



La Cell Factory dell'IRCCS Centro di Riferimento Oncologico, Aviano

Presso l'IRCCS CRO, Aviano, un percorso innovativo per l'utilizzo delle cellule staminali emopoietiche (CSE) a scopo trapianto di midollo come supporto alle chemioterapie ad alte dosi è iniziato nella prima metà degli anni novanta.

Pochi anni dopo, nel 2000, è stato eseguito il primo trapianto di CSE in un paziente con sarcoma di Ewing, mentre nel 2002 sono stati trattati i primi soggetti affetti da HIV/AIDS e neoplasie correlate.

Come per tutti gli altri centri italiani ed esteri, questo è stato il momento d'inizio che ha gettato le basi per iniziare ad acquisire il know-how necessario per arrivare alle terapie cellulari vere e proprie.

Un breve excursus storico:

A partire dalla Direttiva Europea 20/2001, si iniziò a parlare di una serie di attività collaterali agli studi clinici che richiedeva che il prodotto di medicina sperimentale fosse della stessa qualità di quello messo in commercio.

Ciò implicava che i prodotti medicinali venissero fabbricati in un'officina farmaceutica autorizzata dalle autorità competenti dello Stato, la cosiddetta "Cell Factory".

E' del 2004 la prima concreta azione per la costituzione di una "Cell Factory CRO", con il coinvolgimento del costituendo Centro di Biomedicina Molecolare (CBM) della Regione FVG.

La "Cell Factory CRO" era vista come condizione essenziale per poter proseguire con i programmi di trapiantologia midollare e terapia cellulare sottolineati nel Piano Aziendale 2004, e per mettere a disposizione una esperienza scientifica ed operativa utile per lo sviluppo di piani futuri riguardanti l'utilizzo di cellule staminali, altre tipologie cellulari nell'immunoterapia e della terapia cellulare dei tumori in genere. In quegli anni, erano soprattutto quattro le unità operative impegnate in questa progettualità: Una Unità Clinica per l'applicazione dei protocolli, "Terapia cellulare e chemioterapia ad alte dosi": la Unità di Medicina Trasfusionale (l'attuale "Unità Trattamento Cellule Staminali per Terapie Cellulari) e due Unità di Ricerca Sperimentale, una definita "Bioimmunoterapia dei Tumori", l'altra "Immunovirologia e Bioterapie".

I principali programmi di ricerca riguardavano l'espansione delle CSE, l'ottenimento ed espansione di linfociti T citotossici specifici per antigeni di EBV utilizzando cellule dendritiche autologhe pulsate con proteine ricombinanti o peptidi virali e rivolti a pazienti affetti da neoplasie EBV- correlate, cellule dendritiche per la terapia del melanoma.

Con queste potenzialità, il CRO-IRCCS Aviano si è presentato alla iniziativa formulata dall'Istituto Superiore di Sanità e da Alleanza Contro il Cancro che dal 2004 al 2006 (DM 21 luglio 2006), facendo seguito ad una iniziativa del Ministero della Salute, promosse la costituzione di una rete di "Cell Factories" che si facesse carico, in prima istanza, dell'individuazione delle finalità, dell'organizzazione e dell'addestramento del personale. Da quella esperienza nacque il NIBIT, il Network Italiano per la BioTerapia dei Tumori di cui il CRO-IRCCS fece parte, con la finalità di promuovere ed incrementare a livello nazionale lo sviluppo clinico di nuove e più efficaci strategie di bioterapia delle neoplasie maligne.

In seguito, con il Regolamento Ue 1394/2007, venne confermata a livello Europeo una classificazione in base alla quale le cellule manipolate intensivamente, le terapie geniche, le immunoterapie per i tumori, la costruzione di pelle artificiale e di ossa, in quanto prodotti di ingegneria tissutale erano da considerarsi alla stessa stregua dei prodotti medicinali e come tali prodotti e distribuiti da officine certificate (cioè, le Cell Factories). Nel 2007 il CRO-IRCCS Aviano si dotò, primo in regione FVG di una "Clean Room" per "manipolazioni cellulari minime", con ambienti a contaminazione controllata classi A,C,D.

Nel 2009, a norma del DM 5 dicembre 2006 (Decreto Turco), abbiamo eseguito con successo due interventi in via "compassionevole" di rigenerazione ossea, uno per una pseudoartrosi femorale post traumatica e uno per una frattura di tibia e perone in soggetto con osteogenesi imperfetta, con l'uso di cellule mesenchimali autologhe associate a fattori di crescita intrapiastrinici. Il protocollo è stato inviato per l'approvazione al CNT. In seguito, visto le critiche al DM e al caso "stamina", abbiamo abbandonato la procedura in attesa della costruzione di un'area autorizzata per manipolazioni in Good Manufacturing Practice (GMP).



Nel Programma Annuale 2011 dell'IRCCS CRO, approvato con deliberazione n.240 in data 30.12.2010, era previsto fra gli obiettivi di "Sviluppo Eccellenza Scientifica" l'acquisizione di nuove tecnologie per le camere bianche "Cell factory", mentre, nel Programma Annuale 2013, approvato con deliberazione n.210 in data 28.12.2012, era previsto, tra le Linee di attività dell'Area Clinico Assistenziale, lo sviluppo di un rapporto di collaborazione con l'Azienda Ospedaliera San Gerardo di Monza al fine di migliorare il know-how del CRO finalizzato alla realizzazione della GMP "camere bianche" ed all'avvio di terapie cellulari in attesa di poter disporre di una GMP autorizzata nella sede del CRO.

Con Deliberazione Del Direttore Generale n° 111 del 21.06.2013 viene stipulata la convenzione con Azienda Ospedaliera San Gerardo di Monza per collaborazione interaziendale per lo sviluppo di ricerca e di trasferimento clinico nel campo delle terapie avanzate, in seguito rinnovato fino al 31.12.2015.

La convenzione ha permesso di acquisire una Qualified Person di nomina AIFA, un Responsabile Assicurazione Qualità, un responsabile qualità, un Responsabile alla produzione e un tecnico alla produzione. Inoltre è stato allestito ed approvato il Layout della struttura GMP e gli User Requirements.

Il 24 novembre 2014 fu inviata alla Direzione Centrale della Salute Regione FVG la richiesta per la realizzazione presso il CRO di una Cell Factory per la produzione di prodotti medicinali per terapie avanzate (ATMP) per l'applicazione sperimentazione clinica in ambito oncologico.

Il 19.02.2015 la Direzione Centrale della Salute Regione FVG richiese la riformulazione della richiesta nell'ambito della strategia regionale per la costruzione di una Cell Factory Regionale come previsto dalle "linee per la gestione del Servizio Sanitario Regionale per il 2015".

Con Delibera della giunta Regionale FVG n. 2673 del 30 dicembre 2014 si determinano le funzioni:

- a) L'istituto assicura la banca delle cellule staminali (prelievo, raccolta, stoccaggio e consegna)
- b) L'istituto è sede di sperimentazione per terapie cellulari avanzate.

Con delibera della Giunta Regionale n. 736 del 21 aprile 2017 programmazione annuale 2017 del servizio Sanitario Regionale viene conferito al CRO il compito di coordinamento, predisposizione del documento congiunto e definizione del cronogramma per l'avvio della Cell Factory Regionale.

La presentazione del documento operativo alla Direzione Centrale Salute è fissato entro il 31.12.2017.

Con Deliberazione Del Direttore Generale N° 403 DEL 16/11/2017 viene approvato il Piano Strategico 2016-2018 contenente il progetto "Sviluppare progetti trasversali di terapie cellulari".

Il 28 novembre 2017 viene inviato alla Direzione Centrale della Salute documentazione, condivisa tra tutti i Direttori Generali degli Enti del Servizio Sanitario della Regione FVG, relativa al crono programma, layout, user requirements, organigramma, analisi del contesto e SWOT Analysis e copertura finanziaria per la costruzione della Cell Factory Regionale con sede al CRO.

Dicembre 2017 Accordo tra CRO-IRCCS Aviano e l'IRST-IRCCS di Meldola per cooperare nell'ambito delle terapie cellulari avanzate sia nell'ambito laboratoristico che nella sperimentazione clinica.

Attualmente, oltre all'acquisizione di programmi clinico-sperimentali provenienti da altri Enti o Industrie (Accordo con l'IRST di Meldola per terapia del cancro del colon e rene metastatico, melanoma, protocollo internazionale SOTIO per la cura del tumore metastatico della prostata) abbiamo in corso un progetto clinico sperimentale di medicina rigenerativa (in via di approvazione dal CNT) per la ricostruzione mammaria dopo mastectomia radicale, un progetto per l'utilizzo di cellule mesenchimali autologhe come carrier per l'uso di nano farmaci e terapia genica, un progetto di immunogenomica per il cancro della mammella e il mieloma multiplo in collaborazione con il Moore Cancer Center dell'Università di California San Diego.

E' in via di definizione con l'Università di Udine un accordo per la validazione/autorizzazione di un bioreattore di grado clinico per la proliferazione cellulare.



Lo strumento per il cui acquisto viene richiesto un contributo alla “Fondazione CRO” è il **Nucleocounter NC 3000 della ditta Chemometec**, che consente di effettuare analisi di controllo qualità su prodotti di Terapia Cellulare e Genica.

Tale strumentazione è approvata e validata per l'utilizzo in condizioni di **Good Manufacturing Practice** (GMP/Cell Factory) e permette di valutare in modo rapido, affidabile, automatizzato e standardizzato la concentrazione e la vitalità cellulare nel prodotto cellulare finale o intermedio (ATMP: prodotti medicinali per terapie avanzate). Il metodo analitico è basato sull'analisi d'immagine integrata ed automatizzata, mediante l'utilizzo di marcatori fluorescenti che permettono di discriminare tra cellule vive e cellule morte.

L'intento è che l'acquisizione di tale strumento vada a sostituire la metodica microscopica manuale, complessa, più lenta e soggetta a notevole variabilità intra-operatore oggi in uso. Inoltre, lo strumento NC-3000 consentirà di eseguire anche la valutazione dello stato del ciclo cellulare in campioni di cellule espanse in vitro a scopo di terapia cellulare somatica e genica.

In aggiunta, l'NC-3000 permetterà di valutare lo stato apoptotico della cellula misurando: espressione di Annexina V, caspasi 3/7, caspasi 8 o caspasi 9, livello di frammentazione del DNA, valutazione del potenziale mitocondriale.

Tali parametri, saggiabili con rapidità e affidabilità, sono molto importanti per determinare la qualità del prodotto raccolto in termini di potenziale proliferativo e differenziativo.

La strumentazione, una volta acquisita, consentirà anche di valutare l'efficienza di trasfezione per l'ingegnerizzazione cellulare una applicazione che risulta particolarmente utile in ambito di protocolli clinici di Terapia Genica.

Aviano, 03/05/2018

Il presente testo è stato redatto dal:

Dr. Mario Mazzucato Responsabile
SOSd Trattamento Cellule staminali per Terapie Cellulari
CRO-IRCCS Aviano
Via F. Gallini n.2
33081 Aviano (PN)
0434 659689
mmazzucato@cro.it