



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



Progetto FFC#21/2019

Terapie dell'infezione broncopolmonare

**Studio preclinico di una strategia terapeutica
combinata basata su liposomi bioattivi e
batteriofagi contro le infezioni causate da
*Mycobacterium abscessus***



Chi ha condotto la ricerca:

Responsabile:

Maurizio Fraziano

*Università Tor Vergata, Roma,
Dip. Biologia*



Ricercatori coinvolti: 7



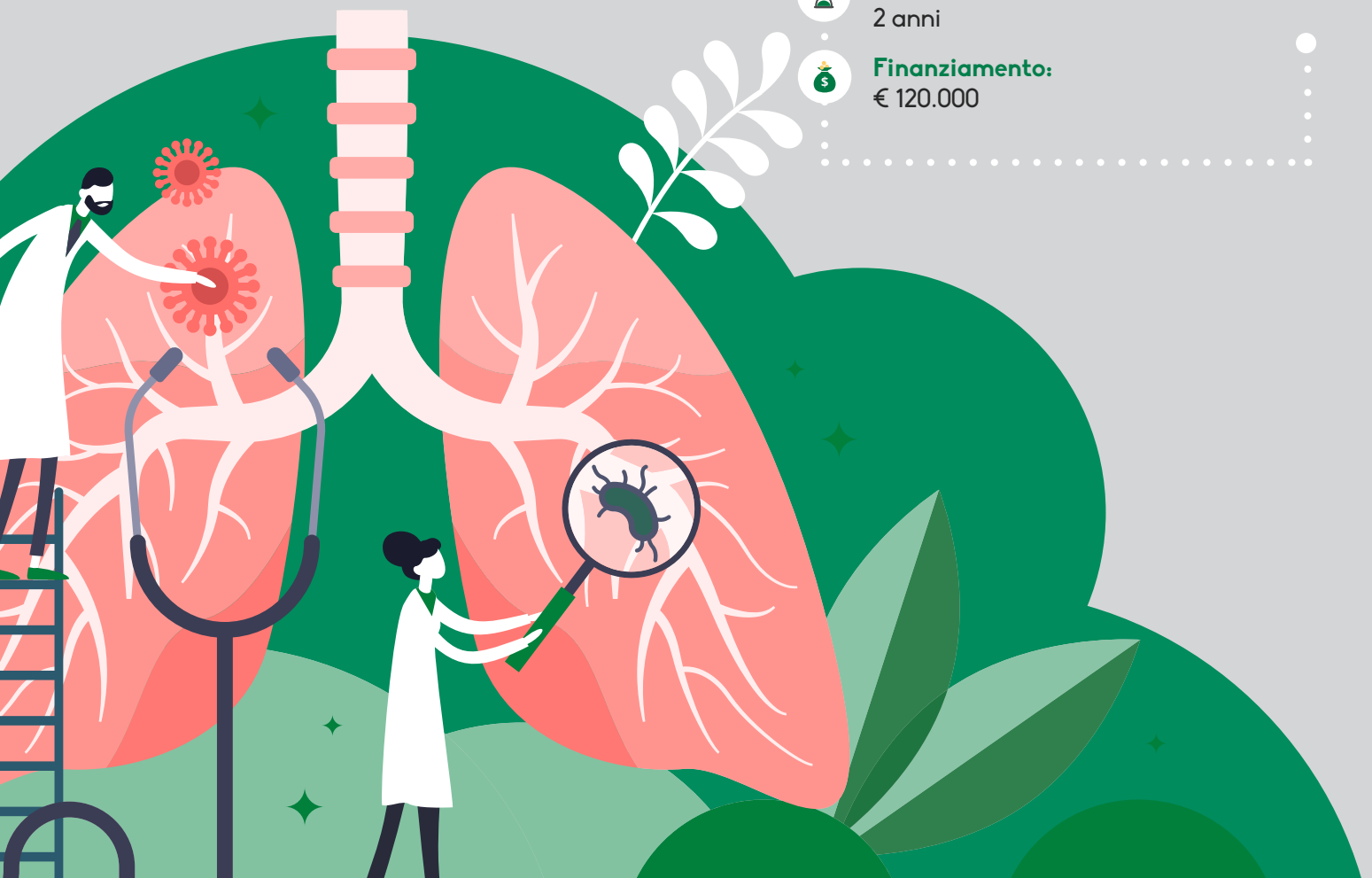
Qual è la durata dello studio:

2 anni



Finanziamento:

€ 120.000





Perché è importante

I micobatteri come *Mycobacterium abscessus* (Mab) sono agenti patogeni particolarmente temuti in fibrosi cistica (FC) perché possono essere responsabili di gravi infezioni polmonari e hanno un'elevata resistenza agli antibiotici, che limita le possibilità terapeutiche rendendo più lunga la guarigione. È quindi importante disporre di nuove strategie antinfettive contro Mab.



Che cosa hanno usato i ricercatori

Tra le nuove possibilità di trattamento contro Mab antibiotico-resistenti ci sono le strategie mirate a potenziare la risposta immunitaria dell'ospite (persona con FC), piuttosto che a colpire direttamente l'agente patogeno (batterio). Nei precedenti progetti di ricerca FFC#17/2013 e FFC#14/2017, sono state messe a punto speciali microparticelle chiamate liposomi bioattivi capaci di migliorare la risposta immunitaria antimicrobica di un organismo. La nuova idea è preparare una formulazione in cui assieme ai liposomi ci sono dei batteriofagi, virus che attaccano specifici batteri, diretti contro Mab. Questo approccio combina una terapia diretta all'ospite (TDO) con una terapia diretta al patogeno (TDP).



Che cosa hanno fatto i ricercatori

La terapia combinata con liposomi bioattivi e batteriofagi è stata testata contro l'infezione da *Mycobacterium abscessus* sia *in vitro* che *in vivo*, in topi con infezione cronica da Mab. Per gli studi *in vitro* si sono usati particolari cellule del sistema immunitario, i macrofagi, infettati con Mab. L'efficacia della terapia combinata è stata valutata in termini di riduzione della carica batterica e della risposta infiammatoria.



Che cosa hanno ottenuto

La TDO tramite liposomi è in grado di potenziare la risposta anti-micobatterica sia in modelli di infezione *in vitro* (macrofagi provenienti da topi FC, topi normali, pazienti FC e controlli sani) che *in vivo* (in modelli di topi FC). Per quanto riguarda la TDP, l'identificazione di batteriofagi specifici per Mab non ha portato a potenziali candidati per cui si è scelto di introdurre come terapia contro il batterio l'antibiotico amikacina. Si è visto che il trattamento con amikacina potenzia ulteriormente l'azione microbica e antinfiammatoria dei liposomi.



Che cosa succederà ora

I risultati ottenuti offrono la base per lo sviluppo di un nuovo regime terapeutico combinato basato su liposomi bioattivi e antibiotici, impiegabile contro le infezioni da Mab in persone con fibrosi cistica.

Per saperne di più



Obiettivi

Nuova strategia terapeutica per le infezioni respiratorie da *Mycobacterium abscessus*: liposomi inalabili che veicolano fagi specifici. Sperimentazione su modelli animali e modelli cellulari FC.

I batteri appartenenti al gruppo dei micobatteri come *Mycobacterium abscessus* (Mab) possono essere responsabili di gravi infezioni polmonari in fibrosi cistica (FC) e hanno la caratteristica di acquisire rapidamente resistenza a un ampio spettro di antibiotici. Per questa ragione e per l'associazione con un andamento peggiorativo della malattia polmonare, le infezioni da Mab sono in molti Centri considerate una controindicazione al trapianto polmonare. È quindi importante disporre di nuove strategie antinfettive contro Mab. Nei progetti FFC#17/2013 e FFC#14/2017, i ricercatori hanno messo a punto dei liposomi bioattivi, speciali microparticelle caricate con lipidi in grado di potenziare la risposta antimicrobica innata nei confronti di batteri patogeni multifarmaco-resistenti. Ora intendono preparare una nuova formulazione che associ i liposomi a batteriofagi (virus che attaccano specifici batteri) diretti contro Mab. Sarà studiato il modo migliore per incapsulare i batteriofagi dentro i liposomi e, una volta selezionata la formulazione ottimale, sarà validata nei confronti di topi con infezione cronica da Mab. Inoltre, saranno studiati macrofagi (cellule del sangue coinvolte nella risposta immunitaria) infettati con Mab provenienti da topi FC e topi normali, da pazienti FC e controlli sani. Sarà indagata la riduzione della carica batterica e della risposta infiammatoria. L'associazione liposomi-batteriofagi si propone come nuova strategia per il trattamento di infezioni ricorrenti da Mab in pazienti FC e si candida per la sperimentazione clinica.



Risultati

Incoraggianti risultati *in vitro* e *in vivo* della terapia con liposomi attivi inalabili.

I ricercatori hanno valutato l'efficacia *in vivo* e *in vitro* di un nuovo approccio combinato basato su liposomi bioattivi (terapia diretta all'ospite, TDO) e batteriofagi (terapia diretta al patogeno, TDP) contro l'infezione da *Mycobacterium abscessus* (Mab). Poiché l'identificazione di fagi specifici per Mab non ha portato finora a potenziali candidati fagici, il valore terapeutico della strategia combinata è stato valutato usando l'antibiotico amikacina (AMK) come TDP. I risultati mostrano che la TDO tramite liposomi potenzia la risposta anti-micobatterica in modo efficace sia in modelli di infezione *in vitro* (macrofagi provenienti da pazienti FC) che *in vivo* (in modelli di topi FC). La TDO è infatti in grado di abbassare la risposta infiammatoria e diminuire di circa 200 volte la quantità di Mab nei polmoni. Tale azione microbica e antinfiammatoria viene ulteriormente potenziata in presenza del trattamento combinato con AMK. I risultati ottenuti dai ricercatori offrono la base per lo sviluppo di un nuovo regime terapeutico combinato basato su liposomi bioattivi e antibiotici, impiegabile contro le infezioni da Mab in pazienti affetti da FC.

Pubblicazioni



Phosphatidylcholine liposomes down-modulate CD4 expression reducing HIV entry in human type-1 macrophages. *Frontiers in immunology*, Volume 13, Maggio 2022

 | Frontiers in Immunology

ORIGINAL RESEARCH
published: 19 May 2022
doi: 10.3389/fimmu.2022.830788



Phosphatidylcholine Liposomes Down-Modulate CD4 Expression Reducing HIV Entry in Human Type-1 Macrophages

Federica De Santis¹, Ana Borrajo Lopez², Sara Virtuoso³, Noemi Poerio¹, Patrizia Saccomandi², Tommaso Olimpieri¹, Leonardo Duca², Lucia Henrici De Angelis^{1,4}, Katia Aquilano¹, Marco Maria D'Andrea¹, Stefano Aquaro⁵, Alessandra Borsetti³, Francesca Ceccherini-Silberstein² and Maurizio Fraziano^{1*}

¹ Dipartimento di Biologia, Università degli Studi di Roma "Tor Vergata", Roma, Italy, ² Dipartimento di Medicina Sperimentale, Università degli Studi di Roma "Tor Vergata", Roma, Italy, ³ Centro Nazionale per la ricerca su HIV/AIDS, Istituto Superiore di Sanità, Roma, Italy, ⁴ Dipartimento di Biotecnologie Mediche, Università di Siena, Siena, Italy, ⁵ Dipartimento di Farmacia e Scienze della Salute e della Nutrizione, Università della Calabria, Rende, Italy

OPEN ACCESS

Edited by:

Markus Haug,
Norwegian University of Science and
Technology, Norway

Reviewed by:

Naomi Benne,
Utrecht University, Netherlands
Tim Hanley,
The University of Utah, United States

*Correspondence:

Maurizio Fraziano
fraziano@bio.uniroma2.it

Specialty section:

This article was submitted to
Viral Immunology,
a section of the journal
Frontiers in Immunology

Received: 07 December 2021

Accepted: 21 April 2022

A strategy adopted to combat human immunodeficiency virus type-1 (HIV-1) infection is based on interfering with virus entry into target cells. In this study, we found that phosphatidylcholine (PC) liposomes reduced the expression of the CD4 receptor in human primary type-1 macrophages but not in CD4⁺ T cells. The down-regulation was specific to CD4, as any effect was not observed in CCR5 membrane expression. Moreover, the reduction of membrane CD4 expression required the Ca²⁺-independent protein kinase C (PKC), which in turn mediated serine phosphorylation in the intracytoplasmic tail of the CD4 receptor. Serine phosphorylation of CD4 was also associated with its internalization and degradation in acidic compartments. Finally, the observed CD4 downregulation induced by PC liposomes in human primary macrophages reduced the entry of both single-cycle replication and replication competent R5 tropic HIV-1. Altogether, these results show that PC liposomes reduce HIV entry in human macrophages and may impact HIV pathogenesis by lowering the viral reservoir.

Keywords: host-directed therapy, liposome, phosphatidylcholine, macrophage, HIV entry

FUNDING

This work was supported by i) the Italian Foundation for Multiple Sclerosis, grant #2016/R/22; ii) the Horizon 2020, grant #643558; iii) the Italian Cystic Fibrosis Research Foundation, FFC #21/2019; and iv) the PRIN (Progetti di Rilevante Interesse Nazionale) Grant 2017M8R7N9_004 from the MIUR, Italy.

Publicazioni



Fighting MDR-*Klebsiella pneumoniae* Infections by a Combined Host- and Pathogen-Directed Therapeutic Approach, *Frontiers in Immunology*, Volume 13, Febbraio 2022



PERSPECTIVE
published: 14 February 2022
doi: 10.3389/fimmu.2022.835417



Fighting MDR-*Klebsiella pneumoniae* Infections by a Combined Host- and Pathogen-Directed Therapeutic Approach

Noemi Poerio^{1†}, Tommaso Olimpieri^{1†}, Lucia Henrici De Angelis^{1,2}, Federica De Santis¹, Maria Cristina Thaller¹, Marco Maria D'Andrea¹ and Maurizio Fraziano^{1*}

¹ Department of Biology, University of Rome "Tor Vergata", Rome, Italy, ² Department of Medical Biotechnologies, University of Siena, Siena, Italy

OPEN ACCESS

Edited by:

Ian Marriott,
University of North Carolina at
Charlotte, United States

Reviewed by:

Michal Letek,
Universidad de León, Spain

*Correspondence:

Maurizio Fraziano
fraziano@bio.uniroma2.it

[†]These authors have contributed
equally to this work

Specialty section:

This article was submitted to
Microbial Immunology,
a section of the journal
Frontiers in Immunology

Received: 14 December 2021

Accepted: 21 January 2022

Published: 14 February 2022

Klebsiella pneumoniae is an opportunistic pathogen that is very difficult to treat mainly due to its high propensity to acquire complex resistance traits. Notably, multidrug resistance (MDR)-*Klebsiella pneumoniae* (KP) infections are responsible for 22%–72% of mortality among hospitalized and immunocompromised patients. Although treatments with new drugs or with combined antibiotic therapies have some degree of success, there is still the urgency to investigate and develop an efficient approach against MDR-KP infections. In this study, we have evaluated, in an *in vitro* model of human macrophages, the efficacy of a combined treatment consisting of apoptotic body-like liposomes loaded with phosphatidylinositol 5-phosphate (ABL/PI5P) and ϕ BO1E, a lytic phage specific for the major high-risk clone of KPC-positive MDR-KP. Results show that ABL/PI5P did not affect in a direct manner KKBO-1 viability, being able to reduce only the intracellular KKBO-1 bacterial load. As expected, ϕ BO1E was effective mainly on reducing extracellular bacilli. Importantly, the combination of both treatments resulted in a simultaneous reduction of both intracellular and extracellular bacilli. Moreover, the combined treatment of KKBO-1-infected cells reduced proinflammatory TNF- α and IL-1 β cytokines and increased anti-inflammatory TGF- β cytokine production. Overall, our data support the therapeutic value of a combined host- and pathogen-directed therapy as a promising approach, alternative to single treatments, to simultaneously target intracellular and extracellular pathogens and improve the clinical management of patients infected with MDR pathogens such as MDR-KP.

Keywords: liposomes, phosphatidylinositol 5-phosphate, host-directed therapy, bacteriophages, phage therapy, MDR, *Klebsiella pneumoniae*

FUNDING

The research was supported by the Italian Cystic Fibrosis Research Foundation, FFC #21/2019.

Publicazioni



Combined Host- and Pathogen-Directed Therapy for the Control of *Mycobacterium abscessus* Infection, *Microbiology spectrum*, Volume 10, 2022



RESEARCH ARTICLE



Combined Host- and Pathogen-Directed Therapy for the Control of *Mycobacterium abscessus* Infection

 Noemi Poerio,^a Camilla Riva,^b Tommaso Olimpieri,^a Marco Rossi,^b Nicola I. Lorè,^b Federica De Santis,^a Lucia Henrici De Angelis,^a Fabiana Ciciriello,^c Marco M. D'Andrea,^a Vincenzina Lucidi,^c  Daniela M. Cirillo,^b  Maurizio Fraziano^a

^aDepartment of Biology, University of Rome "Tor Vergata", Rome, Italy

^bEmerging Bacteria Pathogens Unit, San Raffaele Scientific Institute, Milan, Italy

^cDepartment of Pediatric Medicine, Cystic Fibrosis Complex Operating Unit, Bambino Gesù Pediatric Hospital, Rome, Italy

Noemi Poerio and Camilla Riva contributed equally to this article. Author order was determined by their equal but graded contributions to this paper. Maurizio Fraziano and Daniela M. Cirillo contributed equally to this article; the author order was determined by their equal but graded contributions to this paper.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Carla Viscomi, head nurse of the Cystic Fibrosis Unit, Pediatric Hospital "Bambino Gesù" in Rome, Italy, for her important support in the management and collection of clinical samples from patients and Matteo M. Naldini for English revision of the manuscript.

Conceptualization: M.F., D.M.C., V.L.; methodology: N.P., C.R., T.O., M.R., N.I.L., F.C., F.D.S., M.M.D.A., L.H.D.A.; investigation: N.P., C.R., T.O., M.R., F.D.S., N.I.L.; visualization: N.P., C.R., M.M.D.A., L.H.D.A.; funding acquisition: M.F., D.M.C.; project administration: M.F., D.M.C., V.L.; supervision: M.F., D.M.C., V.L.; resources: F.C., V.L.; writing, original draft: M.F., D.M.C.; writing, review and editing: M.F., D.M.C., N.P., C.R., M.M.D.A.

This study was financially supported by the Italian Cystic Fibrosis Foundation (FFC no. 16/2018 and FFC no. 21/2019), Italian Ministry of Defence (no. a2018.092), and FISM-Fondazione Italiana Sclerosi Multipla (2016/R/22) and financed or cofinanced with "5 per mille" public funding.

Pubblicazioni



PMN-MDSC Frequency Discriminates Active Versus Latent Tuberculosis and Could Play a Role in Counteracting the Immune-Mediated Lung Damage in Active Disease, *Frontiers in Immunology*, Volume 12, Aprile 2021



ORIGINAL RESEARCH
published: 26 April 2021
doi: 10.3389/fimmu.2021.594376



PMN-MDSC Frequency Discriminates Active Versus Latent Tuberculosis and Could Play a Role in Counteracting the Immune-Mediated Lung Damage in Active Disease

OPEN ACCESS

Edited by:

Anca Dorhol,
Friedrich-Loeffler-Institute, Germany

Reviewed by:

Irina V. Lyadova,
Russian Academy of Sciences, Russia
Tobias Dalenga,
Research Center Borstel (LG),
Germany

***Correspondence:**

Chiara Agrati
chiara.agrati@inmi.it

Germana Grassi¹, Valentina Vanini^{2,3}, Federica De Santis⁴, Alessandra Romagnoli⁶,
Alessandra Aiello², Rita Casetti¹, Eleonora Cimini¹, Veronica Bordini¹, Stefania Notari¹,
Gilda Cuzzi², Silvia Mosti⁶, Gina Gualano⁶, Fabrizio Palmieri⁶, Maurizio Fraziano⁴,
Delia Goletti², Chiara Agrati^{1*} and Alessandra Sacchi¹

¹ Laboratory of Cellular Immunology and Pharmacology, National Institute for Infectious Diseases "Lazzaro Spallanzani"-IRCCS, Rome, Italy, ² Laboratory of Translational Research, National Institute for Infectious Diseases "Lazzaro Spallanzani"-IRCCS, Rome, Italy, ³ UOS Professioni Sanitarie Tecniche National Institute for Infectious Diseases Lazzaro Spallanzani-IRCCS, Rome, Italy,

⁴ Department of Biology, University of Rome "Tor Vergata", Rome, Italy, ⁵ Department of Epidemiology, Preclinical Research, and Advanced Diagnostics, National Institute for Infectious Diseases "Lazzaro Spallanzani"-IRCCS, Rome, Italy, ⁶ Respiratory Infectious Diseases Unit, National Institute for Infectious Diseases "Lazzaro Spallanzani"-IRCCS, Rome, Italy

FUNDING

The study was supported by Italian Ministry of Health, Ricerca Corrente, and by Fondazione Italiana Fibrosi Cistica 2019. The funders had no role in study design, data collection, and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Publicazioni



- Rifampicin-Liposomes for Mycobacterium abscessus Infection Treatment: Intracellular Uptake and Antibacterial Activity Evaluation, *Pharmaceutics*, Volume 13, Luglio 2021
- Editoriale: Exploiting Novel Combined Host- and Pathogen-Directed Therapies for Combating Bacterial Multidrug Resistance, *Frontiers in Immunology*, Volume 11, Novembre 2020
- Liposomes Loaded With Phosphatidylinositol 5-Phosphate Improve the Antimicrobial Response to Pseudomonas aeruginosa in Impaired Macrophages From Cystic Fibrosis Patients and Limit Airway Inflammatory Response, *Frontiers in Immunology*, Volume 11, Ottobre 2020






Rendiconto economico



Progetto FFC#21/2019

Terapie dell'infezione broncopolmonare

Studio preclinico di una strategia terapeutica combinata basata su liposomi bioattivi e batteriofagi contro le infezioni causate da *Mycobacterium abscessus*

 Periodo: 01/09/2019 – 31/08/2021	
 Responsabile: Maurizio Fraziano Università Tor Vergata, Roma, Dip. Biologia	
 Grant assegnato:	€120.000
 Usato per:	
• Materiale di consumo	€82.088
• Spese viaggio/convegni	€1.584
• Borse di studio	€29.000
• Servizi scientifici	€3.418
• Pubblicazioni scientifiche	€2.6028
	€118.692
 Saldo (usato per altri progetti)	€1.308