

Barbara Caterina AZZIMONTI

Ricercatore confermato

MED/07 Microbiologia e Microbiologia clinica

Facoltà di Medicina, Chirurgia e Scienze della Salute

Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale

Tel.: 0321 660 649 / 688; Fax: 0321 620 421

E-mail: barbara.azzimonti@med.unipmn.it

CARRIERA ACCADEMICA: 2004: Ricercatore non confermato
2008-oggi: Ricercatore confermato

INSEGNAMENTI. 2004-oggi: Microbiologia generale

CURRICULUM. Nel 1996 consegue la Laurea in Scienze Biologiche presso l'Università degli Studi di Milano. Dal 1997 svolge la sua attività di ricerca presso il laboratorio di Virologia molecolare del Dipartimento di Scienze Mediche, Università degli Studi del Piemonte Orientale. Nel 1997 vince una borsa di studio della Lega Italiana per la Lotta contro i Tumori. Dal 1998 al 2003 frequenta la Scuola di specializzazione in Patologia clinica presso la Facoltà di Medicina e Chirurgia dell'Università del Piemonte Orientale. Nel 2002 trascorre un periodo di sei mesi presso il laboratorio di Virologia dei Tumori diretto dal Dr M. Tommasino, DKFZ (Heidelberg, Germania) con una Borsa di studio della Fondazione Italiana per la Ricerca sul Cancro ONLUS (FIRC) per soggiorni all'estero. Nel 2003 vince il premio "Dott. Mario Zaccala" istituito dalla Lega Italiana per la Lotta contro i Tumori e consegue la Specialità in Patologia Clinica; Nel 2004 vince il concorso per un posto da ricercatore universitario. Nel 2008 ottiene la conferma in ruolo.

CAMPI DI INDAGINE NELLA RICERCA. Caratterizzazione di pazienti affetti da Epidermodisplasia Verruciforme; Relazione funzionale tra infiammazione ed infezione da Papillomavirus nella carcinogenesi cutanea e mucosale; Effetto delle radiazioni UV-B sulla produzione di citochine da parte di cheratinociti immortalizzati con Papillomavirus umani; La transizione epiteliale-mesenchimale indotta dalle condizioni culturali è superata da cheratinociti esprimenti le oncoproteine E6 ed E7 di HPV16, ma non di HPV 8 e 38: Caratterizzazione dei profili di trascrizionali globali.

TEMI CORRENTI DI RICERCA. Caratterizzazione di pazienti affetti da Epidermodisplasia Verruciforme L'Epidermodisplasia Verruciforme (EV) è una rara genodermatosi autosomica recessiva associata ad una forte predisposizione all'infezione sostenuta da papillomavirus umani appartenenti al genere beta e caratterizzata da lesioni cutanee polimorfiche, quali macchie simili alla pitiriasi versicolor e papule similverrucose che evolvono frequentemente verso la trasformazione maligna. Sono stati caratterizzati dal punto di vista clinico, virologico, genetico ed immunologico cinque pazienti affetti da EV di origine caucasica. È stata condotta l'analisi genetica per evidenziare la presenza di mutazioni nei geni EVER1 ed EVER2, recentemente identificati come geni responsabili della malattia in diverse famiglie di consanguinei: è stata riscontrata una mutazione non senso a carico del gene EVER2, che causa la produzione di una proteina tronca, in due dei cinque pazienti esaminati. Tutti i pazienti sono stati caratterizzati dal punto di vista virologico. Il DNA, ottenuto da campioni cutanei con e senza lesioni e da bulbi piliferi, è stato sottoposto ad una PCR ad ampio spettro, che amplifica la regione più conservata dell'ORF E1 dei beta-HPV, seguita da un saggio di ibridazione inversa in grado di evidenziare tutti i 25 genotipi dei beta-HPV. L'analisi virologica è stata accompagnata anche dalla valutazione della carica virale mediante PCR-Real Time quantitativa. I risultati hanno dimostrato la presenza di un'infezione multipla, fino a 18 genotipi beta in tutti i siti cutanei esaminati. Inoltre è stata dimostrata una concordanza intrapaziente per tipi specifici tra bulbi piliferi e biopsie cutanee e lo stesso profilo si è mantenuto nel tempo. L'analisi del carico virale ha rivelato valori compresi tra meno di una copia di HPV-DNA ogni 100 cellule fino a 900 copie per cellula sia nei bulbi sopraccigliari che nelle lesioni cutanee proliferative. La valutazione della sieroreattività verso i genotipi beta ha dimostrato la presenza di elevati titoli anticorpali, molto superiore a quella dei controlli non-EV. Sono state inoltre allestite colture organotipiche utilizzando cheratinociti EVER2 null isolati dalla cute non lesionale e peritumorale dei due pazienti con la mutazione nel gene EVER2. Tali cellule epiteliali sono risultate essere capaci di generare un epitelio iperplastico nel quale la replicazione dell'HPV è in grado di riattivarsi nella coltura organotipica ottenuta con i cheratinociti derivati dalla cute perilesionale, ma non dalla cute non lesionale. Le colture organotipiche e le biopsie cutanee di questi due ultimi pazienti sono state inoltre utilizzate per valutare alcuni parametri cellulari e virali. La replicazione vegetativa del DNA virale si è osservata nelle cellule arrestate in G2, sia nelle colture organotipiche che nei tumori cutanei (come peraltro già dimostrato per i genotipi mucosali) a livello dell'epitelio displastico indifferenziato, ma non nell'epitelio normale adiacente, dimostrando un ruolo attivo del virus nel processo di carcinogenesi. Le cellule positive al DNA di HPV presentano inoltre nuclei allargati, ciclina B1 citoplasmatica ed espressione di PCNA.

Relazione funzionale tra infiammazione ed infezione da Papillomavirus nella carcinogenesi cutanea e mucosale. I Papillomavirus umani (HPV) sono dei piccoli virus a DNA a doppia elica circolare in grado di infettare i cheratinociti e di indurre molteplici disordini proliferativi. È noto che l'infezione provocata dagli HPV ad alto rischio è la causa necessaria per l'insorgenza del cancro della cervice uterina. Mentre sono ben noti i meccanismi molecolari coinvolti nell'attività immortalizzante delle oncoproteine E6/E7 dei genotipi ad alto rischio, molto meno conosciuti sono i fattori che determinano la latenza del virus, l'escape del sistema immunitario e lo sviluppo del processo infiammatorio. Il sistema immunitario svolge infatti un ruolo molto importante nel determinare l'andamento clinico dell'infezione virale, come è chiaramente dimostrato dall'elevata incidenza di lesioni HPV-associate nei soggetti immunodeficienti. In questo contesto, il nostro progetto di ricerca è indirizzato allo studio della modulazione del processo infiammatorio da parte delle oncoproteine virali E6/E7 di HPV. Le oncoproteine virali E6/E7 di HPV mucosali (HPV16) e cutanei (HPV 5 e 38) sono state espresse in cheratinociti primari umani, ospiti naturali del virus, mediante l'utilizzo di retrovirus ricombinanti. I risultati ottenuti evidenziano che il genotipo cutaneo HPV 5 induce l'espressione di IL-8, MCP-1, ICAM-1, COX-2 e iNOS; al contrario il genotipo mucosale HPV16 inibisce la produzione di IL-8 e MCP-1 e non altera in modo significativo l'espressione di ICAM-1, COX-2 e iNOS. I risultati ottenuti evidenziano

che le oncoproteine E6 ed E7 di HPV5, ma non di HPV16, aumentano l'espressione di geni proinfiammatori. Nell'insieme questi dati evidenziano una netta differenza nel comportamento biologico in vitro dei genotipi cutanei (HPV5) rispetto ai mucosali (HPV16) confortata in vivo dalla scarsa attività cancerogena dei cutanei rispetto ai mucosali.

Effetto delle radiazioni UV-B sulla produzione di citochine da parte di cheratinociti immortalizzati con Papillomavirus umani. I cheratinociti, in seguito a stimoli esogeni quali i raggi UV-B, producono diverse citochine la cui secrezione risulta alterata in molte patologie cutanee, incluse quelle tumorali. E' stato analizzato l'effetto dei raggi UV-B sulla secrezione di numerose citochine coinvolte nel processo infiammatorio da parte di cheratinociti immortalizzati da Papillomavirus umani (HPV) quali HPV16 e 38. I risultati ottenuti hanno dimostrato che l'espressione delle oncoproteine E6/E7 di HPV influenza non solo il livello basale di secrezione delle citochine, ma anche la modulazione indotta da esposizione a UV-B. In particolare, i raggi UV-B inducono la produzione di interleuchina (IL)-6, IL-8 e del transforming growth factor (TGF)- β nei cheratinociti immortalizzati con HPV rispetto a quelli di controllo. Inoltre l'espressione di altre molecole pro infiammatorie, quali S100A8/A9 e Interferon (IFN)-K, risulta invece diminuita nelle cellule immortalizzate da HPV. I dati ottenuti in questo modello di studio supportano la similarità funzionale tra HPV16 e 38 e suggeriscono un ruolo attivo di questi virus nella modulazione del processo infiammatorio.

La transizione epiteliale-mesenchimale indotta dalle condizioni colturali è superata da cheratinociti esprimenti le oncoproteine E6 ed E7 di HPV16, ma non di HPV 8 e 38: Caratterizzazione dei profili di trascrizionali globali. Lo scopo di questo studio è stato valutare le proprietà proliferative di cheratinociti umani primari esprimenti le oncoproteine E6 ed E7 di HPV appartenenti sia ai genotipi alfa che beta, in differenti condizioni colturali. Abbiamo dimostrato che i cheratinociti, esprimenti E6 ed E7 di HPV8 e 38 (β -HPV), vanno incontro ad un fenomeno di transizione denominato epiteliale-mesenchimale (EMT) irreversibile, quando cresciute su plastica in terreno FAD (F12/DMEM/5%FBS). L'espressione di E6/E7 di HPV16 permette invece il superamento dell'EMT indotta dal FAD. L'immortalizzazione è stata osservata solo nella linea trasdotta con HPV16, mentre il fenotipo più proliferante delle linee con HPV8 e 38 risultava principalmente correlato all'EMT indotto dal FAD. L'analisi con i microarray delle suddette linee cellulari in crescita esponenziale ha permesso di identificare 146 geni cellulari modulati in modo differente nella linea HPV16 rispetto alle cellule trasdotte con HPV8 e 38. Nella linea HPV16 è stato osservato un grande accumulo di trascritti associati allo sviluppo epiteliale ed al differenziamento, mentre nelle linee HPV8 e 38 sono stati riscontrati trascritti di geni coinvolti nella matrice extracellulare, nei processi di organismi pluricellulari e nella risposta infiammatoria.

PUBBLICAZIONI PIÙ RECENTI

Borgogna C, Toniutto P, Smirne C, **Azzimonti B**, Rittà M, Avellini C, Fabris C, Landolfo S, Gariglio M, Pirisi M. *Expression of the interferon-inducible proteins. MxA and IFI16 in liver allografts.* *Histopathology.* 2009 Jun;54(7):837-46.

Azzimonti B, Dell'oste V, Borgogna C, Mondini M, Gugliesi F, De Andrea M, Chiorino G, Scatolini M, Ghimenti C, Landolfo S, Gariglio M. *The epithelial-mesenchymal transition induced by keratinocyte growth conditions is overcome by E6 and E7 from HPV16, but not HPV8 and HPV38: characterization of global transcription profiles.* *Virology.* 2009 Jun 5;388(2):260-9. Epub 2009 Apr 26.

Ciotti M, Marzano V, Giuliani L, Nuccetelli M, D'Aguzzo S, **Azzimonti B**, Bernardini S, Perno CF, Urbani A, Favalli C, Federici G. *Proteomic investigation in A549 lung cell line stably infected by HPV16E6/E7 oncogenes.* *Respiration.* 2009;77(4):427-39. Epub 2008 Nov 20.

Dell'Oste V, **Azzimonti B**, De Andrea M, Mondini M, Zavattaro E, Leigheb G, Weissenborn SJ, Pfister H, Michael KM, Waterboer T, Pawlita M, Amantea A, Landolfo S, Gariglio M. *High beta-HPV DNA loads and strong seroreactivity are present in epidermodysplasia verruciformis.* *J Invest Dermatol.* 2009 Apr;129(4):1026-34. Epub 2008 Oct 16.

Dell'oste V, **Azzimonti B**, Mondini M, De Andrea M, Borgogna C, Mesturini R, Accardi R, Tommasino M, Landolfo S, Dianzani U, Gariglio M. *Altered expression of UVB-induced cytokines in human papillomavirus-immortalized epithelial cells.* *J Gen Virol.* 2008 Oct;89(Pt 10):2461-6.

Zavattaro E, **Azzimonti B**, Mondini M, De Andrea M, Borgogna C, Dell'Oste V, Ferretti M, Nicola S, Cappellano G, Carando A, Leigheb G, Landolfo S, Dianzani U, Gariglio M. *Identification of defective Fas function and variation of the perforin gene in an epidermodysplasia verruciformis patient lacking EVER1 and EVER2 mutations.* *J Invest Dermatol.* 2008 Mar;128(3):732-5. Epub 2007 Oct 25.

Mazibrada J, Rittà M, Mondini M, De Andrea M, **Azzimonti B**, Borgogna C, Ciotti M, Orlando A, Surico N, Chiusa L, Landolfo S, Gariglio M. *Interaction between inflammation and angiogenesis during different stages of cervical carcinogenesis.* *Gynecol Oncol.* 2008 Jan;108(1):112-20. Epub 2007 Oct 23.

De Andrea M, Gioia D, Mondini M, **Azzimonti B**, Renò F, Pecorari G, Landolfo V, Tommasino M, Accardi R, Herold-Mende C, Landolfo S, Gariglio M. *Effects of IFI16 overexpression on the growth and doxorubicin sensitivity of head and neck squamous cell carcinoma-derived cell lines.* *Head Neck.* 2007 Sep;29(9):835-44.

Mondini M, Vidali M, De Andrea M, **Azzimonti B**, Airò P, D'Ambrosio R, Riboldi P, Meroni PL, Albano E, Shoenfeld Y, Gariglio M, Landolfo S. *A novel autoantigen to differentiate limited cutaneous systemic sclerosis from diffuse cutaneous systemic sclerosis: the interferon-inducible gene IFI16.* *Arthritis Rheum.* 2006 Dec;54(12):3939-44.

De Andrea M, Mondini M, **Azzimonti B**, Dell'Oste V, Germano S, Gaudino G, Musso T, Landolfo S, Gariglio M. *Alpha- and betapapillomavirus E6/E7 genes differentially modulate pro-inflammatory gene expression.* *Virus Res.* 2007 Mar;124(1-2):220-5. Epub 2006 Oct 31.

Lembo D, Donalisio M, Cornaglia M, **Azzimonti B**, Demurtas A, Landolfo S. *Effect of high-risk human papillomavirus oncoproteins on p53R2 gene expression after DNA damage.* *Virus Res.* 2006 Dec;122(1-2):189-93. Epub 2006 Jul 25.

Azzimonti B, Mondini M, De Andrea M, Gioia D, Dianzani U, Mesturini R, Leigheb G, Tiberio R, Landolfo S, Gariglio M. *CD8+ T-cell lymphocytopenia and lack of EVER mutations in a patient with clinically and virologically typical epidermodysplasia verruciformis.* *Arch Dermatol.* 2005 Oct;141(10):1323-5.

Azzimonti B, Pagano M, Mondini M, De Andrea M, Valente G, Monga G, Tommasino M, Aluffi P, Landolfo S, Gariglio M. *Altered patterns of the interferon-inducible gene IFI16 expression in head and neck squamous cell carcinoma: immunohistochemical study including correlation with retinoblastoma protein, human papillomavirus infection and proliferation index.* *Histopathology.* 2004 Dec;45(6):560-72.

De Andrea M, Zannetti C, Noris E, Gariglio M, **Azzimonti B**, Landolfo S. *The mouse interferon-inducible gene Ifi204 product interacts with the Tpr protein, a component of the nuclear pore complex.* J Interferon Cytokine Res. 2002 Nov;22(11):1113-21.

Gariglio M, **Azzimonti B**, Pagano M, Palestro G, De Andrea M, Valente G, Voglino G, Navino L, Landolfo S. *Immunohistochemical expression analysis of the human interferon-inducible gene IFI16, a member of the HIN200 family, not restricted to hematopoietic cells.* J Interferon Cytokine Res. 2002 Jul;22(7):815-21.

De Andrea M, Ravotto M, Noris E, Ying GG, Gioia D, **Azzimonti B**, Gariglio M, Landolfo S. *The interferon-inducible gene, Ifi204, acquires malignant transformation capability upon mutation at the Rb-binding sites.* FEBS Lett. 2002 Mar 27;515(1-3):51-7.

Hertel L, Rolle S, De Andrea M, **Azzimonti B**, Osello R, Gribaudo G, Gariglio M, Landolfo S. *The retinoblastoma protein is an essential mediator that links the interferon-inducible 204 gene to cell-cycle regulation.* Oncogene. 2000 Jul 27;19(32):3598-608.

Hertel L, De Andrea M, **Azzimonti B**, Rolle A, Gariglio M, Landolfo S. *The interferon-inducible 204 gene, a member of the Ifi 200 family, is not involved in the antiviral state induction by IFN-alpha, but is required by the mouse cytomegalovirus for its replication.* Virology. 1999 Sep 15;262(1):1-8.

Azzimonti B, Hertel L, Aluffi P, Pia F, Monga G, Zocchi M, Landolfo S, Gariglio M. *Demonstration of multiple HPV types in laryngeal premalignant lesions using polymerase chain reaction and immunohistochemistry.* J Med Virol. 1999 Sep;59(1):110-6.

Cairo G, Tacchini L, Recalcati S, **Azzimonti B**, Minotti G, Bernelli-Zazzera A. *Effect of reactive oxygen species on iron regulatory protein activity.* Ann N Y Acad Sci. 1998 Jun 30;851:179-86.

Orario di Ricevimento

Lunedì (previo appuntamento via e-mail), h 9.30-11.30

Laboratorio di Microbiologia e Virologia Molecolare (I piano, dopo l'aula magna)

Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale

Università del Piemonte Orientale "A. Avogadro"

Via Solaroli, 17- 28100 NOVARA