



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

AREA 2

Terapie personalizzate



Progetto FFC#8/2021

Therotyping della fibrosi cistica



Chi ha condotto la ricerca:

Responsabile: **Marco Lucarelli**
(Dipartimento di Medicina Sperimentale,
Sapienza Università di Roma)



Partner: **Adriana Eramo** (Dipartimento di
Oncologia e Medicina Molecolare, Istituto
Superiore di Sanità)



Ricercatori coinvolti: 16



Qual è la durata dello studio: 2 anni

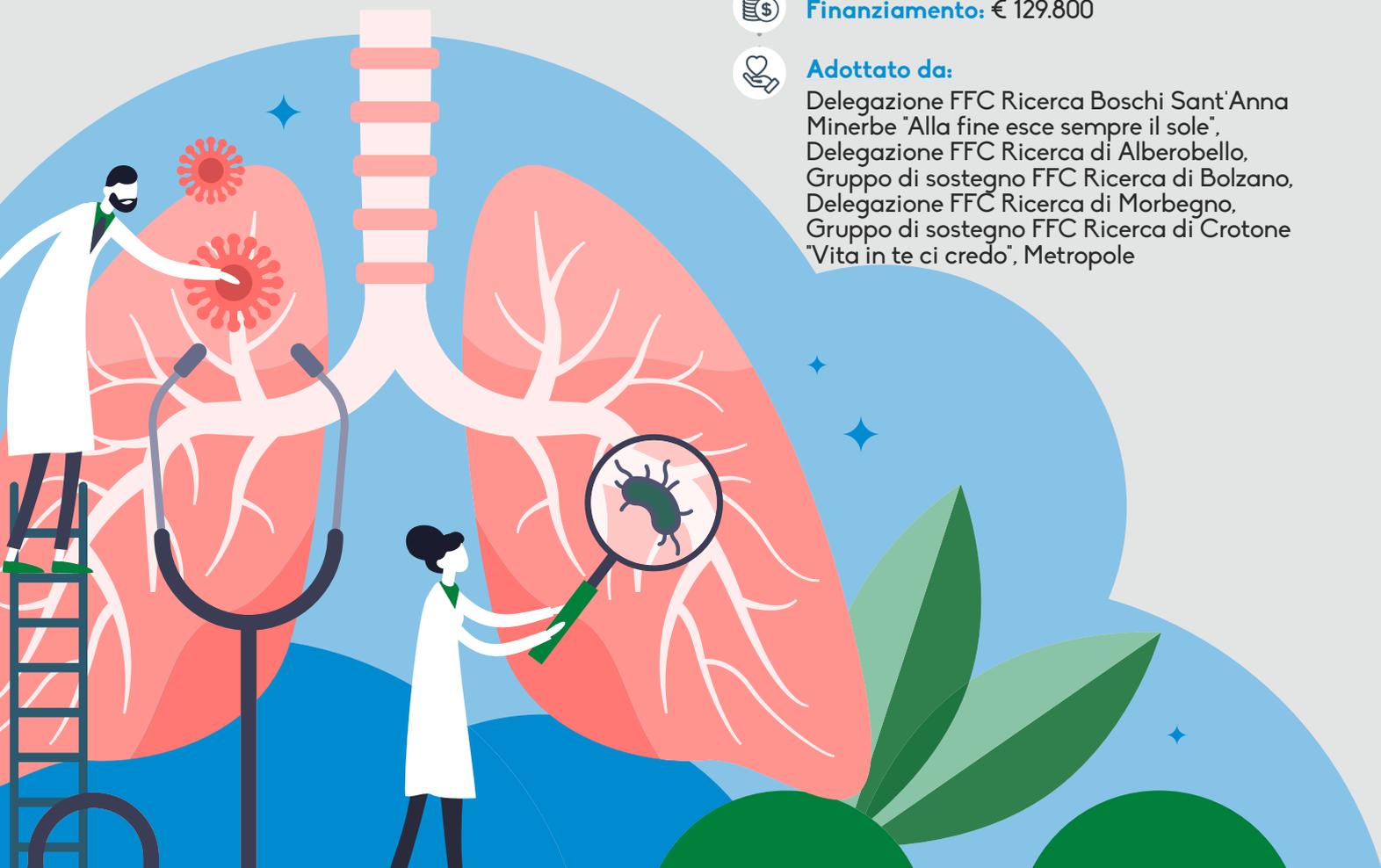


Finanziamento: € 129.800



Adottato da:

Delegazione FFC Ricerca Boschi Sant'Anna
Minerbe "Alla fine esce sempre il sole",
Delegazione FFC Ricerca di Alberobello,
Gruppo di sostegno FFC Ricerca di Bolzano,
Delegazione FFC Ricerca di Morbegno,
Gruppo di sostegno FFC Ricerca di Crotone
"Vita in te ci credo", Metropole





Perché è importante

La terapia di precisione della fibrosi cistica (FC) mediante i modulatori è una realtà per le mutazioni comuni di CFTR. Tuttavia, la sua efficacia sul gran numero di mutazioni rare è sconosciuta. L'obiettivo principale di questo progetto è il *theratyping*, ovvero la sperimentazione su cellule derivanti da persone con FC e mutazioni rare di CFTR dell'efficacia di farmaci già in uso clinico per la FC.



Che cosa hanno usato i ricercatori

Sono state ottenute e studiate 69 colture cellulari derivate dall'epitelio nasale di persone con FC con 50 diversi genotipi (44 dei quali rari, cioè con mutazioni diverse da F508del) e in gran parte inesplorati per la risposta terapeutica ai modulatori. Queste colture sono state sommate a quelle ottenute da precedenti progetti sostenuti da FFC Ricerca, per un totale di 111 colture cellulari con 82 diversi genotipi (69 dei quali rari). Sono stati ottenuti anche i corrispondenti organoidi, cioè piccole riproduzioni in laboratorio dell'organo di interesse, in questo caso il polmone.

Come farmaci, sono stati usati il Kaftrio (elexacaftor/tezacaftor/ivacaftor), una nuova combinazione di modulatori (elexacaftor/lumacaftor/ivacaftor) e un nuovo farmaco sperimentale, potenzialmente utile per una nuova terapia (chiamata "terapia amplificatoria").



Che cosa hanno fatto i ricercatori

Sono stati effettuati test di laboratorio per valutare l'efficacia del trattamento sulle cellule, in particolare attraverso la caratterizzazione genetica e l'analisi della quantità e della funzionalità di CFTR.



Che cosa hanno ottenuto

Tutti i genotipi con la mutazione F508del hanno risposto al Kaftrio e alla nuova combinazione di modulatori; tra i genotipi rari ha risposto ai trattamenti il 74%. È stata evidenziata una grande variabilità fra gli individui con FC nella quantità e nella funzione di CFTR, in gran parte non correlata alle mutazioni di CFTR. Ciò può condizionare l'efficacia della terapia modulatoria. La possibile terapia amplificatoria si è mostrata in grado di migliorare la quantità e la funzionalità di CFTR.



Che cosa succederà ora

Questi risultati evidenziano la possibilità di una terapia efficace per le persone con FC le cui cellule hanno mostrato di rispondere al trattamento *ex vivo*. Ciò potrebbe favorire l'autorizzazione all'uso clinico del Kaftrio nei corrispondenti individui con FC e mutazioni rare. Il nuovo farmaco usato sembra essere promettente come nuova e futura terapia di precisione della FC, eventualmente in combinazione con la terapia modulatoria.

Per saperne di più



Obiettivi

Testare farmaci già in uso su cellule staminali epiteliali delle vie aeree nasali e corrispondenti organoidi di persone con FC con genotipi rari (*theratyping*)

La terapia di precisione della fibrosi cistica (FC) grazie ai modulatori del CFTR è oggi una realtà per alcune varianti patogenetiche, ma l'efficacia su un gran numero di varianti rare, spesso individuali, è sconosciuta. Per *theratyping* si intende la sperimentazione, a livello cellulare, di farmaci già in uso clinico per la FC, su genotipi non precedentemente valutati e per i quali non erano progettati. L'obiettivo di questo progetto è di valutare terapie modulatorie già in uso su genotipi rari del CFTR usando cellule staminali epiteliali delle vie aeree nasali di persone con FC e i corrispondenti organoidi (*theratyping*). A livello cellulare, verrà anche valutata la possibilità di aumentare la quantità di CFTR sulla quale possano agire i modulatori ("terapia amplificatoria") e verrà testata una nuova combinazione di modulatori. I risultati del progetto potranno essere sfruttati come punto di partenza per futuri studi clinici.



Risultati

Alcune mutazioni rare di CFTR rispondono al trattamento con i farmaci modulatori in test *ex vivo* su cellule derivanti da persone con FC

La terapia di precisione della fibrosi cistica (FC) mediante i modulatori è una realtà per le mutazioni comuni di CFTR. Tuttavia, la sua efficacia sul gran numero di mutazioni rare è sconosciuta. L'obiettivo principale di questo progetto era il *theratyping*, ovvero la sperimentazione su cellule derivanti da persone con FC con mutazioni rare di CFTR dell'efficacia di farmaci già in uso clinico per la FC.

Cellule respiratorie e organoidi sono stati ottenuti dall'epitelio nasale di persone con FC e con diverse mutazioni di CFTR mediante un approccio innovativo.

Sono state ottenute e studiate 69 colture cellulari derivate da individui con FC con 50 diversi genotipi (44 dei quali rari, cioè con mutazioni diverse da F508del) e in gran parte inesplorati per la risposta terapeutica ai modulatori. Sommando queste alle colture ottenute durante i precedenti progetti FFC Ricerca, sono state ottenute in totale 111 colture cellulari con 82 diversi genotipi (69 dei quali rari). Sono stati ottenuti anche organoidi, cioè piccole riproduzioni in laboratorio dell'organo di interesse, in questo caso il polmone.

Nelle cellule paziente-specifiche sono stati effettuati test di laboratorio per la caratterizzazione genetica e l'analisi della quantità e della funzionalità del CFTR. Sono stati poi svolti trattamenti terapeutici con il Kaftrio (elexacaftor/tezacaftor/ivacaftor), una nuova combinazione di modulatori (elexacaftor/lumacaftor/ivacaftor) e con un nuovo farmaco sperimentale, potenzialmente utile per una nuova terapia (chiamata "terapia amplificatoria"), e la loro efficacia è stata valutata mediante diversi test di laboratorio.

Come atteso, tutti i genotipi con la mutazione F508del hanno risposto al Kaftrio e alla nuova combinazione di modulatori; tra i genotipi rari, ha risposto ai trattamenti il 74%.

Per saperne di più



È stata evidenziata una grande variabilità fra gli individui con FC, sia per quanto riguarda la quantità sia la funzione di CFTR, in gran parte non correlata alle mutazioni di CFTR. Ciò può condizionare l'efficacia della terapia modulatoria. La possibile terapia amplificatoria si è mostrata in grado di migliorare la quantità e la funzionalità di CFTR.

Questi risultati evidenziano la possibilità di una terapia efficace per le persone con FC le cui cellule hanno mostrato di rispondere al trattamento *ex vivo*. Ciò potrebbe favorire l'autorizzazione all'uso clinico del Kaftrio nei corrispondenti individui con FC e mutazioni rare. Il nuovo farmaco usato sembra essere promettente come nuova e futura terapia di precisione della FC, eventualmente in combinazione con la terapia modulatoria.

Publicazioni



L1077P CFTR pathogenic variant function rescue by Elexacaftor-Tezacaftor-Ivacaftor in cystic fibrosis patient-derived air-liquid interface (ALI) cultures and organoids: in vitro guided personalized therapy of non-F508del patients

Respiratory research, 2023

Lo Cicero et al. *Respiratory Research* (2023) 24:217
<https://doi.org/10.1186/s12931-023-02516-0>

Respiratory Research

RESEARCH

Open Access

L1077P CFTR pathogenic variant function rescue by Elexacaftor–Tezacaftor–Ivacaftor in cystic fibrosis patient-derived air–liquid interface (ALI) cultures and organoids: in vitro guided personalized therapy of non-F508del patients



Stefania Lo Cicero^{1†}, Germana Castelli^{1†}, Giovanna Blaçonà², Sabina Maria Bruno², Giovanni Sette¹, Riccardo Pigliucci¹, Valeria Rachel Vilella^{3,4}, Speranza Esposito^{3,4}, Immacolata Zollo^{3,4}, Francesca Spadaro⁵, Ruggiero De Maria^{6,7}, Mauro Biffoni¹, Giuseppe Cimino⁸, Felice Amato^{3,4}, Marco Lucarelli^{2,9†} and Adriana Eramo^{1†}

Funding

This work was supported by the Italian Cystic Fibrosis Foundation (grant FFC 8/2020—extension to A. Eramo and M. Lucarelli; and grant FFC 8/2021 to M. Lucarelli and A. Eramo) via contributions from “Delegazione FFC di Delegazione FFC di Lecce”, “Delegazione FFC di Napoli San Giuseppe Vesuviano”, “Gruppo di sostegno FFC di Campiglione Fenile” “Delegazione FFC Ricerca Boschi Sant’Anna Minerbe “Alla fine esce sempre il sole”, “Delegazione FFC Ricerca di Alberobello”, “Gruppo di sostegno FFC Ricerca di Bolzano”, “Delegazione FFC Ricerca di Morbegno”, “Gruppo di sostegno FFC Ricerca di Crotona”, “Vita in te ci credo” and “Metropole Venice”. The salaries of S.M. Bruno and of G. Blaçonà were partially covered by the Italian Cystic Fibrosis Foundation grant (respectively, FFC 8/2020-extension and FFC 8/2021). This study was also supported by a grant from the Italian Pasteur Institute, Cenci Bolognetti Foundation (call 2020) to M. Lucarelli.

Publicazioni



Quantitative evaluation of CFTR gene expression: a comparison between relative quantification by real-time PCR and absolute quantification by droplet digital PCR

Genes, 2023



Article

Quantitative Evaluation of CFTR Gene Expression: A Comparison between Relative Quantification by Real-Time PCR and Absolute Quantification by Droplet Digital PCR

Sabina Maria Bruno ^{1,†}, Giovanna Blaçonà ^{1,†}, Stefania Lo Cicero ², Germana Castelli ², Mariarita Virgulti ¹, Giancarlo Testino ¹, Silvia Pierandrei ¹, Andrea Fuso ¹, Giuseppe Cimino ³, Giampiero Ferraguti ¹, Adriana Eramo ^{2,‡} and Marco Lucarelli ^{1,*}

- ¹ Department of Experimental Medicine, Sapienza University of Rome, 00161 Rome, Italy; sabinamaria.bruno@gmail.com (S.M.B.); giovannablak@gmail.com (G.B.); virgulti.1949280@studenti.uniroma1.it (M.V.); gi.testino@tiscali.it (G.T.); pierandrei.silvia@gmail.com (S.P.); andrea.fuso@uniroma1.it (A.F.); giampiero.ferraguti@uniroma1.it (G.F.)
 - ² Department of Oncology and Molecular Medicine, National Institute of Health, Istituto Superiore di Sanità, ISS, 00161 Rome, Italy; stefania.locicero@iss.it (S.L.C.); germana.castelli@iss.it (G.C.); adriana.eramo@iss.it (A.E.)
 - ³ Cystic Fibrosis Reference Center of Lazio Region, Policlinico Umberto I University Hospital, 00161 Rome, Italy; ciminolo@tiscali.it
- * Correspondence: marco.lucarelli@uniroma1.it
† These authors contributed equally to this work.
‡ These authors contributed equally to this work.

Funding: This work was supported by the Italian Cystic Fibrosis Foundation (grant FFC #8/2021 to M. Lucarelli and A. Eramo) through contributions from Delegazione FFC Ricerca Boschi Sant'Anna Minerbe "Alla fine esce sempre il sole"; Delegazione FFC Ricerca di Alberobello; Gruppo di sostegno FFC Ricerca di Bolzano; Delegazione FFC Ricerca di Morbegno; and Gruppo di sostegno FFC Ricerca di Crotone "Vita in te ci credo"; Metropole Venice. The salaries of S.M. Bruno and of G. Blaçonà were partially covered by Italian Cystic Fibrosis Foundation grants (respectively, FFC #8/2020-extension and FFC #8/2021). This work was also supported by the following grants: Italian Pasteur Institute, Cecchi Belemetti Foundation (call 2020) to M. Lucarelli; Sapienza University of Rome (call Athena projects 2020 and 2021) to M. Lucarelli; Sapienza University of Rome (call scientific equipment 2019) to G. Ferraguti.

Rendiconto economico



AREA 2

Terapie personalizzate

Progetto FFC#8/2021

Therotyping della fibrosi cistica

	Responsabile: Marco Lucarelli (Dipartimento di Medicina Sperimentale, Sapienza Università di Roma)	
	Periodo:	01/09/2021-31/10/2023
	Grant assegnato:	€ 129.800
	Usato per:	
	- Materiale di consumo	€ 90.206
	- Spese viaggio/convegni	€ 5.513
	- Borse di studio	€ 31.700
	- Servizi scientifici	€ 610
	- Spedizioni	€ 204
	- Pubblicazioni scientifiche	€ 392

		€ 128.625
	Saldo (usato per altri progetti):	€ 1.175