



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



Progetto FFC#14/2019

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

Studio dell'interazione tra epitelio e stroma in un modello 3D di fibrosi cistica su chip per la valutazione di nuove strategie terapeutiche



Chi ha condotto la ricerca:

Responsabile:

Paolo Netti

*Istituto Italiano di Tecnologia,
Centro di Ricerca Interdipartimentale
sui Biomateriali, Università di Napoli*

Partner:

Diego Di Bernardo

*Centro di Ricerca Interdipartimentale
sui Biomateriali, Università di Napoli*



Ricercatori coinvolti: 6



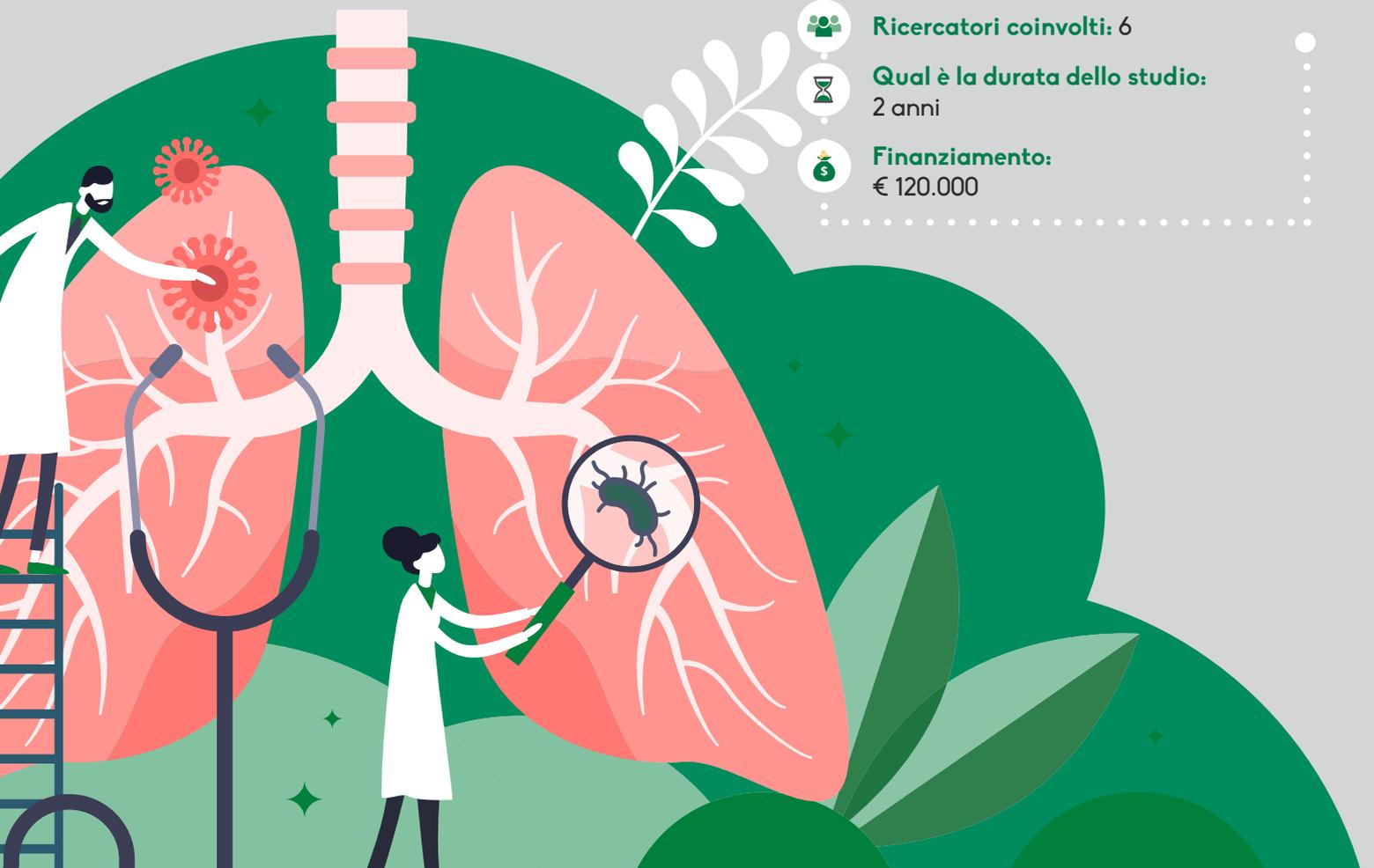
Qual è la durata dello studio:

2 anni



Finanziamento:

€ 120.000





Perché è importante

Per comprendere i meccanismi cellulari che portano alla fibrosi cistica (FC) e testare nuovi farmaci, sono necessari modelli sperimentali che riproducano il più possibile l'ambiente fisiologico e patologico. I modelli sperimentali in fibrosi cistica possono essere usati per studiare l'interazione tra le cellule epiteliali e i batteri patogeni o per valutare l'azione dei farmaci modulatori sulla proteina CFTR mutata.



Che cosa hanno usato i ricercatori

Grazie a tecniche di ingegneria tissutale, i ricercatori hanno riprodotto in laboratorio un modello tridimensionale di epitelio bronchiale, costituito da tutte le sue componenti (cellule epiteliali, cellule mucipare, tessuto connettivo). Per farlo, le cellule sono state fatte crescere su chip microfluidici, dispositivi dotati di microcanali in cui può essere fatto scorrere un liquido.



Che cosa hanno fatto i ricercatori

Sono stati indagati i rapporti tra il tessuto connettivo e le altre componenti, sia in condizioni fisiologiche che di FC. Sono stati anche analizzati i geni coinvolti nel rimodellamento tissutale e nella risposta infiammatoria caratteristici dell'evoluzione della fibrosi cistica.



Che cosa hanno ottenuto

I dati ottenuti mostrano che il tessuto connettivo FC presenta alterazioni rispetto a quello sano e che ci sono delle strutture simil ghiandolari che producono un muco molto viscoso simile a quello presente in FC. Inoltre, si è vista una maggiore espressione dei geni coinvolti nel rimodellamento dei tessuti e nei meccanismi infiammatori, a confermare che il modello sperimentale su chip ben rappresenta le condizioni reali della patologia.



Che cosa succederà ora

Il microchip verrà ottimizzato e successivamente usato per studiare più approfonditamente i meccanismi che caratterizzano la FC e per valutare l'effetto di farmaci modulatori sulla proteina CFTR.

Per saperne di più



Obiettivi

Nuovo modello di fibrosi cistica che riproduce in un chip tridimensionale la struttura completa del bronco, che può essere esposto a condizioni di infezione/infiammazione e al trattamento con nuovi farmaci.

Vi è necessità e interesse a sviluppare modelli sperimentali di fibrosi cistica (FC) *in vitro*. Nel precedente progetto FFC#8/2017, grazie agli avanzamenti dell'ingegneria tissutale, i ricercatori hanno sviluppato un modello tridimensionale di fibrosi cistica su chip microfluidico. Si tratta di una piccola struttura di supporto, contenente tessuto bronchiale in contatto con una complessa rete di microcanali, che possono esporlo a varie condizioni simulanti la malattia umana. In questo modello sono rappresentate le tre componenti di un bronco: cellule epiteliali (che rivestono la sua superficie interna), cellule mucipare (che producono muco) e tessuto connettivale. Nel progetto saranno indagati i rapporti fra tessuto connettivo e altre componenti tissutali, tramite analisi morfologiche e studio dei precursori delle proteine tessuto-specifiche. Inoltre, il microchip sarà dotato di un dispositivo che può fornirgli, sotto forma di aerosol, batteri patogeni, ricreando così la condizione di infezione/infiammazione del bronco umano, e/o farmaci modulatori di CFTR (VX-809/VX-770). Si studieranno le modifiche che si verificano nel liquido di superficie del bronco, nelle cellule epiteliali stesse e nel tessuto connettivo esposti a questi trattamenti. Il chip che riproduce il bronco FC si propone come modello miniaturizzato ultra specializzato per comprendere meglio i meccanismi alla base della malattia e valutare nuovi approcci terapeutici.



Risultati

Il chip microfluidico: un nuovo modello 3D per studiare l'effetto dei farmaci sulla funzione di CFTR, l'infiammazione in fibrosi cistica e la conseguente riparazione del tessuto epiteliale bronchiale.

Lo studio ha portato alla realizzazione di un nuovo modello tridimensionale di tessuto epiteliale per lo studio della fibrosi cistica (FC) all'interno di un chip microfluidico fatto di plastica e polimeri. Il chip permette la coltura dinamica di cellule, il monitoraggio delle funzioni tissutali e la somministrazione controllata di farmaci. A differenza dei modelli classicamente usati, consistenti in cellule dell'epitelio polmonare coltivate su di una membrana polimerica, il modello di chip microfluidico è costituito da un epitelio bronchiale umano cresciuto e differenziato su un tessuto connettivo 3D, realizzato mediante tecniche di ingegneria dei tessuti. Un chip così creato permette di investigare l'interazione tra epitelio e connettivo in fibrosi cistica. I dati ottenuti mostrano che il tessuto connettivo FC presenta alterazioni rispetto a quello sano, come l'aumentata velocità di proliferazione dei fibroblasti e la produzione di una abbondante e densa matrice extracellulare caratterizzata da elevata rigidità. La presenza del connettivo ha evidenziato che esistono interazioni significative con l'epitelio sovrastante e la formazione di strutture epiteliali simil ghiandolari, caratteristiche del tessuto nativo, che hanno un ruolo nella secrezione del fluido apicale, la cui composizione è alterata in FC. Infatti, la viscosità del muco prodotto nel modello risulta maggiore rispetto al modello di solo epitelio. Inoltre, è stato osservato che l'epitelio a contatto con il connettivo mostra aumentata espressione di geni coinvolti nel rimodellamento tissutale e nella risposta infiammatoria, fattori chiave coinvolti nell'evoluzione della fibrosi cistica. Il chip microfluidico ha permesso il differenziamento degli epitelii in tempi più brevi della classica coltura in statico che si effettua in contenitori di plastica come le fiasche e piastre. I risultati dello studio mostrano dunque lo sviluppo di un nuovo modello di FC utile per lo studio della patologia e per l'analisi dell'effetto di farmaci in grado di agire sulla funzione di CFTR ma anche sul rimodellamento tissutale e sull'infiammazione che si verificano in FC.

Publicazioni



Intrinsic Abnormalities of Cystic Fibrosis Airway Connective Tissue Revealed by an In Vitro 3D Stromal Model, *Cells*, Volume 9, Giugno 2020



Article

Intrinsic Abnormalities of Cystic Fibrosis Airway Connective Tissue Revealed by an In Vitro 3D Stromal Model

Claudia Mazio ¹, Laura S. Scognamiglio ¹, Rossella De Cegli ², Luis J. V. Galiotta ²,
Diego Di Bernardo ^{2,3}, Costantino Casale ³, Francesco Urciuolo ^{3,4},
Giorgia Imperato ^{1,*} and Paolo A. Netti ^{1,3,4,*}

¹ Istituto Italiano di Tecnologia (IIT), Largo Barsanti e Matteucci 53, 80125 Napoli, Italy; claudia.mazio@iit.it (C.M.); laura.scognamiglio@iit.it (L.S.S.)

² Telethon Institute of Genetics and Medicine (TIGEM), Via Campi Flegrei 34, 80078 Pozzuoli (NA), Italy; decegli@tigem.it (R.D.C.); l.galiotta@tigem.it (L.J.V.G.); diego.dibernardo@unina.it (D.D.B.)

³ Department of Chemical, Materials and Industrial Production Engineering (DICMAPI) University of Naples Federico II, P. le Tecchio 80, 80125 Napoli, Italy; costantino.casale@unina.it (C.C.); urciuolo@unina.it (F.U.)

⁴ Interdisciplinary Research Centre on Biomaterials (CRIB), University of Napoli Federico II, P. le Tecchio 80, 80125 Napoli, Italy

* Correspondence: giorgia.imparato@iit.it (G.I.); nettipa@unina.it (P.A.N.)

† Co-last authors.

Received: 10 April 2020; Accepted: 28 May 2020; Published: 1 June 2020



Author Contributions: Conceptualization, G.I. and P.A.N.; formal analysis, C.M., L.S.S., R.D.C., F.U.; data curation, C.M., L.S.S., R.D.C.; investigation and methodology, C.M., L.S.S., C.C., F.U.; validation, C.M., L.S.S., C.C., funding acquisition, P.A.N.; project administration, G.I. and P.A.N., supervision, P.A.N., L.J.V.G., D.D.B.; resources, P.A.N., L.J.V.G., D.D.B., visualization C.M., L.S.S.; writing-original draft, C.M., G.I.; writing- review and editing, G.I., R.D.C., L.J.V.G., D.D.B. All authors have discussed the results and have extensively contributed to the final manuscript. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the Italian Cystic Fibrosis Foundation (FFC), grant number FFC#8/2017.

Acknowledgments: Firstly: we are grateful for financial support provided by the Italian Cystic Fibrosis Foundation. Further, we would thank the NGS service of the TIGEM (Napoli) for transcriptomics and the TIGEM Bioinformatics Core for the support in data analysis. We thank Barbara Tumaini for her precious help during RNA extraction and Danila Del Giudice for her contribution in the morphological characterization of cystic fibrosis micro-tissues and connective airway tissues during her thesis trainee.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.

Rendiconto economico



FFC#14/2019

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

Studio dell'interazione tra epitelio e stroma in un modello 3D di fibrosi cistica su chip per la valutazione di nuove strategie terapeutiche



Periodo:
01/09/2019 – 30/11/2021



Responsabile:
Paolo Netti
*Istituto Italiano di Tecnologia, Centro di Ricerca Interdipartimentale sui Biomateriali,
Università di Napoli*



Partner:
Diego di Bernardo
Centro di Ricerca Interdipartimentale sui Biomateriali, Università di Napoli



Grant assegnato: **€120.000**



Usato per:

• Materiale di consumo	€34.467
• Borse di studio	€56.000
• Servizi scientifici	€23.208
	€113.675



Saldo (usato per altri progetti) **€6.325**