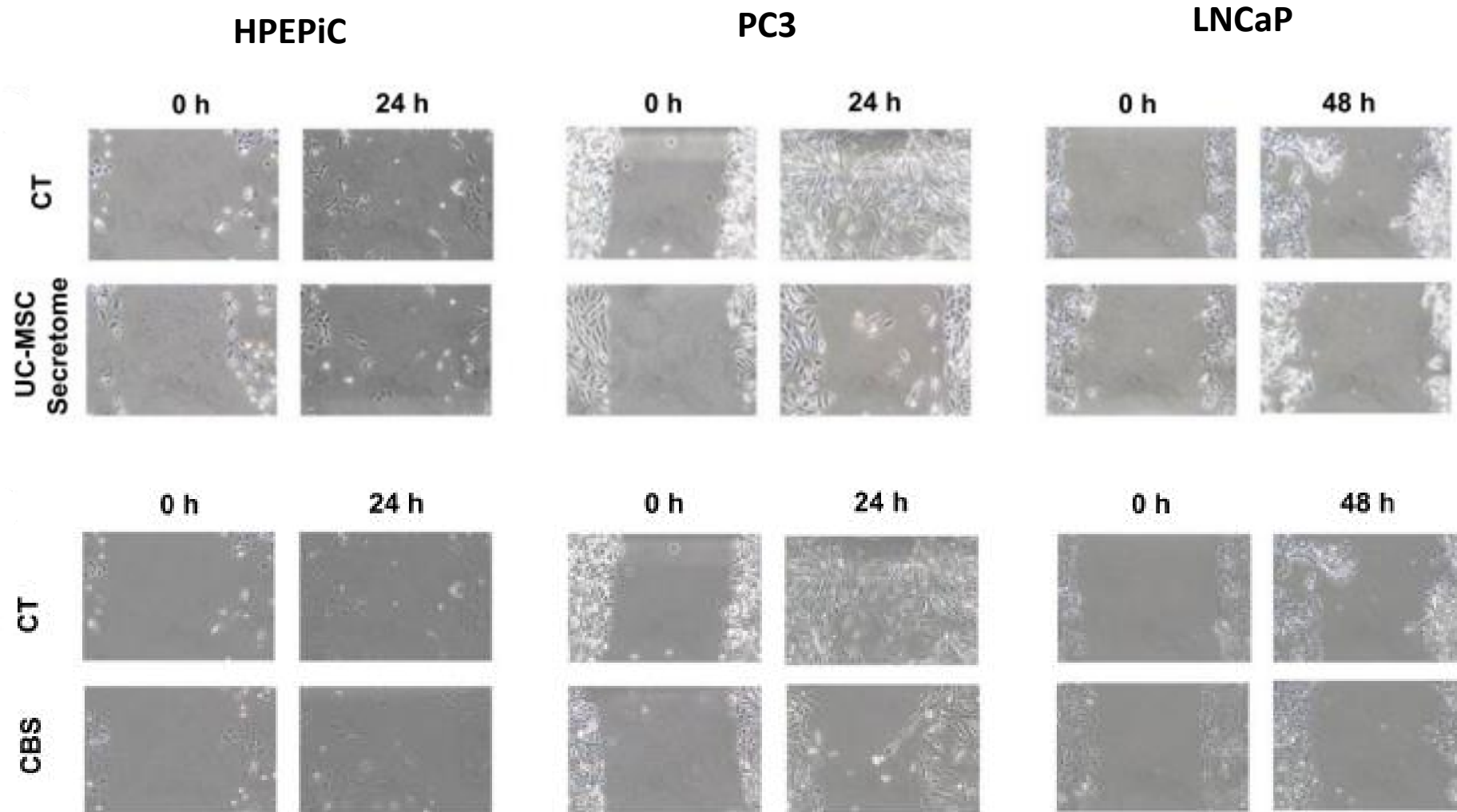
*Proliferazione cellulare*



*Capacità migratoria*

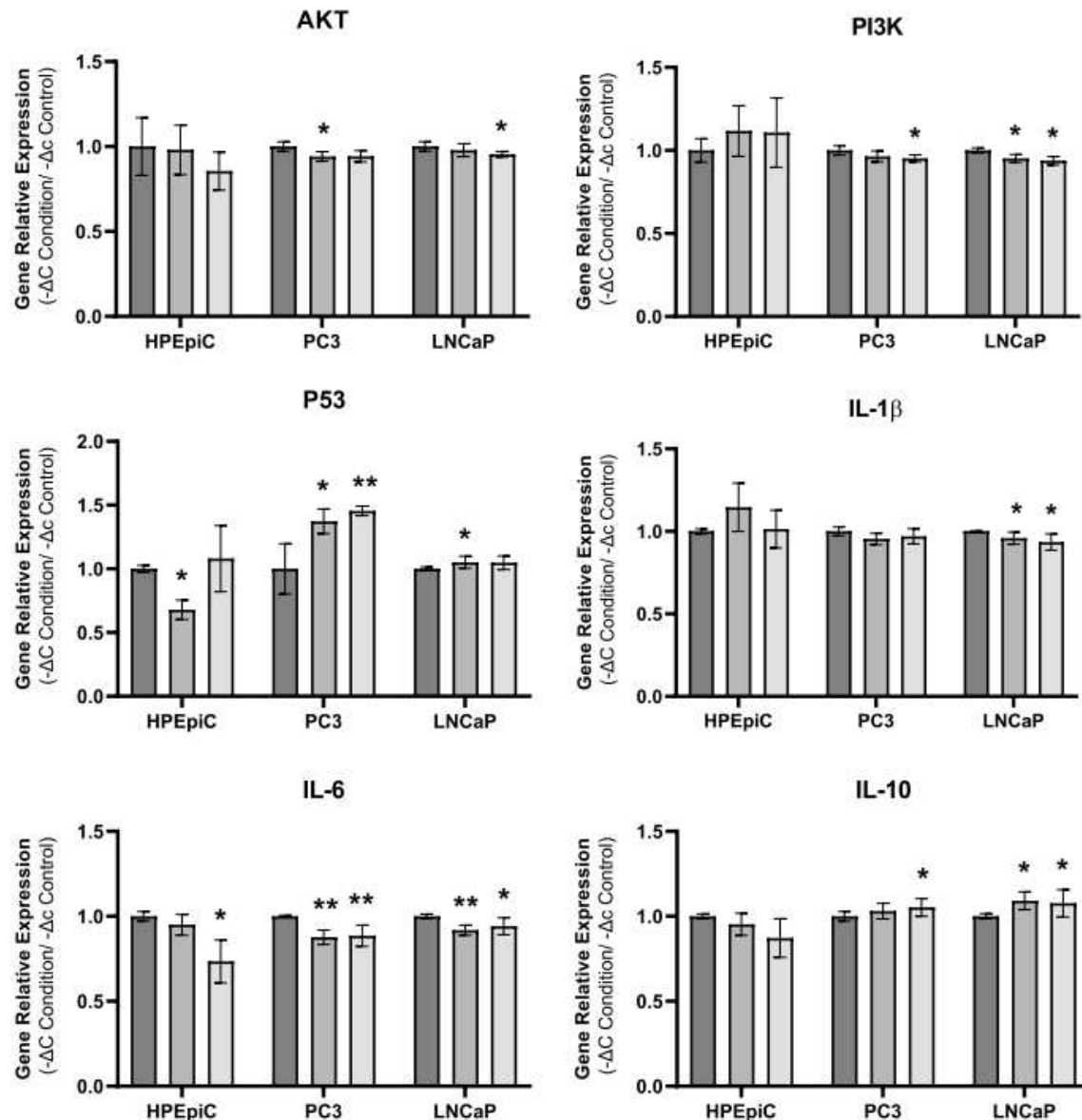
# ***RISULTATI***

## Test delle lesioni



# RISULTATI

## Valutazione dell'espressione genica di segnali coinvolti nella risposta infiammatoria



- Il secretoma di UC-MSC e di CBS riducono significativamente vitalità e proliferazione cellulare, inibiscono la migrazione e diminuiscono l'attivazione di PI3K/AKT sia della linea cellulare PC3 che di LNCaP;
- La diminuzione dell'espressione di PI3K e AKT da parte del secretoma di UC-MSC si verifica in modo indipendente dalla linea cellulare, mentre CBS ha compromesso solo l'espressione del gene PI3K nelle cellule PC3;
- Il trattamento delle linee cellulari PCa con le due tipologie di secretoma ha portato ad una sovraregolazione del gene P53 wild type;
- Il secretoma di UC-MSC ha ridotto l'espressione delle citochine pro-infiammatorie, mentre aumentano i livelli di mRNA di citochine antinfiammatorie (solo nelle cellule tumorali)



# ***DISCUSSIONE***

- UC-MSc umane sono caratterizzate da una bassa immunogenicità con elevato potenziale di utilizzo: modello in vitro, sviluppo di nuove strategie terapeutiche.  
Hanno numerosi vantaggi rispetto alle MSC del midollo osseo.
- L'impatto diretto dei trattamenti sulla vitalità può essere dovuto all'induzione della morte cellulare o alla riduzione della capacità di proliferazione.  
La valutazione del tasso migratorio evidenzia le differenze nella motilità cellulare dovute al trattamento.
- Si ipotizza che la concentrazione di secretoma di UC-MSc possa interferire con la crescita delle cellule tumorali.

# ***DISCUSSIONE***

- I risultati suggeriscono anche che l'effetto antitumorale del secretoma di UC-MSC dipendono dal tipo cellulare specifico: le cellule LNCaP sono più reattive agli stimoli esterni rispetto alle cellule PC3.

La linea cellulare HPEPiC non è significativamente influenzata: la tendenza all'aumento della proliferazione osservata dopo i due trattamenti è probabilmente causata dalla maggiore espressione del gene PI3K. Concentrazioni più elevate di CBS aumentano il tasso di morte cellulare.

- Lo studio mostra come sia il secretoma di UC-MSC sia quello di CBS siano in grado di diminuire l'attivazione di PI3K/AKT, via che in diversi tumori è iperattiva. Le modalità, nelle due linee cellulari, sono differenti.
- Inoltre, entrambe le tipologie di secretoma hanno la capacità di aumentare l'espressione del gene p53 nelle cellule prostatiche maligne, suggerendo un marcato effetto sulla regolazione del ciclo cellulare.

# ***DISCUSSIONE***

Per quanto riguarda la secrezione delle citochine:

- Il secretoma di UC-MSC ha un effetto più evidente nella linea cellulare LNCaP: ciò è dovuto alla maggiore aggressività delle cellule PC3.  
Questi risultati confermano gli effetti consolidati di UC-MSC sull'infiammazione: inibizione della proliferazione delle cellule immunitarie, il fenotipo dei macrofagi passa a anti-infiammatorio, e vengono secreti IL-10 e IL-4. Inoltre viene soppressa la secrezione di IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  e IL-8.
- CBS, rispetto al plasma adulto, è più ricco di fattori antinfiammatori; contiene inoltre fattori in grado di agire su proliferazione, differenziazione e funzione delle cellule immunitarie e di altri tipi. In ogni caso, questo studio mostra che la CBS ha promosso un profilo antinfiammatorio.

# ***CONCLUSIONI***

- UC-MSC e CBS riducono l'aggressività delle linee cellulari maligne della prostata
- MSC isolate da CU; vantaggi rispetto alle MSC ricavate dal midollo osseo:
  - migliore capacità di espansione
  - minore probabilità di contaminazione
  - possibile fonte per terapia cellulare autologa
- Scoperta di nuove terapie del cancro non basate su cellule, tramite ulteriori studi