



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

AREA 3

## Terapie dell'infezione broncopolmonare



Progetto FFC#15/2020

### Utilizzare la proteina STING come bersaglio specifico per combattere le infezioni batteriche nella fibrosi cistica



**Chi ha condotto la ricerca:**

**Responsabile: Mauro Piacentini**

(Università di Roma Tor Vergata, Dip. di Biologia)



**Partner: Valeria Raia**

(Università degli Studi di Napoli, Dip. di Scienze Mediche Traslazionali)



**Ricercatori coinvolti: 8**



**Qual è la durata dello studio: 2 anni**

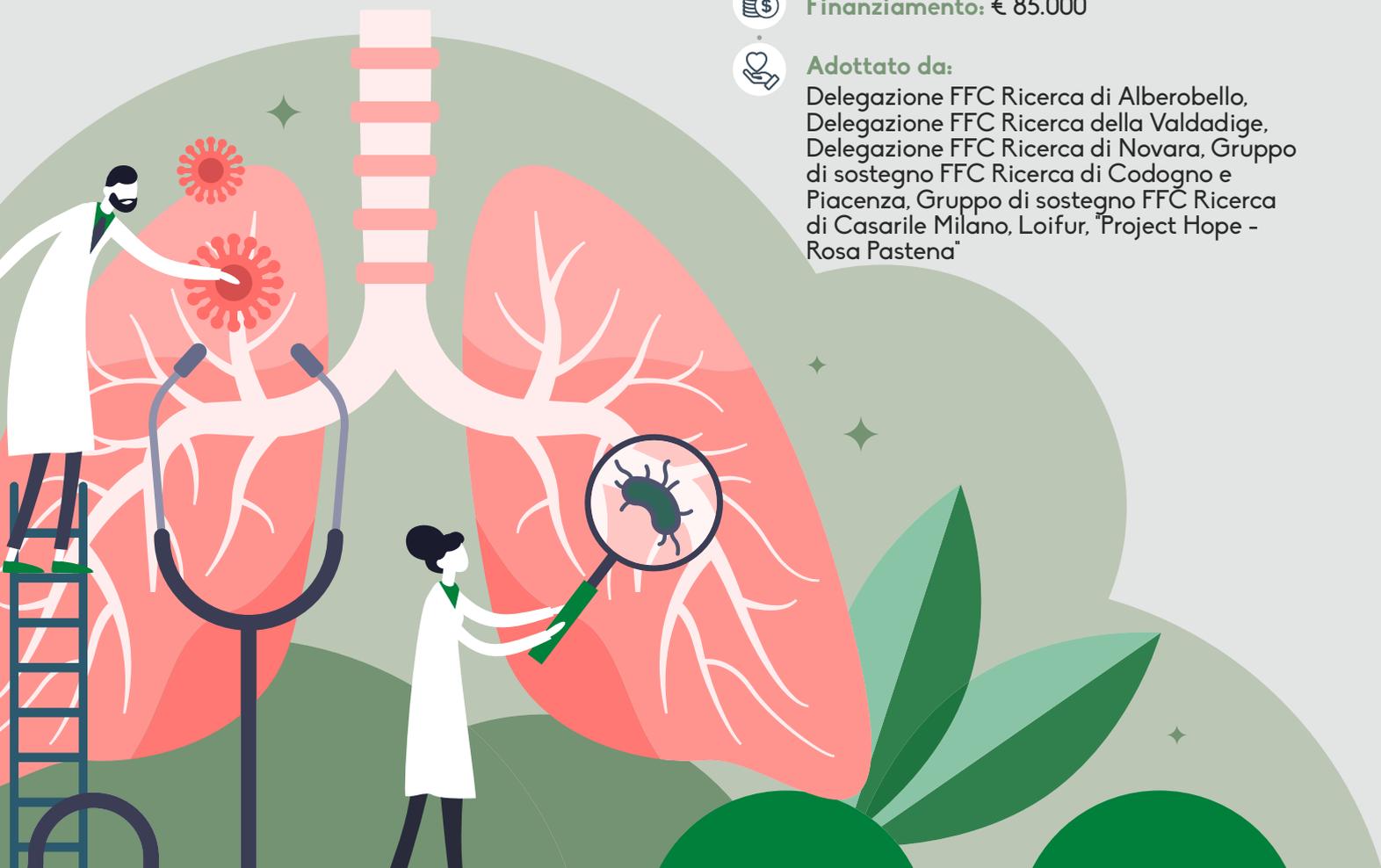


**Finanziamento: € 85.000**



**Adottato da:**

Delegazione FFC Ricerca di Alberobello, Delegazione FFC Ricerca della Valdadige, Delegazione FFC Ricerca di Novara, Gruppo di sostegno FFC Ricerca di Codogno e Piacenza, Gruppo di sostegno FFC Ricerca di Casarile Milano, Loifur, "Project Hope - Rosa Pastena"





## Perché è importante

Le infezioni batteriche svolgono un ruolo fondamentale nelle malattie infettive, come la fibrosi cistica (FC). L'immunità innata è la prima linea di difesa per combattere i patogeni. Si è visto che, in caso di infezione batterica, si attiva una particolare proteina chiamata STING, che a sua volta è coinvolta nell'innescare la risposta immunitaria dell'ospite alle infezioni. In precedenza, i ricercatori hanno dimostrato che la via di segnalazione di STING viene regolata dall'enzima Transglutaminasi 2 (TG2) e che l'inibizione di TG2 porta a una maggiore risposta antimicrobica nella FC. Analizzare il ruolo della via di STING nella FC potrebbe permettere di trovare nuovi possibili bersagli per lo sviluppo di terapie specifiche contro le infezioni batteriche.



## Che cosa hanno usato i ricercatori

Sono stati usati modelli di topo con la mutazione F508del di CFTR con infezioni da *Pseudomonas aeruginosa* (Pa).



## Che cosa hanno fatto i ricercatori

È stato analizzato il ruolo di STING nella FC nei topi con Pa in modo da valutare la relazione tra i livelli dell'infezione e le alterazioni nella via di segnalazione di STING. Sono stati inoltre usati regolatori di STING e TG2 per modulare la risposta immunitaria.



## Che cosa hanno ottenuto

È stato scoperto che la via di STING non è attiva nella condizione F508del. L'uso di molecole che regolano STING, attivandolo, è in grado di ripristinare la risposta immunitaria contro la colonizzazione batterica. I risultati sono stati confermati anche in cellule primarie ottenute da pazienti con mutazione F508del. Il corretto funzionamento della via di STING è quindi fondamentale per contrastare le infezioni batteriche, in particolare da *Pseudomonas aeruginosa*. Pertanto, il suo ripristino nella FC potrebbe essere sfruttato come possibile obiettivo per il trattamento della malattia.



## Che cosa succederà ora

I ricercatori estenderanno l'analisi della via di STING all'interno del progetto [FFC#8/2022](#), usando anche cellule provenienti da persone con FC. L'obiettivo è verificare se le alterazioni osservate per il modello F508del possono essere associate anche ad altre mutazioni di CFTR. Inoltre, sulle cellule FC umane verranno testati anche i regolatori di STING per corroborare i risultati precedentemente ottenuti sul modello di topo.

## Per saperne di più



### Obiettivi

#### Studio dei meccanismi di base della risposta antinfettiva in FC: importanza delle proteine cellulari TG2 e STING

Il progetto si propone uno studio approfondito dei meccanismi di base della risposta antinfettiva nella malattia FC. Gli autori hanno già descritto come l'inibizione di una particolare proteina, la transglutaminasi 2 (TG2), che esercita importante ruolo di regolazione delle interazioni molecolari di molte altre proteine cellulari, aumenta la risposta antibatterica in modelli animali FC. Ora si vuole conoscere come TG2 regola un'altra importante proteina antinfettiva, la proteina STING, a sua volta stimolatrice della produzione da parte delle cellule di frammenti di proteine con significato difensivo (gli interferoni). Eseguiranno studi *in vitro*, *ex vivo* (cellule epiteliali nasali da persone con FC) e *in vivo* su modelli di topo FC con infezione da *Pseudomonas aeruginosa* e *Mycobacterium abscessus*. L'obiettivo è poter disegnare nuove strategie che permettano di limitare le infezioni batteriche, con un intervento innovativo, su specifici percorsi immunitari delle persone con FC, di cui vengono identificati nuovi bersagli proteici per possibili terapie.



### Risultati

#### Il corretto funzionamento della via di STING è fondamentale per contrastare le infezioni batteriche, in particolare da *Pseudomonas aeruginosa*

Le infezioni batteriche svolgono un ruolo fondamentale nelle malattie infettive, come la fibrosi cistica (FC). L'immunità è la prima linea di difesa per combattere i patogeni e la via di segnalazione di STING innesca la risposta immunitaria alle infezioni. STING si attiva in caso di infezione batterica e svolge un ruolo importante nell'induzione dell'interferone di tipo I (IFN1). I ricercatori hanno in precedenza dimostrato che l'inibizione della Transglutaminasi 2 (TG2) si traduce in una maggiore risposta antimicrobica nella FC. È stato inoltre scoperto che la TG2 potrebbe regolare la via di segnalazione di STING, evidenziando la sua implicazione nella risposta dell'ospite ai batteri.

L'obiettivo del progetto è analizzare il ruolo della via di STING nella FC per trovare nuovi possibili bersagli per lo sviluppo di terapie specifiche e chiarire come TG2 regoli STING in modelli di topo FC infettati con *Pseudomonas aeruginosa* (Pa), correlando i livelli dell'infezione con le alterazioni nella segnalazione di STING.

Modelli di topo con mutazione F508del sono stati impiegati per eseguire infezioni con *Pseudomonas aeruginosa*. Sono stati inoltre somministrati regolatori di STING e della TG2.

È stato scoperto che la via di STING non è attiva nella condizione F508del e l'uso di molecole che attivano STING (agonisti), come il 2',3'-cGAMP, è in grado di ripristinare la risposta immunitaria contro la colonizzazione batterica. Infatti, il trattamento con l'agonista determina una riduzione della crescita batterica con conseguente all'aumento della produzione di IFN- $\beta$ . I risultati sono stati confermati anche in cellule primarie ottenute da pazienti con mutazione F508del. Lo studio indica che l'integrità di STING è cruciale nella risposta della FC contro i patogeni e che può essere ripristinata dal trattamento con il 2',3'-cGAMP.

Il corretto funzionamento della via di STING è fondamentale per contrastare le infezioni batteriche, in particolare da *Pseudomonas aeruginosa*. Pertanto, il ripristino di STING nella FC potrebbe essere sfruttato come possibile obiettivo per il trattamento della malattia.

## Publicazioni



### **Cysteamine with In Vitro Antiviral Activity and Immunomodulatory Effects Has the Potential to Be a Repurposing Drug Candidate for COVID-19 Therapy**

Cells, 2021



Article

### **Cysteamine with In Vitro Antiviral Activity and Immunomodulatory Effects Has the Potential to Be a Repurposing Drug Candidate for COVID-19 Therapy**

Tonino Alonzi <sup>1</sup>, Alessandra Aiello <sup>1</sup> , Linda Petrone <sup>1</sup>, Saeid Najafi Fard <sup>1</sup> , Manuela D'Eletto <sup>2</sup>, Laura Falasca <sup>3</sup> , Roberta Nardacci <sup>3</sup> , Federica Rossin <sup>2</sup>, Giovanni Delogu <sup>4,5</sup>, Concetta Castillette <sup>6</sup> , Maria Rosaria Capobianchi <sup>6,†,‡</sup>, Giuseppe Ippolito <sup>7</sup> , Mauro Piacentini <sup>2,3,\*</sup> and Delia Goletti <sup>1</sup> 

<sup>1</sup> Translational Research Unit, National Institute for Infectious Diseases "Lazzaro Spallanzani"-IRCCS, 00149 Rome, Italy; tonino.alonzi@inmi.it (T.A.); alessandra.aiello@inmi.it (A.A.); linda.petrone@inmi.it (L.P.); saeid.najafi@inmi.it (S.N.F.); delia.goletti@inmi.it (D.G.)

<sup>2</sup> Department of Biology, University of Rome "Tor Vergata", 00133 Rome, Italy; manuela.deletto@gmail.com (M.D.); federica.rossin@uniroma2.it (F.R.)

<sup>3</sup> Laboratory of Electron Microscopy, National Institute for Infectious Disease "Lazzaro Spallanzani"-IRCCS, 00149 Rome, Italy; laura.falasca@inmi.it (L.F.); roberta.nardacci@inmi.it (R.N.)

<sup>4</sup> Institute of Microbiology, Università Cattolica del Sacro Cuore, 00168 Rome, Italy; giovanni.delogu@unicatt.it

<sup>5</sup> Mater Olbia Hospital, 07026 Olbia, Italy

<sup>6</sup> Virology Unit, National Institute for Infectious Disease "Lazzaro Spallanzani"-IRCCS, 00149 Rome, Italy; concetta.castillette@inmi.it (C.C.); maria.capobianchi@inmi.it (M.R.C.)

<sup>7</sup> Scientific Direction, National Institute for Infectious Disease "Lazzaro Spallanzani"-IRCCS, 00149 Rome, Italy; giuseppe.ippolito@inmi.it

\* Correspondence: mauro.piacentini@uniroma2.it

† Current affiliation: Saint Camillus International University of Health Sciences, 00131 Roma, Italy.

‡ Current affiliation: Department of Infectious Tropical Diseases and Microbiology, IRCCS Sacro Cuore Don Calabria Hospital, 37024 Negrar di Valpolicella, Italy.



Citation: Alonzi, T.; Aiello, A.; Petrone, L.; Najafi Fard, S.; D'Eletto,

**Author Contributions:** T.A., M.P. and D.G. designed and conceived the work and wrote the main text of the original draft of the manuscript. T.A. and A.A. performed all infection experiments in the BSL-3; L.P., S.N.F. and A.A. performed SARS-CoV-2-specific immune response experiments; L.F. and R.N. performed electron microscopy analysis; M.D. and F.R. generated Huh7-TG2-KO and Huh7-CTR cell lines; G.D., C.C., M.R.C. and G.I. analysed data or contributed with essential materials. G.I. participated in the interpretation of the data. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This work was supported by the Italian Ministry of Health (Ricerca Corrente, LINEA 1 "Infezioni Emergenti e Riemergenti" and COVID-2020-12371817 and COVID-2020-12371675); by Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro (AIRC) (IG2018-21880); by the **Fondazione per la Ricerca sulla Fibrosi Cistica (FFC#15/2020)**; by the European Virus Archive-GLOBAL (grants no. 653316 and no. 871029); by through a generous liberal donation funding on COVID-19 research (Issues No. 254 and 257; 14 April 2021).

## Pubblicazioni



**The Multifaceted Role of HSF1 in Pathophysiology: Focus on Its Interplay with TG2**  
International Journal of Molecular Sciences, 2021



International Journal of  
*Molecular Sciences*



Review

### The Multifaceted Role of HSF1 in Pathophysiology: Focus on Its Interplay with TG2

Luca Occhigrossi <sup>1</sup>, Manuela D'Eletto <sup>1</sup>, Nikolai Barlev <sup>2,3</sup> and Federica Rossin <sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Biology, University of Rome 'Tor Vergata', 00133 Rome, Italy; luc.occhigrossi@gmail.com (L.O.); manuela.deletto@gmail.com (M.D.)

<sup>2</sup> Institute of Cytology, 194064 Saint-Petersburg, Russia; nick.a.barlev@gmail.com

<sup>3</sup> Moscow Institute of Physics and Technology (MIPT), 141701 Dolgoprudny, Russia

\* Correspondence: federicarossin@gmail.com

**Abstract:** The cellular environment needs to be strongly regulated and the maintenance of protein homeostasis is crucial for cell function and survival. HSF1 is the main regulator of the heat shock response (HSR), the master pathway required to maintain proteostasis, as involved in the expression of the heat shock proteins (HSPs). HSF1 plays numerous physiological functions; however, the main role concerns the modulation of HSPs synthesis in response to stress. Alterations in HSF1 function impact protein homeostasis and are strongly linked to diseases, such as neurodegenerative disorders, metabolic diseases, and different types of cancers. In this context, type 2 Transglutaminase (TG2), a ubiquitous enzyme activated during stress condition has been shown to promote HSF1 activation. HSF1-TG2 axis regulates the HSR and its function is evolutionary conserved and implicated in pathological conditions. In this review, we discuss the role of HSF1 in the maintenance of proteostasis with regard to the HSF1-TG2 axis and we dissect the stress response pathways implicated in physiological and pathological conditions.



## Publicazioni



**The STING/TBK1/IRF3/IFN type I pathway is defective in cystic fibrosis**  
Frontiers in Immunology - <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1093212>, 2023

 Frontiers in Immunology

TYPE Original Research  
PUBLISHED 27 February 2023  
DOI 10.3389/fimmu.2023.1093212

 Check for updates

**OPEN ACCESS**

EDITED BY  
Jörg Hermann Fritz,  
McGill University, Canada

REVIEWED BY  
Shamik Majumdar,  
National Institute of Allergy and Infectious  
Diseases (NIH), United States  
Ute Roming,  
Karolinska Institutet (KI), Sweden

\*CORRESPONDENCE  
Mauro Piacentini  
✉ [mauro.piacentini@unroma2.it](mailto:mauro.piacentini@unroma2.it)

SPECIALTY SECTION  
This article was submitted to  
Molecular Innate Immunity,  
a section of the journal  
Frontiers in Immunology

RECEIVED 08 November 2022  
ACCEPTED 14 February 2023  
PUBLISHED 27 February 2023

CITATION  
Occhigrossi L, Rossin F, Vilella VR,  
Esposito S, Abbate C, D'Eletto M,  
Farrace MG, Tosco A, Nardacci R,  
Fimia GM, Raia V and Piacentini M (2023)  
The STING/TBK1/IRF3/IFN type I pathway is  
defective in cystic fibrosis.  
Front. Immunol. 14:1093212.  
doi: 10.3389/fimmu.2023.1093212

### The STING/TBK1/IRF3/IFN type I pathway is defective in cystic fibrosis

Luca Occhigrossi<sup>1</sup>, Federica Rossin<sup>2</sup>, Valeria Rachel Vilella<sup>3</sup>,  
Speranza Esposito<sup>3,5</sup>, Carlo Abbate<sup>2</sup>, Manuela D'Eletto<sup>2</sup>,  
Maria Grazia Farrace<sup>2</sup>, Antonella Tosco<sup>4</sup>, Roberta Nardacci<sup>1,6</sup>,  
Gian Maria Fimia<sup>1,5</sup>, Valeria Raia<sup>3,4</sup> and Mauro Piacentini<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Epidemiology, Preclinical Research and Advanced Diagnostics, National Institute for Infectious Diseases (IRCCS 'L. Spallanzani', Rome, Italy, <sup>2</sup>Department of Biology, University of Rome 'Tor Vergata', Rome, Italy, <sup>3</sup>European Institute for Research in Cystic Fibrosis, at National Institute for Infectious Diseases (IRCCS 'L. Spallanzani', Rome, Italy, <sup>4</sup>Pediatric Unit, Department of Translational Medical Sciences, Regional Cystic Fibrosis Center, Federico II University Naples, Naples, Italy, <sup>5</sup>Department of Molecular Medicine, University of Rome 'La Sapienza', Rome, Italy, <sup>6</sup>Departmental Faculty of Medicine and Surgery, UniCamillus-Saint Camillus International University of Health and Medical Sciences, Rome, Italy

Cystic fibrosis (CF) is a rare autosomal recessive disease caused by mutations in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene. The most common mutation is F508del-CFTR ( $\Delta F$ ) which leads the encoded ion channel towards misfolding and premature degradation. The disease is characterized by chronic bronchopulmonary obstruction, inflammation and airways colonization by bacteria, which are the major cause of morbidity and mortality. The STING pathway is the main signaling route activated in the presence of both self and

## Funding

This work was supported in part by grants from the AIRC (IG2018-21880 to MP), **Fondazione Fibrosi Cistica (FFC#15/2020 to MP)**, the Italian Ministry of Health (Ricerca Corrente and Ricerca Finalizzata), Airalzh-AGYR2020 to FR. The authors acknowledge 5 x mille IRPEF -2019 and RF-2021-12373231 from the National Institute for Infectious Diseases IRCCS 'L. Spallanzani', Rome, Italy, MUR-PNRR M4C2I1.3 PE6 project PE00000019 Heal Italia (to MP).

## Pubblicazioni



### *Transglutaminase 2 Regulates Innate Immunity by Modulating the STING/TBK1/IRF3 Axis*

Journal of Immunology, 2021

The Journal of Immunology

### **Transglutaminase 2 Regulates Innate Immunity by Modulating the STING/TBK1/IRF3 Axis**

Luca Occhigrossi,<sup>\*1</sup> Federica Rossin,<sup>\*1</sup> Manuela D'Eletto,<sup>\*</sup> Maria Grazia Farrace,<sup>\*</sup> Fabiola Ciccocanti,<sup>†</sup> Linda Petrone,<sup>†</sup> Alessandra Sacchi,<sup>†</sup> Roberta Nardacci,<sup>†</sup> Laura Falasca,<sup>†</sup> Franca Del Nonno,<sup>†</sup> Ivana Palucci,<sup>‡</sup> Evgeni Smirnov,<sup>§</sup> Nick Barlev,<sup>§</sup> Chiara Agrati,<sup>†</sup> Delia Goletti,<sup>†</sup> Giovanni Delogu,<sup>‡</sup> Gian Maria Fimia,<sup>†,¶</sup> and Mauro Piacentini<sup>†,§</sup>

This work was supported in part by grants from the Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro (AIRC) (IG2018-21880 to M.P.), the **Fondazione per la Ricerca sulla Fibrosi Cistica (FFC#15/2020 to M.P.)**, the Regione Lazio (Gruppi di Ricerca, E56C18000460002, to M.P.), and the Italian Ministry of Health (Ricerca Corrente and Ricerca Finalizzata and COVID-2020-12371817 and COVID-2020-12371675). The authors also acknowledge the support of a grant from the Russian government program for the recruitment of leading scientists into Russian institutions of higher education through the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (Grant 14.W03.31.0029 to M.P.). F.R. was supported by the Fondazione Umberto Veronesi and

## Publicazioni



***Transglutaminase Type 2 regulates the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway in vertebrates***  
Cell Death and Disease, 2021

Rossin et al. *Cell Death and Disease* (2021)12:249  
<https://doi.org/10.1038/s41419-021-03485-2>

Cell Death & Disease

ARTICLE

Open Access

### Transglutaminase Type 2 regulates the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway in vertebrates

Federica Rossin<sup>1</sup>, Roberto Costa<sup>2</sup>, Matteo Bordi<sup>1,3</sup>, Manuela D'Eletto<sup>1</sup>, Luca Occhigrossi<sup>1</sup>, Maria Grazia Farrace<sup>1</sup>,  
Nicolai Barlev<sup>4,5</sup>, Fabiola Ciccocanti<sup>6</sup>, Silvia Muccioli<sup>2</sup>, Leonardo Chieragato<sup>2</sup>, Ildiko Szabo<sup>2</sup>, Gian Maria Fimia<sup>6,7</sup>,  
Mauro Piacentini<sup>1,4</sup> and Luigi Leanza<sup>1,2</sup>

## Pubblicazioni



*Transglutaminase type 2-dependent crosslinking of IRF3 in dying melanoma cells*  
Cell Death Discovery, 2022

CDD *press*

[www.nature.com/cddiscovery](http://www.nature.com/cddiscovery)

ARTICLE OPEN



### Transglutaminase type 2-dependent crosslinking of IRF3 in dying melanoma cells

Luca Occhigrossi<sup>1,2</sup>, Manuela D'Eletto <sup>1</sup>, Alessio Vecchio<sup>1</sup>, Mauro Piacentini <sup>1,2</sup> <sup>✉</sup> and Federica Rossin <sup>1</sup>

© The Author(s) 2022

### ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported in part by grants from the AIRC (IG2018-21880 to M.P.), **Fondazione Fibrosi Cistica (FFC#15/2020 to M.P.)**, Regione Lazio (Gruppi di ricerca, E56C18000460002, to M.P.), Heal Italy PE6 MUR, Airalz-AGYR2020 to F.R. The authors acknowledge 5 x mille IRPEF –2019 from the National Institute for Infectious Diseases IRCCS 'L. Spallanzani', Rome, Italy.

## Rendiconto economico



### AREA 3

#### Terapie dell'infezione broncopolmonare

#### Progetto FFC#15/2020

### Utilizzare la proteina STING come bersaglio specifico per combattere le infezioni batteriche nella fibrosi cistica



**Responsabile:**

**Mauro Piacentini**

(Università di Roma Tor Vergata, Dip. di Biologia)



**Periodo:**

01/09/2021-31/08/2022



**Grant assegnato:**

€ 70.000



**Usato per:**

- Materiale di consumo

€ 54.262,30

- Spese viaggio/convegni

€ 4.000,00

- Servizi scientifici

€ 309,27

€ 58.571,57



**Saldo (usato per altri progetti):**

€ 11.428,43