



**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#9/2020

**Proposte terapeutiche basate sulla risposta al
trattamento in laboratorio di mutazioni rare con
farmaci modulatori di CFTR**



Chi ha condotto la ricerca:

Responsabile: Paola Melotti
(Centro fibrosi cistica, AOUI Verona)



Partner: Marcel Bijvelds

(Erasmus Medical Centre, Rotterdam);
Giuseppe Castaldo (Centro CEINGE -
Biotecnologie Avanzate, Napoli)



Ricercatori coinvolti: 16



Qual è la durata dello studio: 2 anni

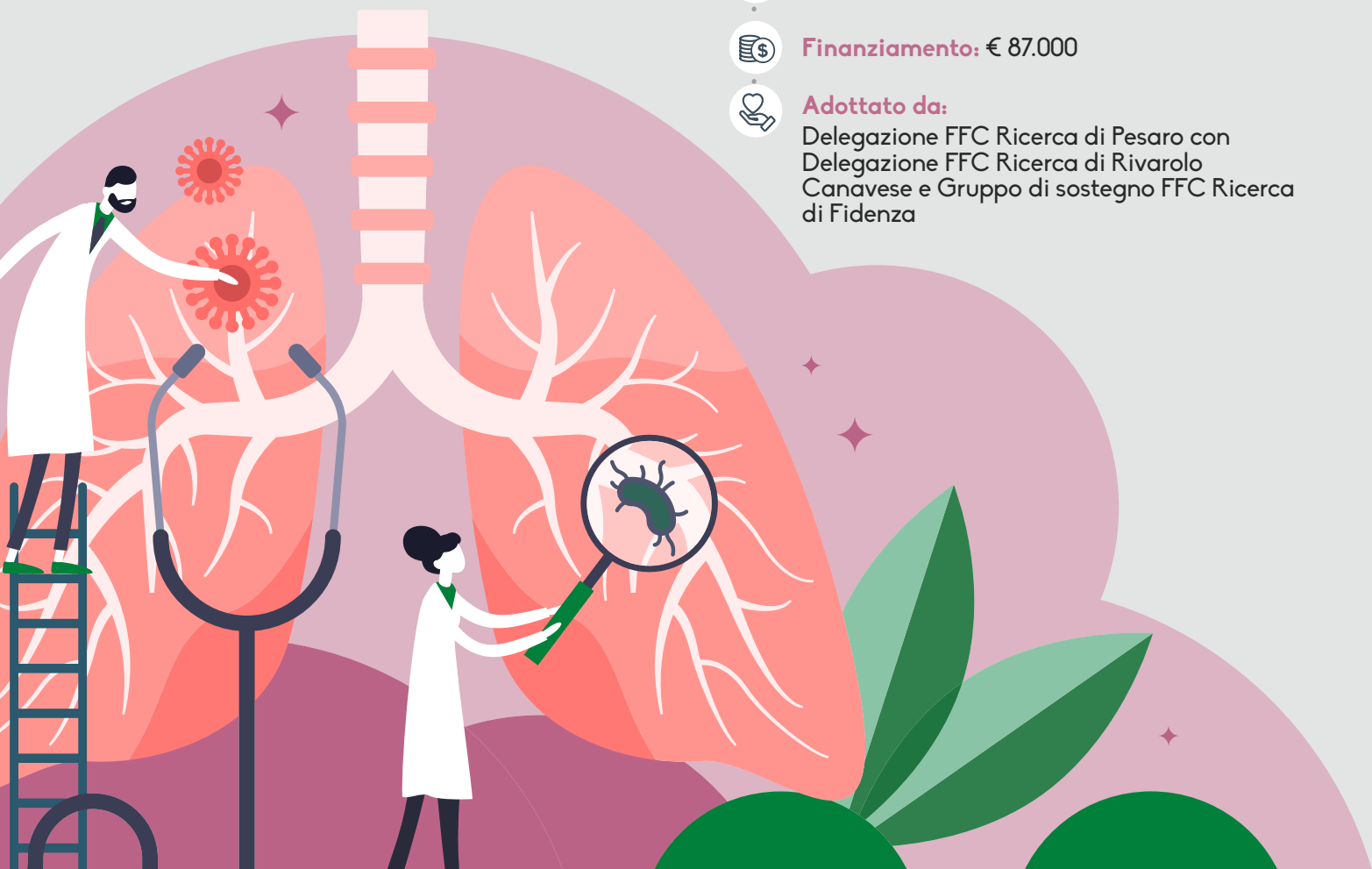


Finanziamento: € 87.000



Adottato da:

Delegazione FFC Ricerca di Pesaro con
Delegazione FFC Ricerca di Rivarolo
Canavese e Gruppo di sostegno FFC Ricerca
di Fidenza





Perché è importante

In Italia, circa un terzo delle persone con fibrosi cistica (FC) non ha a disposizione un farmaco modulatore CFTR. Per queste persone, la relativa rarità delle mutazioni di CFTR coinvolte rende difficile raccogliere numeri di pazienti sufficienti per organizzare studi clinici. In questi casi è utile studiare gli effetti dei modulatori su modelli *ex vivo*, provenienti da pazienti, per testare il recupero di funzione della proteina CFTR. Questo approccio basato sulla medicina personalizzata è promettente per prevedere la risposta del paziente ai farmaci.



Che cosa hanno usato i ricercatori

Sono stati usati organoidi intestinali (da biopsie rettali) e cellule nasali (da spazzolamento nasale) di singole persone con FC portatori di mutazioni rare di CFTR per valutare l'efficacia di modulatori CFTR già approvati per altre mutazioni (tezacaftor, lumacaftor, elexacaftor, ivacaftor) o non (ELX-02, PTC-124 e altri in fase di analisi preclinica).



Che cosa hanno fatto i ricercatori

Attraverso analisi specifiche è stata valutata la funzione di CFTR (per il trasporto di cloro e bicarbonato), la presenza di proteina canale e l'espressione genica di CFTR (cioè il livello di RNA messaggero) nelle cellule dopo l'aggiunta dei farmaci.



Che cosa hanno ottenuto

Sulle cellule con almeno una mutazione stop su CFTR, il trattamento con il solo PTC-124 o ELX-02 non ha mostrato effetti significativi; l'aggiunta di ivacaftor ha raddoppiato la secrezione di cloro che è ulteriormente aumentata aggiungendo tezacaftor/elexacaftor. Varie mutazioni di CFTR trattate con combinazioni di tezacaftor/lumacaftor/elexacaftor/ivacaftor hanno mostrato un significativo recupero della funzione CFTR (fino a quadruplicare). Risultati simili sono stati ottenuti nelle cellule intestinali e nasali di vari pazienti con limiti/vantaggi specifici dei due diversi modelli potenzialmente complementari.



Che cosa succederà ora

Quando il farmaco è stato reso disponibile per la terapia, gli effetti clinici nei singoli pazienti si sono rivelati coerenti con i risultati ottenuti precedentemente in laboratorio.

Questi saggi potrebbero far prevedere la risposta dei singoli pazienti ai farmaci e quindi supportare l'autorizzazione per la terapia con modulatori di CFTR per persone con mutazioni di CFTR rare per i quali sono impossibili studi sperimentali classici.

Per saperne di più



Obiettivi

Messa a punto di sistemi diagnostici (test *ex vivo*) per testare nelle cellule del singolo malato con FC l'efficacia di farmaci modulatori di CFTR, particolarmente nei casi con mutazioni rare e orfane di terapie

Il progetto si inserisce nel filone di ricerca per la messa a punto di sistemi diagnostici per testare nelle cellule della singola persona con FC l'efficacia di farmaci modulatori di CFTR, particolarmente nei casi con mutazioni rare e orfane di terapie disponibili. Lo studio ha lo scopo di usare cellule nasali (da spazzolamento della mucosa) e intestinali (da minibiopsia rettale) di persone con FC portatori di mutazioni CFTR rare e orfane di terapia, per proporre e monitorare il loro trattamento con farmaci modulatori di CFTR. Per 65 pazienti (il 90% ha partecipato alla prima parte dello studio europeo multicentrico HIT-CF, hitcf.org) sarà analizzata la funzione CFTR in organoidi intestinali e cellule nasali in risposta a potenziatori e correttori (ivacaftor, lumacaftor, tezacaftor, elexacaftor), e a farmaci sperimentali, inclusi alcuni attivi su mutazioni stop. Il follow-up dei pazienti, con trattamento indicato dal test *ex vivo*, verrà fatto in due centri (Centro FC, Azienda Ospedaliera Verona; Centro FC, Ospedale Bambino Gesù Roma) e consentirà la verifica della capacità dei test sperimentali di prevedere l'efficacia dei farmaci testati, sia sulla base di parametri clinici che su quelli di funzionalità CFTR *in vivo* (test del sudore, potenziali nasali, corrente di corto circuito intestinale). Lo studio potrebbe fornire supporto a nuove prospettive per la terapia FC, in particolare per pazienti che altrimenti non possono attualmente usufruire di farmaci modulatori di CFTR.



Risultati

I modelli *ex vivo* di cellule provenienti da persone con FC si sono dimostrati efficaci nel prevedere la risposta dei pazienti ai farmaci

In Italia, circa un terzo delle persone con fibrosi cistica non ha a disposizione alcun modulatore CFTR approvato.

Usando i riscontri in organoidi intestinali (da biopsie rettali) e cellule nasali (da spazzolamento nasale) di singole persone con FC portatori di rare mutazioni CFTR si propone il loro trattamento, sono state effettuate misurazioni della funzione CFTR per valutare l'efficacia dei farmaci modulatori già approvati per altre mutazioni (tezacaftor, lumacaftor, elexacaftor, ivacaftor) o non (ELX-02, PTC-124, altri in fase preclinica) in 3D (saggio FIS) e 2D (camere di Ussing). Per le mutazioni stop e le mutazioni di splicing è stata valutata la presenza di trascritti (cioè l'mRNA di CFTR) e il livello necessario per l'effetto terapeutico. Nelle cellule intestinali è stata allestita la valutazione del trasporto di bicarbonato oltre a quello del cloro. Cellule con almeno una mutazione stop su CFTR dopo trattamento con il solo PTC-124 o ELX-02 non hanno mostrato effetti significativi; l'aggiunta di ivacaftor ha almeno raddoppiato la loro secrezione di cloro che è ulteriormente aumentata aggiungendo tezacaftor/elexacaftor. Varie mutazioni di CFTR trattate con combinazioni di tezacaftor/lumacaftor/elexacaftor/ivacaftor hanno mostrato un significativo recupero della funzione CFTR (fino a quadruplicare). Risultati simili sono stati ottenuti nelle cellule intestinali e nasali di vari pazienti con limiti/vantaggi specifici dei due diversi modelli potenzialmente complementari. Quando il farmaco è stato reso disponibile per terapia, gli effetti clinici nei singoli pazienti si sono rivelati coerenti con i risultati prima ottenuti in laboratorio. Questi saggi potrebbero infatti far prevedere la risposta dei pazienti ai farmaci e quindi supportare l'autorizzazione per la terapia con modulatori di CFTR per pazienti con mutazioni rare per i quali sono impossibili studi sperimentali classici.

Publicazioni



Revisiting the Role of Leukocytes in Cystic Fibrosis Cells, 2021



Review

Revisiting the Role of Leukocytes in Cystic Fibrosis

Monica Averna ¹, Paola Melotti ² and Claudio Sorio ^{3,*}

¹ Department of Experimental Medicine (DIMES), University of Genova, 16132 Genova, Italy; monica.averna@unige.it

² Cystic Fibrosis Centre, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata Verona, 37126 Verona, Italy; paola.melotti@aovr.veneto.it

³ Department of Medicine, General Pathology Division, University of Verona, 37134 Verona, Italy

* Correspondence: claudio.sorio@univr.it; Tel: +39-045-802-7688

Author Contributions: Conceptualization C.S., M.A., P.M.; writing—original draft preparation, C.S., M.A.; writing—review and editing, C.S., M.A., P.M.; visualization, M.A.; supervision, C.S. project administration, M.A., C.S.; funding acquisition, M.A., C.S., P.M. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: The authors are supported by grants of Italian Cystic Fibrosis Research Foundation (FFC), grant numbers: FFC #13/2018 (Delegazione FFC di Tradate Gallarate) to C.S., #12/2019 (Delegazione FFC di Torino) to M.A., #9/2020 (Delegazione FFC di Pesaro, Rivarolo Canavese e Gruppo sostegno FFC di Fidenza) to P.M., Lega Italiana Fibrosi Cistica onlus (C.S. and P.M.), and American CFF, grant number Assael08A0 (P.M.).

Acknowledgments: We acknowledge the contribution of Carlo Castellani (Cystic Fibrosis Center, IRCCS Istituto Giannina Gaslini, Genova, Italy) for his clinical support and precious advice and Marco Pedrazzi (Department of Experimental Medicine (DIMES), University of Genova) for technical support.

Publicazioni



Therotyping of the Rare CFTR Variants E193K and R334W in Rectal Organoid-Derived Epithelial Monolayers

Journal of Personalized Medicine, 2022



Article

Therotyping of the Rare CFTR Variants E193K and R334W in Rectal Organoid-Derived Epithelial Monolayers

Fabiana Ciciriello ^{1,*}, Marcel J. C. Bijvelde ^{2,*}, Federico Alghisi ¹, Kelly F. Meijse ², Luca Cristiani ¹, Claudio Sorio ³, Paola Melotti ⁴, Alessandro G. Fiocchi ^{1,5}, Vincenzina Lucidi ^{1,4} and Hugo R. De Jonge ^{2,4}

¹ Cystic Fibrosis Unit, Department of Pediatric Subspecialties, Bambino Gesù Children's Hospital, IRCCS, 00165 Rome, Italy; federico.alghisi@opbg.net (F.A.); luca.cristiani@opbg.net (L.C.); alessandro.fiocchi@allegriallergia.net (A.G.F.); vincenzina.lucidi@gmail.com (V.L.)

² Department of Gastroenterology & Hepatology, Erasmus MC University Medical Center, P.O. Box 2040, 3000 CA Rotterdam, The Netherlands; k.meijse@erasmusmc.nl (K.F.M.); h.dejonge@erasmusmc.nl (H.R.D.J.)

³ Department of Medicine, General Pathology Division, University of Verona, 37134 Verona, Italy; claudio.sorio@univr.it

⁴ Cystic Fibrosis Centre, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona, 37126 Verona, Italy; paola.melotti@aovr.veneto.it

⁵ Division of Allergy, Bambino Gesù Children's Hospital, IRCCS, 00165 Rome, Italy

* Correspondence: fabiana.ciciriello@opbg.net (F.C.); m.bijvelde@erasmusmc.nl (M.J.C.B.)

† These authors contributed equally to this work.

‡ These authors contributed equally to this work.

Author Contributions: Conceptualization, F.C., F.A., V.L. and H.R.D.J.; methodology, M.J.C.B., K.F.M., C.S., P.M. and H.R.D.J.; recruiting of subjects and collection of rectal biopsies, F.A., F.C. and L.C.; analysis of the results, M.J.C.B., K.F.M. and H.R.D.J.; figures preparation, F.C., V.L., F.A. and M.J.C.B.; writing—original draft, F.C., M.J.C.B., F.A., V.L. and H.R.D.J.; methods and results, M.J.C.B. and H.R.D.J.; review and editing, all; supervision, A.G.F., V.L. and H.R.D.J. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by Bambino Gesù Children's Hospital "Ricerca Corrente 2021", Fondazione Italiana Fibrosi Cistica: FFC #3/2015 (Delegazione FFC della Valpolicella and Delegazione FFC di Belluno con i Rocciatori di Fonzaso), and FFC #9/2020 (Delegazione FFC di Pesaro con Delegazione FFC di Rivarolo Canavese and Gruppo di sostegno FFC di Fidenza), the CFF-USA (DEJONG16GO) and HIT-CF2 (Dutch CF Foundation, NCF5).

Institutional Review Board Statement: The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, and the protocol was approved by the Ethics Committee of the Bambino Gesù Children's Hospital of Rome, IRCCS (protocol number 851, on 7 August 2020). Non-CF reference HIOs were obtained with IRB approval of the Erasmus University Medical Centre Rotterdam.

Publicazioni



CFTR Modulators Rescue the Activity of CFTR in Colonoids Expressing the Complex Allele p.R74W;V201M;D1270N/dele22_24

International Journal of Molecular Sciences, 2023



International Journal of
Molecular Sciences



Case Report

CFTR Modulators Rescue the Activity of CFTR in Colonoids Expressing the Complex Allele p.[R74W;V201M;D1270N]/dele22_24

Karina Kleinfelder ¹, Elena Somenza ^{1,†}, Alessia Farinazzo ¹, Jessica Conti ¹, Virginia Lotti ^{1,‡}, Roberta Valeria Latorre ¹, Luca Rodella ², Arianna Massella ², Francesco Tomba ², Marina Bertini ³, Claudio Sorio ^{1,*} and Paola Melotti ^{3,*}

¹ Department of Medicine, Division of General Pathology, University of Verona, Strada Le Grazie 8, 37134 Verona, Italy

² Endoscopic Surgery Unit, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata Verona, 37126 Verona, Italy

³ Cystic Fibrosis Centre, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata Verona, Piazzale Stefani, 1, 37126 Verona, Italy

* Correspondence: claudio.sorio@univr.it (C.S.); paola.melotti@aovr.veneto.it (P.M.)

† Current address: Department of Molecular and Translational Medicine, University of Brescia, Viale Europa 11, 25123 Brescia, Italy.

‡ Current address: Microbiology Section, Department of Diagnostic and Public Health, University of Verona, 37134 Verona, Italy.

Author Contributions: Conceptualization, K.K., C.S. and P.M.; methodology, K.K., E.S., A.F., J.C., V.L., R.V.L. and M.B.; validation, K.K.; formal analysis, K.K., C.S. and P.M.; investigation, K.K., L.R., A.M., F.T., P.M. and C.S.; resources, P.M. and C.S.; data curation, K.K. and C.S.; writing—original draft preparation, K.K.; writing—review and editing, K.K., C.S. and P.M.; visualization, K.K., C.S. and P.M.; supervision, C.S. and P.M.; project administration, C.S. and P.M.; funding acquisition, P.M. and C.S. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the Italian Cystic Fibrosis Research Foundation (FFC), grant numbers FFC #13/2018 (Delegazione FFC di Tradate Gallarate) to C.S. and #9/2020 (Delegazione FFC di Pesaro, Rivarolo Canavese e Gruppo sostegno FFC di Fidenza) to P.M.; Lega Italiana Fibrosi Cistica onlus (C.S. and P.M.); and American CFF, grant number Assael08A0 (P.M.).

Institutional Review Board Statement: This study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki and approved by the Institutional Review Board CRCFC-CFTR028 on 12 June 2019. The patient signed informed consent.

Abstract presentati a congressi scientifici



- **Functional restoration of complex CFTR allele (p.IR74W;R1070W;D1270N1) in trans with CFTR dele22_24 by CFTR modulators in colonoids**
17th ECFS Basic Science Conference, Albufeira (Portugal), 30 March-02 April 2022
- **Therotyping of the CFTR variant L227R (+/+) in rectal organoids predicts marginal response to CFTR modulators in vivo**
17th ECFS Basic Science Conference, Albufeira (Portugal), 30 March-02 April 2022
- **Effects of ivacaftor therapy confirm the results of therotyping using rectal and nasal epithelial cells of a CF patient carrying the ultra-rare CFTR genotype W57G/A234D**
17th ECFS Basic Science Conference, Albufeira (Portugal), 30 March-02 April 2022
- **Examples of therotyping using rectal organoids of rare CFTR variants: a clinical, regulatory and organizational challenge**
XXVII Congresso Italiano della Società Italiana per lo studio della Fibrosi Cistica –
XVII Congresso Nazionale della Società Italiana per lo Studio della Fibrosi Cistica –
Napoli, 20-23 ottobre 2021
- **Therotyping of the rare CFTR genotype A559T/A559T in rectal organoids and nasal cells reveals a relevant response to the combination of elxacaftor and tezacaftor**
18th ECFS Basic Science Conference - 29th March - 1st April 2023 Dubrovnik,
Croatia

Rendiconto economico



AREA 1

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

Progetto FFC#9/2020

Proposte terapeutiche basate sulla risposta al trattamento in laboratorio di mutazioni rare con farmaci modulatori di CFTR



Responsabile:

Paola Melotti

(Centro fibrosi cistica, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata Verona)



Periodo:

01/09/2020-31/08/2022



Grant assegnato:

€ 87.000



Usato per:

- Materiale di consumo € 54.400,00
- Spese viaggio/convegni € 2.000,00
- Borse di studio € 30.000,00
- Servizi scientifici € 600,00

€ 87.000,00



Saldo (usato per altri progetti):

€ 0