



**Fondazione per la Ricerca
sulla Fibrosi Cistica - ETS**
fibrosicisticaricerca.it

AREA 1

**Terapie e approcci innovativi per correggere
il difetto di base, genetica**



Progetto FFC#11/2021

**Studio dei bersagli alternativi per compensare la
mancata funzione della proteina-canale CFTR**



Chi ha condotto la ricerca:

Responsabile: Paolo Scudieri
(Dipartimento di neuroscienze,
riabilitazione, oftalmologia, genetica e
scienze materno-infantili - DINOGMI,
Università degli Studi di Genova)



Partner: Fabiana Ciciriello

(IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino Gesù,
Roma)



Ricercatori coinvolti: 5



Qual è la durata dello studio: 2 anni

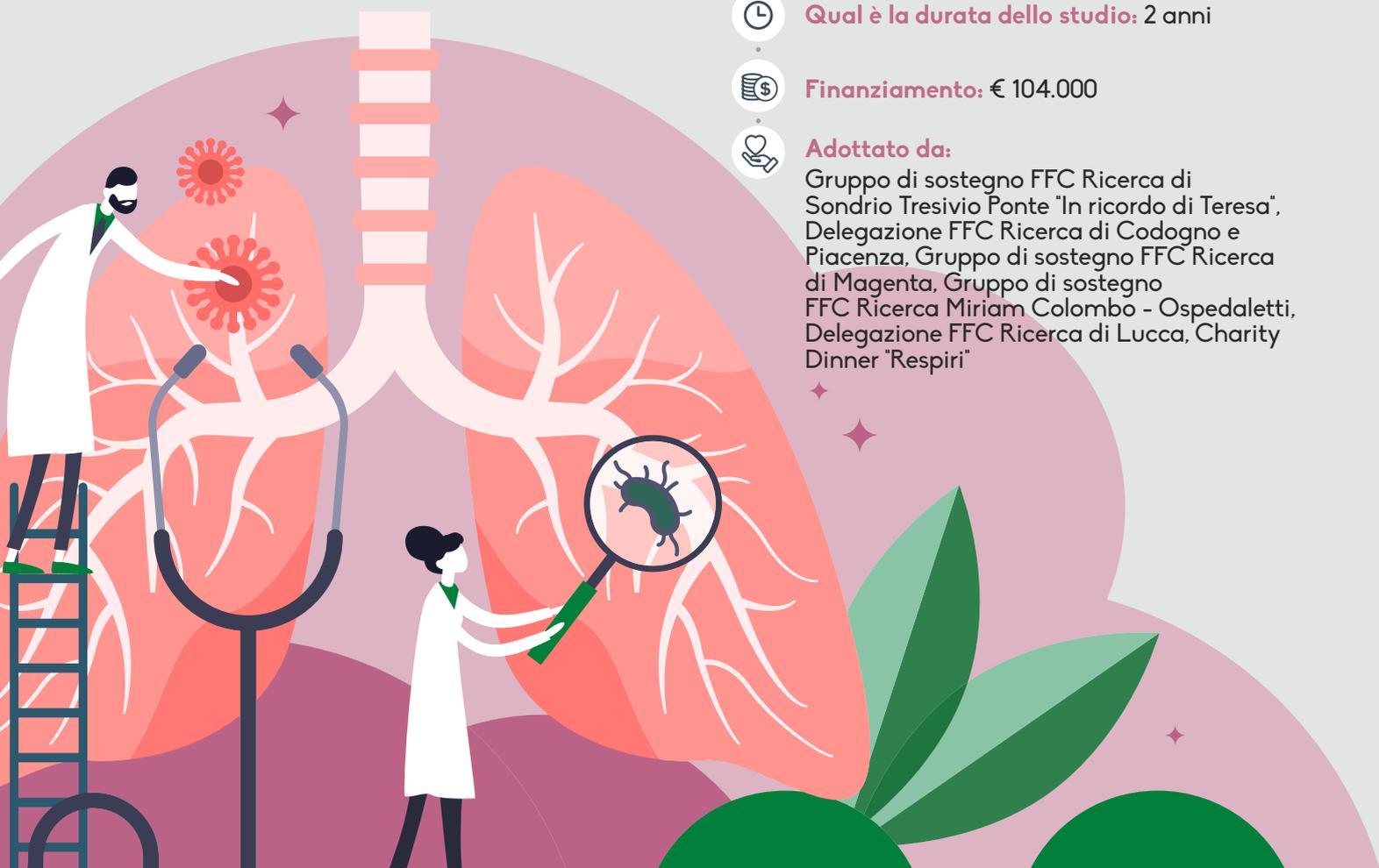


Finanziamento: € 104.000



Adottato da:

Gruppo di sostegno FFC Ricerca di
Sondrio Tresivio Ponte "In ricordo di Teresa",
Delegazione FFC Ricerca di Codogno e
Piacenza, Gruppo di sostegno FFC Ricerca
di Magenta, Gruppo di sostegno
FFC Ricerca Miriam Colombo - Ospedaletti,
Delegazione FFC Ricerca di Lucca, Charity
Dinner "Respiri"





Perché è importante

Il trattamento della fibrosi cistica (FC) si può basare su farmaci che agiscono direttamente sulla proteina CFTR mutata o, in alternativa, si potrebbe basare sulla modulazione di bersagli diversi dalla proteina CFTR, al fine di aumentare la fuoriuscita di ioni dalla cellula o inibire l'eccessiva acidificazione che si osserva nelle vie aeree delle persone con FC. Il ruolo preciso di potenziali bersagli alternativi, come le proteine TMEM16A, SLC26A9, SLC26A4 e ATP12A, è tuttora poco conosciuto o controverso.



Che cosa hanno usato i ricercatori

Sono state usate cellule epiteliali delle vie aeree ottenute da persone con fibrosi cistica (modelli *ex vivo*), di varie età, genotipi e condizioni cliniche e da persone non FC (controlli sani) mediante procedure minimamente invasive (spazzolamento della mucosa delle cavità nasali).



Che cosa hanno fatto i ricercatori

Le cellule sono state studiate *in vitro* per testare l'effetto del potenziamento o dell'inibizione dei bersagli alternativi sulle caratteristiche della FC.

Sono stati caratterizzati in dettaglio i livelli di attività dei geni che portano alla produzione di TMEM16A, SLC26A9, SLC26A4 e ATP12A e la localizzazione dell'mRNA di questi bersagli nelle cellule presenti in diverse regioni delle vie aeree *ex vivo* e *in vitro*.

È stato poi valutato il contributo dei bersagli alternativi alla regolazione delle proprietà del fluido che riveste l'epitelio respiratorio.



Che cosa hanno ottenuto

I geni che codificano per ATP12A e SLC26A4 sono risultati i più espressi (cioè con livelli più alti), soprattutto in condizioni infiammatorie; spesso nelle cellule che producono il muco sono espressi entrambi. I geni che codificano per TMEM16A e SLC26A9 sono risultati invece meno espressi, con il secondo che mostra una peculiare localizzazione limitata alle cellule polmonari neuroendocrine.

Si è visto che ATP12A ha un ruolo primario nella regolazione delle proprietà del fluido che riveste l'epitelio respiratorio, e che la sua inibizione porta effetti benefici sulle proprietà epiteliali.



Che cosa succederà ora

Il progetto ha individuato ATP12A come bersaglio alternativo più promettente per lo sviluppo di nuovi approcci terapeutici per la FC. I modelli cellulari generati potranno essere usati per la ricerca di nuovi farmaci in grado di inibire la funzione o ridurre l'espressione di ATP12A.

Per saperne di più



Obiettivi

Studiare bersagli alternativi a CFTR in cellule delle vie aeree isolate da persone con FC e da persone non FC

Questo progetto è focalizzato sullo studio e la modulazione di bersagli alternativi a CFTR. Attraverso vari approcci tecnologici (saggi di immunofluorescenza e microscopia confocale), i ricercatori si prefiggono di valutare l'espressione e la funzione di bersagli alternativi nelle vie aeree, in modo da poter sviluppare degli approcci terapeutici mirati. Il progetto prevede l'utilizzo di cellule epiteliali delle vie aeree ottenute da persone con fibrosi cistica (FC), di varie età, genotipi e condizioni cliniche e da persone non FC (controlli sani) mediante procedure minimamente invasive (spazzolamento della mucosa delle cavità nasali). Mediante studi *in vitro* sarà inoltre testato l'effetto del potenziamento o dell'inibizione di questi bersagli sul fenotipo FC. Infine i ricercatori propongono di sviluppare strumenti e saggi per la ricerca di nuovi modulatori farmacologici.



Risultati

ATP12A è emerso come bersaglio alternativo più promettente per lo sviluppo di nuovi approcci terapeutici per la FC

Il trattamento della fibrosi cistica (FC) si può basare su farmaci che agiscono direttamente sulla proteina CFTR mutata, con lo scopo di ripristinarne la corretta funzione.

Un approccio alternativo si potrebbe basare sulla modulazione di bersagli diversi dalla proteina CFTR, al fine di aumentare la fuoriuscita di ioni dalla cellula o inibire l'eccessiva acidificazione che si osserva nelle vie aeree delle persone con FC.

Nonostante l'elevato interesse nello sviluppo di nuove strategie terapeutiche rivolte a tutte le persone con FC, il ruolo preciso di potenziali bersagli alternativi, come le proteine TMEM16A, SLC26A9, SLC26A4 e ATP12A, è tuttora poco conosciuto o controverso. Inoltre, modulatori farmacologici specifici per questi bersagli non sono ancora stati sviluppati. Pertanto, l'obiettivo principale di questo progetto era lo studio dell'espressione e della funzione nelle vie aeree di potenziali bersagli alternativi, in modo da selezionare quelli più promettenti e iniziare lo sviluppo di approcci terapeutici mirati.

Per lo studio sono state usate cellule epiteliali delle vie aeree ottenute da persone con fibrosi cistica (modelli *ex vivo*), di varie età, genotipi e condizioni cliniche e da persone non FC (controlli sani) mediante procedure minimamente invasive (spazzolamento della mucosa delle cavità nasali) e sono state applicate metodiche di *imaging* per studi di espressione genica e funzione su diversi tipi di campioni rappresentativi delle vie aeree.

Sono stati caratterizzati in dettaglio i profili di espressione e la localizzazione cellula-specifica di TMEM16A, SLC26A9, SLC26A4 e ATP12A nelle diverse regioni delle vie aeree *ex vivo* e *in vitro*. I geni che codificano per ATP12A e SLC26A4 sono risultati i più espressi, soprattutto in condizioni infiammatorie, e spesso hanno mostrato co-espressione in cellule secretorie. I geni che codificano per TMEM16A e SLC26A9 sono risultati, invece, meno espressi, con il secondo che mostra una peculiare localizzazione limitata alle cellule polmonari neuroendocrine. È stato poi valutato il contributo dei bersagli alternativi alla regolazione delle proprietà del fluido che rive-

Per saperne di più



ste l'epitelio respiratorio. Questi studi hanno identificato un ruolo primario per la pompa protonica ATP12A, la cui inibizione ha prodotto effetti benefici sulle proprietà epiteliali. In conclusione, il progetto ha individuato ATP12A come bersaglio alternativo più promettente per lo sviluppo di nuovi approcci terapeutici per la FC. Inoltre, sono stati sviluppati dei modelli da usare per la ricerca di nuovi farmaci in grado di inibire la funzione o ridurre l'espressione di ATP12A.

Pubblicazioni



Generation of an induced pluripotent stem cell line (IGGi002A) from nasal cells of a cystic fibrosis patient homozygous for the G542X-CFTR mutation
Stem cell research, 2023

Stem Cell Research 72 (2023) 103232



ELSEVIER

Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Stem Cell Research

journal homepage: www.elsevier.com/locate/scr



Generation of an induced pluripotent stem cell line (IGGi002A) from nasal cells of a cystic fibrosis patient homozygous for the G542X-CFTR mutation



Michał Dębczyński^a, Damian Mojsak^a, Serena Tamburro^b, Simona Baldassari^c, Iliaria Musante^c, Rosaria Casciaro^d, Fabiana Ciciriello^e, Federico Zara^{b,c}, Paolo Scudieri^{b,c,*}, Giulia Gorrieri^b

^a Department of Lung Diseases and Tuberculosis, Medical University of Białystok, Białystok, Poland

^b Department of Neurosciences, Rehabilitation, Ophthalmology, Genetics, Maternal and Child Health (DINO GMI), University of Genoa, Italy

^c Unit of Medical Genetics, IRCCS Istituto Giannina Gaslini, Genova, Italy

^d Cystic Fibrosis Centre, IRCCS Istituto Giannina Gaslini, Genova, Italy

^e Cystic Fibrosis Unit, Department of Pediatric Subspecialties, Bambino Gesù Children's Hospital, IRCCS-Rome, Italy

Funding

This work was supported by Vertex Cystic Fibrosis Research Innovation Award and by the Italian Cystic Fibrosis Foundation grant number FFC#11/2021 (with the contribution of "Charity Dinner Respiri", "Gruppo di sostegno FFC Ricerca di Sondrio Tresivio Ponte In ricordo di Teresa", "Delegazione FFC Ricerca di Lucca", "Gruppo di sostegno FFC Ricerca Miriam Colombo Ospedaletti", "Gruppo di sostegno FFC Ricerca di Magenta", "Delegazione FFC Ricerca di Codogno e Piacenza") to P.S. Work in P.S. lab is also supported by the Italian Ministry of Health through Cinque per mille and Ricerca Corrente. This work was developed within the framework of the DINO GMI Department of Excellence of MIUR 2018–2022.

Publicazioni



SLC26A9 as a Potential Modifier and Therapeutic Target in Cystic Fibrosis Lung Disease

Biomolecules, 2022



biomolecules



Review

SLC26A9 as a Potential Modifier and Therapeutic Target in Cystic Fibrosis Lung Disease

Giulia Gorrieri ^{1,2}, Federico Zara ^{1,2} and Paolo Scudieri ^{1,2,*}

¹ Department of Neurosciences, Rehabilitation, Ophthalmology, Genetics, Maternal and Child Health (DINO/GMI), University of Genoa, 16132 Genoa, Italy; giulia.gorrieri@edu.unige.it (G.G.); federico.zara@unige.it (F.Z.)

² Medical Genetics Unit, IRCCS Giannina Gaslini Institute, 16147 Genoa, Italy

* Correspondence: paoloscudieri@unige.it; Tel: +39-01056362606

Abstract: SLC26A9 belongs to the solute carrier family 26 (SLC26), which comprises membrane proteins involved in ion transport mechanisms. On the basis of different preliminary findings, including the phenotype of SLC26A9-deficient mice and its possible role as a gene modifier of the human phenotype and treatment response, SLC26A9 has emerged as one of the most interesting alternative targets for the treatment of cystic fibrosis (CF). However, despite relevant clues, some open issues and controversies remain. The lack of specific pharmacological modulators, the elusive expression reported in the airways, and its complex relationships with CFTR and the CF phenotype prevent us from conclusively understanding the contribution of SLC26A9 in human lung physiology and its real potential as a therapeutic target in CF. In this review, we summarized the various studies dealing with SLC26A9 expression, molecular structure, and function as an anion channel or transporter; its interaction and functional relationships with CFTR; and its role as a gene modifier and tried to reconcile them in order to highlight the current understanding and the gap in knowledge regarding the contribution of SLC26A9 to human lung physiology and CF disease and treatment.



Citation: Gorrieri, G.; Zara, F.; Scudieri, P. SLC26A9 as a Potential Modifier and Therapeutic Target in

Keywords: SLC26A9; cystic fibrosis; gene modifiers; anion transport; lung physiology; airway epithelium

Author Contributions: Literature review and writing—original draft preparation, G.G. and P.S.; writing—review and editing, F.Z.; funding acquisition, P.S. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by “CYSTIC FIBROSIS VERTEX INNOVATION AWARD”, and “ITALIAN CF FOUNDATION grant number FFC#11/2021”. This work was developed within the framework of the DINO/GMI Department of Excellence of MIUR 2018–2022.

Publicazioni



ATP12A Proton Pump as an Emerging Therapeutic Target in Cystic Fibrosis and Other Respiratory Diseases

Biomolecules, 2023



Review

ATP12A Proton Pump as an Emerging Therapeutic Target in Cystic Fibrosis and Other Respiratory Diseases

Michał Dębczyński ^{1,†}, Giulia Gorrieri ^{2,†}, Damian Mojsak ^{1,†}, Floriana Guida ², Federico Zara ^{2,3} and Paolo Scudieri ^{2,3,*}

¹ 2nd Department of Lung Diseases and Tuberculosis, Medical University of Białystok, 15-540 Białystok, Poland; michal.debczyński@gmail.com (M.D.); damian.mojsak@gmail.com (D.M.)

² Department of Neurosciences, Rehabilitation, Ophthalmology, Genetics, Maternal and Child Health (DINO GMI), University of Genoa, 16132 Genoa, Italy; giulia.gorrieri@edu.unige.it (G.G.); floriana.guida@edu.unige.it (F.G.); federico.zara@unige.it (F.Z.)

³ Unit of Medical Genetics, IRCCS Istituto Giannina Gaslini, 16147 Genoa, Italy

* Correspondence: paolo.scudieri@unige.it

[†] These authors contributed equally to this work.

Abstract: ATP12A encodes the catalytic subunit of the non-gastric proton pump, which is expressed in many epithelial tissues and mediates the secretion of protons in exchange for potassium ions. In the airways, ATP12A-dependent proton secretion contributes to complex mechanisms regulating the composition and properties of the fluid and mucus lining the respiratory epithelia, which are essential to maintain the airway host defense and the respiratory health. Increased expression and activity of ATP12A in combination with the loss of other balancing activities, such as the bicarbonate secretion mediated by CFTR, leads to excessive acidification of the airway surface liquid and mucus dysfunction, processes that play relevant roles in the pathogenesis of cystic fibrosis and other chronic inflammatory respiratory disorders. In this review, we summarize the findings dealing with ATP12A expression, function, and modulation in the airways, which led to the consideration of ATP12A as a potential therapeutic target for the treatment of cystic fibrosis and other airway diseases; we also highlight the current advances and gaps regarding the development of therapeutic strategies aimed at ATP12A inhibition.

Keywords: ATP12A; modifier genes; airway acidification; cystic fibrosis; ASL; proton transport; respiratory diseases



Citation: Dębczyński, M.; Gorrieri, G.; Mojsak, D.; Guida, F.; Zara, F.; Scudieri, P. ATP12A Proton Pump as an Emerging Therapeutic

Funding: This work was supported by the Vertex Cystic Fibrosis Research Innovation Award and by the Italian Cystic Fibrosis Foundation grant number FFC#11/2021 (with the contribution of “Charity Dinner Respiri”, “Gruppo di sostegno FFC Ricerca di Sondrio Tresivio Ponte In ricordo di Teresa”, “Delegazione FFC Ricerca di Lucca”, “Gruppo di sostegno FFC Ricerca Miriam Colombo-Ospedaletti”, “Gruppo di sostegno FFC Ricerca di Magenta”, “Delegazione FFC Ricerca di Codogno e Piacenza”) to P.S. Work in P.S.’s lab is also supported by the Italian Ministry of Health through Cinque per mille and Ricerca Corrente. This work was developed within the framework of the DINO GMI Department of Excellence of MIUR 2018–2022.



Abstract presentati a congressi scientifici



SLC26A9 and ATP12A as potential therapeutic targets for cystic fibrosis

18th ECFS Basic Science Conference, Dubrovnik, Croatia, 29 March - 01 April 2023

Alternative targets for the treatment of cystic fibrosis basic defect

46th European Cystic Fibrosis Conference, Vienna, Austria, 7-10 June 2023

Rendiconto economico



AREA 1

Terapie e approcci innovativi per correggere il difetto di base, genetica

Progetto FFC#11/2021

Studio dei bersagli alternativi per compensare la mancata funzione della proteina-canale CFTR



Responsabile:

Paolo Scudieri

(Dipartimento di neuroscienze, riabilitazione, oftalmologia, genetica e scienze
materno-infantili - DINOEMI, Università degli Studi di Genova)



Periodo:

01/09/2021-30/11/2023



Grant assegnato:

€ 104.000



Usato per:

- Materiale di consumo € 67.861
- Spese viaggio/convegni € 3.979
- Borse di studio € 26.000
- Servizi scientifici € 4.000
- Spedizioni € 2.000

€ 103.840



Saldo (usato per altri progetti):

€ 160