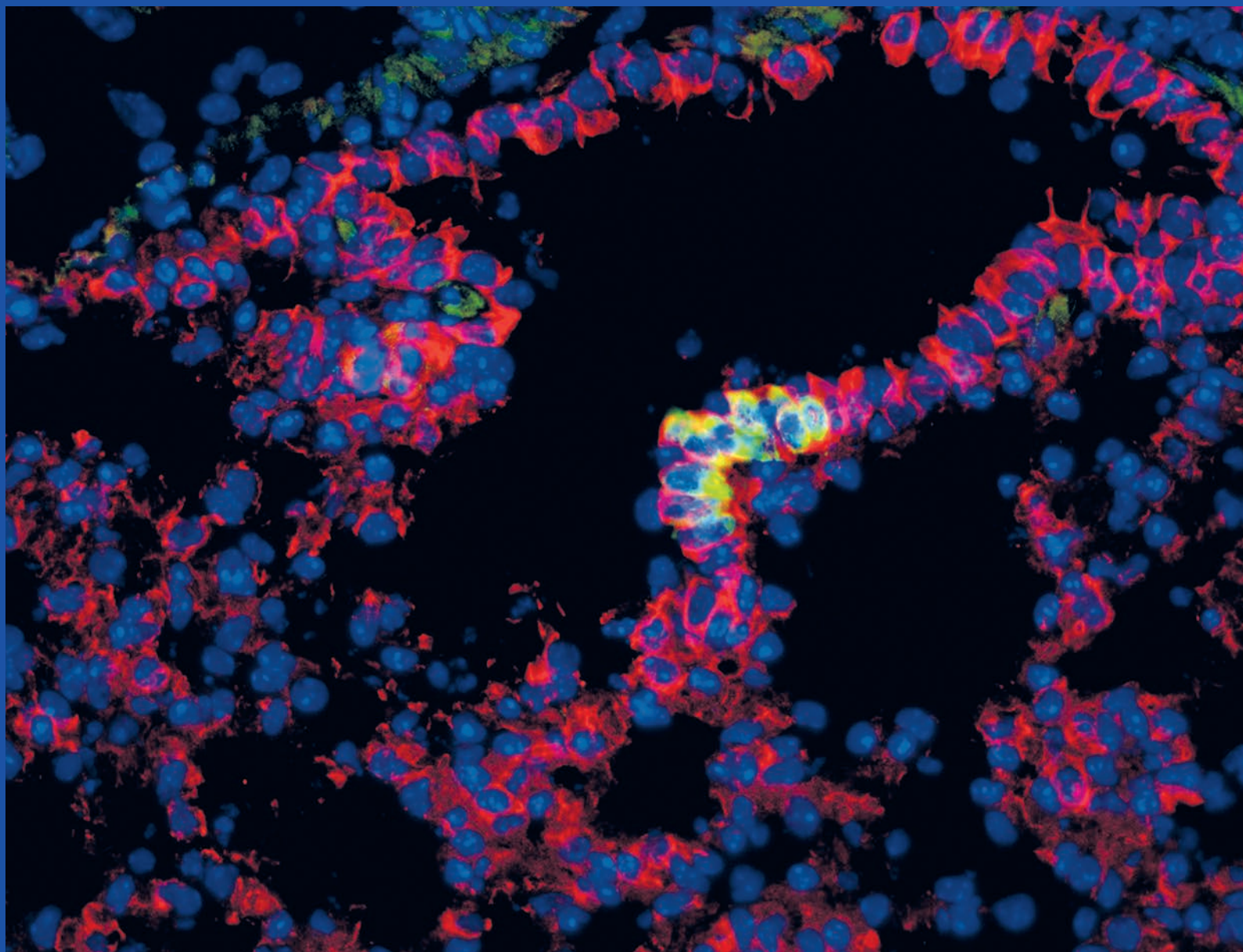


**Fondazione Ricerca
Fibrosi Cistica - Onlus**
italian cystic fibrosis research foundation



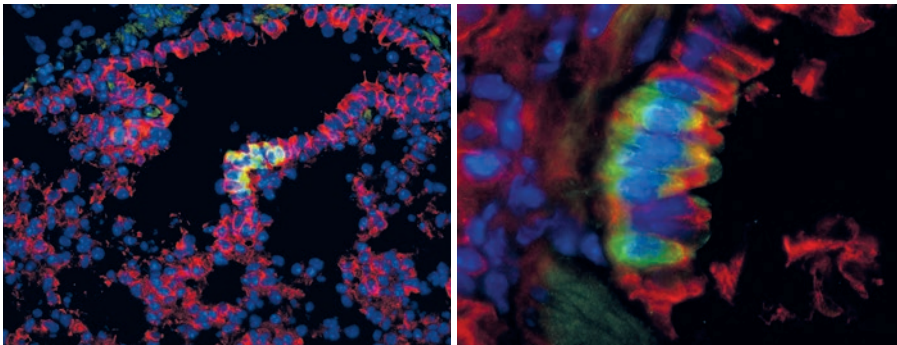
XVI CONVENTION D'AUTUNNO DEI RICERCATORI IN FIBROSI CISTICA

16th Convention of Investigators in Cystic Fibrosis

22-24 November 2018

Verona, Camera di Commercio Congress Center

In copertina / On the cover



Sezioni di polmone di topo *F508del-CFTR*^{+/+} trapiantato con Mesoangioblasti murini. I Mesoangioblasti, identificabili attraverso l'espressione della Green Fluorescent Protein (GFP) in verde, sono in grado di raggiungere e integrarsi nell'epitelio polmonare a livello dei bronchioli (cellule epiteliali in rosso, evidenziabili tramite espressione della proteina epiteliale E-Caderina) dopo una singola iniezione per via sistemica, fino a 1 mese dal trapianto. In blu (DAPI), i nuclei di tutte le cellule presenti nella sezione (epiteliali del topo *F508del-CFTR*^{+/+} e Mesoangioblasti), in nero il lume del bronchiolo.

*Transverse section of lung lobe of *F508del-CFTR*^{+/+} mouse transplanted with mouse Mesoangioblasts. The picture shows the ability of Mesoangioblasts, recognizable in green by the expression of the Green Fluorescent Protein (GFP), to reach and engraft the bronchial pulmonary epithelium up to 1 month upon a single systemic transplantation (the epithelial cells are labeled in red through the expression of the epithelial marker E-Cadherin). All the nuclei (both the epithelial cells from the *F508del-CFTR*^{+/+} mouse and the Mesoangioblasts) in the lung section are marked in blue (DAPI), in black the lumen of the bronchiole.*

Graziella Messina e coll.(Dip. Bioscienze, Università di Milano), Nicoletta Pedemonte e coll. (Lab. Genetica Molecolare, Ist. G. Gaslini, Genova). Da Progetto FFC#5/2017 (Abs n. 62)

16th CONVENTION OF FFC INVESTIGATORS IN CYSTIC FIBROSIS

XVI Convention d'Autunno dei Ricercatori in Fibrosi Cistica

Centro Congressi Camera di Commercio di Verona
Verona, 22-24 Novembre 2018

Progress of research projects funded by FFC (2016-2018)

Presentazione dello stato di avanzamento dei progetti
finanziati dalla Fondazione Ricerca Fibrosi Cistica
(2016-2018)



**Fondazione Ricerca
Fibrosi Cistica - Onlus**
italian cystic fibrosis research foundation



Azienda Ospedaliera
Universitaria Integrata
Verona



Camera di Commercio
Verona

Program at a glance

■ Thursday, November 22nd

09:00 - 11:00 *Registration and poster display*

11:00 - 11:20 *Introduction and greetings from the FFC Foundation*

11:20 - 13:20 **Plenary Session 1**

- *Overcome the resistance of *Pseudomonas aeruginosa**
- *Unexplored areas in CF lung infection*

13:20 - 14:20 *Lunch bag and Poster view*

14:20 - 16:20 **Plenary Session 2**

- *Towards new modulators of F508del-CFTR*

16:50 - 19:10 **Plenary Session 3**

- *Clinical perspectives*
- *Integrated research methodology: face-to-face laboratory & clinics*

■ Friday, November 23rd

08:30 - 10:40 **Plenary Session 4**

- *New targets and rescue mechanisms of F508del-CFTR*

10:40 - 11:10 *Coffee break and Poster view*

11:10 - 13:00 **Plenary Session 5**

- *Other targets to rescue and stabilize CFTR*
- *CFTR modulators: research and clinical application*

14:00 - 16:15 **Plenary Session 6**

- *Towards new potential anti-inflammatory therapies*
- *Anti-inflammatory agents with CFTR-recovery action*

16:45 - 18:10 **Plenary Session 7**

- *Lung transplantation*
- *New mouse models and new explorations in CF microbiology*

20:00 - 22:30 *Welcome Dinner*

■ Saturday, November 24th

09:00 - 11:20 **Plenary Session 8**

- *Antimicrobial peptides*
- *Non-tuberculous mycobacteria and *Aspergillus* in CF*

11:20 - 11:45 *Coffee break and Poster view*

11:45 - 14:00 **Plenary Session 9**

- *Corrective approaches for non-F508del-CFTR mutations and gene-cell therapy*
- *In vivo, ex vivo and in vitro predictive tests and models to evaluate the CFTR function*

14:00 - 14:05 *Closing remarks*

14:05 - 14:30 *Poster detachments*

Program /Index

Thursday, November 22nd

09:00 - 11:00 Registration and poster display

11:00 - 11:20 Introduction and greetings from the FFC Foundation

11:20 - 13:20

Plenary Session 1

OVERCOME THE RESISTANCE OF PSEUDOMONAS AERUGINOSA

Chairmen: **Bevivino A, Ross M**

1. **Leoni L** (Univ. Roma Tre) 9
Drug repurposing for antivirulence therapy against Pseudomonas aeruginosa (FFC#17/2018, New), 8'
2. **Biavasco F** (Univ. Politecnica Marche) 9
Induction of viable but non-culturable forms, possibly responsible for treatment failure, in in vitro biofilms of Pseudomonas aeruginosa. Role of antibiotics and antibiotic concentrations (FFC#13/2017, In progress), 8'
3. **Sanguinetti M** (Univ. Cattolica, Roma), **Vitali A** (ICRM, CNR, Milano), **Iafisco M** (ISTEC, CNR, Faenza), 10
Catalucci D (IRGB, CNR, Milano)
Biocompatible and inhalable antimicrobial-loaded nanoparticles for the counteraction of biofilm formation and antibiotic resistance: towards a potential new therapy for CF related infections (FFC#20/2018, New), 8'

Discussion (10')

4. **Fraziano M** (Univ. Tor Vergata, Roma) 11
Preclinical study of a host-directed therapy based on Metformin and bioactive liposomes for the control of multidrug resistant P. aeruginosa infection (FFC#14/2017, Concluded), 15'
5. **Visca P** (Univ. Roma Tre), **Peri F** (Univ. Milano Bicocca), **Sorrentino R** (Univ. "Federico II", Napoli) 12
Exploiting the potential of gallium for the treatment of Pseudomonas aeruginosa pulmonary infection (FFC#18/2017, Concluded), 15'
6. **Pistocchi AS** (Univ. Milano) 13
In vivo validation of phage therapy against Pseudomonas aeruginosa infections using the new zebrafish (Danio rerio) animal model (FFC#22/2017, Concluded), 15'

Discussion (10')

UNEXPLORED AREAS IN CF LUNG INFECTION

7. **Bragonzi A** (San Raffaele Inst., Milano), **Corvol H** (Inserm, Parigi) 14
Cystic fibrosis modifier genes related to Pseudomonas aeruginosa lung disease (FFC#15/2016, Concluded), 15'
8. **Antonelli G** (Univ. La Sapienza, Roma) 15
Ex vivo study on Type I and III interferon response and virus-bacteria interactions in CF patients: a new approach to try to develop alternative therapeutic strategy (FFC#14/2018, New), 8'

Discussion (8')

13:20 - 14:20 Lunch bag and Poster view

14:20 - 16:20

Plenary Session 2

TOWARDS NEW MODULATORS OF F508del-CFTR

Chairmen: **Galiotta LJV, Braggion C**

9. **Bandiera T** (IIT, Genova), **Galiotta LJV** (TIGEM, Napoli), **Pedemonte N** (Ist. Gaslini, Genova) 16
The lead corrector ARN23765 towards its preclinical development (FFC#TFCF & FFC#TFCF extension), 20'

Discussion (5')

10. **Ghigo A** (Univ. Torino) 16
Development of a PI3K -derived peptide as a novel F508del-CFTR potentiator (FFC#11/2017, Concluded), 15'
11. **Hirsch E** (Univ. Torino) 17
In depth-characterization of the molecular mechanisms underlying PI3K -mediated regulation of CFTR (FFC#8/2018, New), 8'
12. **Millo E, Cichero E** (Univ. Genova) 18
Pharmacophore and pharmacokinetic filtering tools guiding for the design and synthesis of novel thiazole-containing and VX-809 hybrid derivatives as F508del correctors (FFC#6/2017, Concluded), 15'

Discussion (13')

13. **Signorelli P** (Univ. Milano) 19
Myriocin potential as a phenotype-modifier in Cystic Fibrosis (FFC#11/2016, Concluded), 15'
14. **Barraja P** (Univ. Palermo), **Scudieri P** (TIGEM, Napoli) 20
Towards the discovery of new correctors based on nitrogen heterocyclic systems (FFC#4/2018, New), 8'
15. **Rusnati M** (Univ. Brescia), **Fossa P** (Univ. Genova), **Orro A** (ITB, CNR, Milano) 21
Rescuing defective CFTR applying a drug repositioning strategy based on computational studies, surface plasmon resonance and cell-based assays (FFC#11/2018, New), 8'

Discussion (13')

16:20 - 16:50 Coffee break and Poster View

Plenary Session 3

CLINICAL PERSPECTIVES

Chairmen: **Romani L, Lucidi V, Volpi S**

- 16. Castellani C** (Centro FC, Ist. G. Gaslini, Genova) 22
Outcomes of spontaneous application of carrier screening for cystic fibrosis: follow-up of its effects on birth prevalence, neonatal screening and reproductive behaviour of carrier couples (FFC#26/2015, Concluded), 15'
 Discussion (5')
- 17. Battezzati A** (DeFENS, Univ. Milano), **Colombo C** (Centro FC, Policl. Mangiagalli, Milano), 22
Lucidi V (Osp. Bambino Gesù, Roma), **Magazzù G** (Univ. Messina), **Mari A** (IN, CNR, Padova)
Italian multicenter study of glucose tolerance defects In cystic fibrosis (FFC#20/2016, Concluded), 15'
 Discussion (5')
- 18. Signoretto C** (Univ. Verona) 23
Environmental and human reservoirs of Pseudomonas aeruginosa and other bacterial species colonizing the lower airways of cystic fibrosis patients (FFC#22/2016, Concluded), 15'
- 19. Taccetti G** (Centro FC, Osp. "A Meyer", Firenze) 24
Pseudomonas aeruginosa eradication in patients with cystic fibrosis: a randomised multicentre study comparing classic treatment protocols with classic treatment together with antibiotic treatment of upper airways (FFC#30/2015, Concluded), 15'
 Discussion (8')
- 20. Terlizzi V** (Centro FC, Osp. "A. Meyer", Firenze), **Padoan R** (Centro Supp. FC, Spedali Civili, Brescia) 25
Antonella T (Centro FC, Univ. "Federico II", Napoli), **Claut LE** (IRCCS Ca' Granda, Milano)
Cystic Fibrosis screen positive inconclusive diagnosis (CFSPID): an italian multicenter survey evaluating prevalence, clinical data, management and outcome (FFC#30/2018, New), 8'
 Discussion (5')

INTEGRATED RESEARCH METHODOLOGY: FACE-TO-FACE LABORATORY & CLINICS

- 21. Romano M, Lanuti P** (Univ. Chieti-Pescara) 26
Identification and validation of circulating microvesicle analysis as a new ex vivo assay to monitor cystic fibrosis disease (FFC#29/2018, New), 12'
- Braggion C** (Centro FC, Osp. "A. Meyer", Firenze) 27
Critical comments and proposals. What part of the research project shall clinicians be involved in: the original idea, the design or the study implementation? 12'
 Discussion (25')

Friday, November 23rd

8:30 - 10:40

Plenary Session 4

NEW TARGETS AND RESCUE MECHANISMS OF F508del-CFTR

Chairmen: **Pedemonte N, Cipolli M**

- 22. Luini A** (IBP, CNR, Napoli) 28
Understanding the mode of action of regulatory pathways controlling F508del- CFTR proteostasis and developing drugs that rescue F508del-CFTR by targeting these pathways synergistically (FFC#6/2016, Concluded), 15'
- 23. Moran O** (IBF, CNR, Genova) 29
Identification of the binding sites of CFTR correctors (FFC#8/2016, Concluded), 15'
- 24. Pedemonte N** (Ist. G. Gaslini, Genova), **Cavalli A** (Univ. Bologna) 30
RNF5 inhibitors as potential drugs for Cystic Fibrosis basic defect (FFC#9/2017, In progress), 8'
 Discussion (10')
- 25. Cozza G** (Univ. Padova), **Tosco A** (Centro FC, Univ. "Federico II", Napoli), **Ferrari E** (IERFC, Milano) 31
Alternative strategies for F508del-CFTR repair: novel targets for drug discovery approach in Cystic Fibrosis (FFC#10/2017, Concluded), 15'
- 26. Salvi M** (Univ. Padova) 32
Modulation of protein kinases in the regulation of chaperone machinery leading F508del-CFTR fate (FFC#12/2017, Concluded), 15'
- 27. Galiotta LJV** (TIGEM, Napoli) 33
Identification of deubiquitinases and ubiquitin ligases that affect mutant CFTR rescue (FFC#2/2017, In progress), 8'
- 28. Ferrera L** (Ist. G. Gaslini, Genova) 34
Properties of airway mucus in cystic fibrosis: their modification by changes in the activity of CFTR and after application of bicarbonate (FFC#12/2016, In progress), 8'
 Discussion (12')
- 29. Armirotti A** (IIT, Genova) 35
Proteomic profiling of F508del-CFTR cells to identify new pharmacological targets for CF (FFC#1/2018, New), 8'
- 30. Baroni D** (IBF, CNR, Genova) 36
Dissecting the rescue mechanisms mediated by CFTR correctors (FFC#2/2018, New), 8'

31. **Gambari R** (Univ. Ferrara), **Corradini R** (Univ. Parma)..... 36
Revealing the microRNAs-transcription factors network in cystic fibrosis: from microRNA therapeutics to precision medicine (CF-miRNA-THER) (FFC#7/2018, New), 8'

Discussion (10')

10:40 - 11:10 Coffee break and Poster view

11:10 - 13:00

Plenary Session 5

OTHER TARGETS TO RESCUE AND STABILIZE CFTR

Chairmen: **Moran O, Minicucci L**

32. **Aureli M** (Univ. Milano), **Tamanini A** (AOUI, Verona)..... 37
Development of ganglioside GM1-based therapy to improve F508delCFTR rescue approaches (FFC#2/2018, New), 8'
33. **Piacentini M** (Univ. Tor Vergata, Roma), **Maiuri L** (IERFC, Milano), **Delogu G** (Univ. Cattolica, Roma) 38
Dissecting the mechanism of action of the TG2 inhibitor cysteamine on Cystic Fibrosis (FFC#10/2018, New), 8'

Discussion (8')

CFTR MODULATORS: RESEARCH AND CLINICAL APPLICATION

- Galietta LJ** (TIGEM, Napoli)..... 39
Close to the edge: state of the art of the F508del-CFTR modulators and new cell types, 30'
- Salvatore D** (Centro FC, Osp. San Carlo, Potenza) 40
Ivacaftor in Italian CF patients with residual CFTR function, 15'
- Carnovale V** (Centro FC adulti, Az. Osp. "Federico II", Napoli) 41
Retrospective observational study in patients with cystic fibrosis homozygous for F508del, treated for compassionate use programme, with Ivacaftor/Lumacaftor (Orkambi), 15'

Discussion (25')

13:00 - 14:00 Lunch bag and Poster view

14:00 - 16:15

Plenary Session 6

TOWARDS NEW POTENTIAL ANTI-INFLAMMATORY THERAPIES

Chairmen: **Dehecchi C, Pradal U**

34. **Ungaro F** (Univ. "Federico II", Napoli), **Merkel OM** (Ludwig-Maximilians Universität, München)..... 42
Enabling pulmonary delivery of siRNA in cystic fibrosis lung inflammation: therapeutic potential of hybrid lipid/polymer nanoparticles (FFC#23/2017, Pilot proj. concluded: FFC#25/2018, Extension), 20'
35. **Bianchi ME** (Osp. San Raffaele, Milano) 43
Preclinical testing in cystic fibrosis of a repurposed molecule targeting HMGB1 (FFC#22/2018, New), 8'
36. **Pasut G** (Univ. Padova), **Percudani R** (Univ. Parma)..... 44
Therapeutic potential of a long-acting lung-specific DNase (DNase2b) for the treatment of CF (FFC#9/2018, New), 8'

Discussion (10')

37. **Recchiuti A** (Univ. Chieti-Pescara) 44
Resolvin D1 for Targeting Chronic Lung Inflammation, Infection, and Damage in Cystic Fibrosis (FFC#19/2016, Concluded), 15'
38. **Bellet MM** (Univ. Perugia) 45
Thymosin alpha 1 in cystic fibrosis: from the lung to the gut (FFC#21/2018, New), 8'
39. **Dehecchi MC** (AOUI Verona), **Guaragna A** (Univ. Federico II, Napoli)..... 46
Evaluation of anti-inflammatory treatments for CF lung disease in murine models of lung infection in vivo (FFC#23/2018, New), 8'
40. **Romani L** (Univ. Perugia)..... 47
Pharmacology and therapeutics of inhaled indoles, as aryl hydrocarbon receptor ligands, in cystic fibrosis (FFC#24/2018, New), 8'

Discussion (10')

ANTI-INFLAMMATORY AGENTS WITH CFTR RECOVERY ACTION

41. **Chilin A** (Univ. Padova)..... 48
New generation trimethylangelicin (TMA) analogues for selective modulation of defective CFTR or inflammation (FFC#1/2016, Concluded), 15'
42. **Romani L** (Univ. Perugia)..... 49
Anakinra in cystic fibrosis: from targeting pathogenic inflammation to correcting CFTR defect (FFC#9/2016, Concluded), 15'
 Discussion (10')

16:15 - 16:45 Coffee break and Poster view

Plenary Session 7

LUNG TRANSPLANTATION

Chairmen: **Leoni L, Castellani C**

43. **Nosotti M** (IRCCS, Fond. Ca' Granda, Milano). Speaker **Righi I** 50
Extracorporeal photopheresis as induction therapy to prevent acute rejection after lung transplantation in cystic fibrosis patients (FFC#24/2017, In progress), 10'
44. **Palleschi A** (IRCCS Fond. Ca' Granda, Milano), **Aliverti A** (Politecnico, Milano) 51
Use of multivolume MRI instead of ionizing imaging techniques for surveillance in young patients after lung transplantation for cystic fibrosis (FFC#27/2018, New), 8'
45. **Rea F** (Univ. Padova), **Schena FP** (Schena Foundation, Padova). Speaker **Lunardi F** 51
Identification of early molecular biomarkers of acute and chronic rejection in cystic fibrosis patients with lung transplant through the application of omics technologies (FFC#28/2018, New), 9'

Discussion (12')

NEW MOUSE MODELS AND NEW EXPLORATIONS IN CF MICROBIOLOGY

46. **Lorè NI** (San Raffaele Inst., Milano) 52
Phenotyping new genetically-diverse mouse models mirroring the complexity of the Cystic Fibrosis pathology (FFC#4/2017, In progress), 9'
47. **Boschi F** (Univ. Verona) 53
Testing the anti-inflammatory effects of matrix metalloprotease inhibitors in P. aeruginosa-infected CFTR-knockout mice by in vivo imaging techniques (FFC#21/2017, In progress), 8'
48. **Bevivino A** (ENEA Casaccia, Roma), **Mengoni A** (Univ. Firenze), **Segata N** (CIBIO, Trento) 54
A longitudinal metagenomic analysis to uncover microbial signatures of lung disease: unravelling host-microbial community interactions in humans and animal models (FFC#19/2017, In progress), 9'
49. **Cigana C** (San Raffaele Inst., Milano) 55
Off-target effects of CFTR-modulators in preclinical infection models (FFC#15/2018, New), 8'

Discussion (12')

20:00 - 22,30 Welcome Dinner

Saturday, November 24th

9:00 - 11:20

Plenary Session 8

ANTIMICROBIAL PEPTIDES

Chairmen: **Bragonzi A, Taccetti G**

50. **Pini A** (Univ. Siena), **d'Angelo I** (Univ. "Federico II", Napoli). Speaker **Quercini L** 56
Development of inhalable particles for optimal delivery of a potent antimicrobial molecule in P. aeruginosa infected lungs (FFC#17/2016, Concluded), 15'
51. **Mangoni ML** (Univ. La Sapienza, Roma) **Ferrera L** (Ist. G. Gaslini, Genova) 57
Frog skin-derived peptides for treatment of Pseudomonas aeruginosa lung infection and bronchial epithelial repair: advanced in vitro and in vivo characterization and development of polymeric nanoparticles for lung delivery (FFC#15/2017, Concluded), 15'
52. **Pizzo E** (Univ. "Federico II", Napoli) 58
Pre-clinical effectiveness of three human cryptic anti-biofilm peptides (GVF27, HVA36 and IMY47): efficacy against lung pathogens and studies in animals (FFC#16/2017, Concluded), 15'
53. **Notomista E, Pizzo E** (Univ. "Federico II", Napoli) 59
In vitro and in vivo efficacy of an antimicrobial and antibiofilm designed peptidomimetic against CF lung pathogens (FFC#18/2018, New), 8'

Discussion (13')

NON-TUBERCULOUS MYCOBACTERIA AND ASPERGILLUS IN CF

54. **Sabatini S** (Univ. Perugia) 60
Identification of new efflux pumps inhibitors able to contrast nontuberculous mycobacterial infections in cystic fibrosis patients (FFC#17/2017, Concluded), 15'
55. **Tortoli E** (San Raffaele Inst., Milano), **Colombo C** (Centro FC, IRCCS Policl. Mangiagalli, Milano), **Di Serio MC** 60
*(Univ. San Raffaele, Milano)
 Establishment of animal model to investigate pathogenesis of infection by Mycobacterium abscessus complex members in cystic fibrosis patients (FFC#20/2017, Concluded), 15'*

Discussion (10')

56. **Cirillo DM** (San Raffaele Inst., Milano). Speaker **Riva C** 61
Preclinical evaluation of liposomes carrying bioactive lipids as an immune therapeutic tool against in vivo infection with Mycobacterium abscessus (FFC#16/2018, New), 8'

57. Pasca MR (Univ. Pavia)	62
<i>New weapons against Mycobacterium abscessus and other nontuberculous mycobacteria (FFC#19/2018, New), 8'</i>	
58. Bartoloni A (AOU Careggi, Firenze), Viscoli C (Univ. Genova), Cariani L (Fondaz. IRCSS Ca' Granda, Milano), 63	
Fiscarelli EV (Osp. Bambino Gesù, Roma)	
<i>Aspergillus pulmonary disease in cystic fibrosis (CF) patients: multicentre perspective observational study based on new diagnostic tests to evaluate the prognostic value on the CF disease (FFC#26/2018, New), 8'</i>	
<i>Discussion (10')</i>	
11:20 - 11:45 Coffee break and Poster view	
11:45 - 14:00	

Plenary Session 9

CORRECTIVE APPROACHES FOR NON F508del-CFTR MUTATIONS AND GENE CELL THERAPY

Chairmen: **Hirsch E, Colombo C**

59. Cereseto A (CIBIO, Trento), Debyser Z (Center for Molecular Medicine, KU Leuven), Arosio D (IBF, CNR, Trento)	64
<i>SpliceFix: fixing splicing defects in the CFTR gene through CRISPR/Cas9 technology (FFC#1/2017, In progress), 8'</i>	
60. Lentini L, Pibiri I (Univ. Palermo).....	65
<i>Optimization of a new lead promoting the readthrough of nonsense mutations for the CFTR rescue in human CF cells (FFC#3/2017, In progress), 8'</i>	
61. Di Leonardo A (Univ. Palermo).....	66
<i>Investigating CRISPR-CAS13b as a tool for the RNA editing of CFTR mRNA with premature stop codons (FFC#5/2018, New), 8'</i>	
62. Messina G (Univ. Milano).....	67
<i>Dissecting the potency of human Mesoangioblasts to differentiate into CFTR-expressing epithelial cells: a step forward to an innovative cell-based therapy for Cystic Fibrosis disease (FFC#5/2017, Concluded), 15'</i>	

Discussion (14')

IN VIVO, EX VIVO AND IN VITRO PREDICTIVE TESTS AND MODELS TO EVALUATE THE CFTR FUNCTION

63. Leal T (UC, Louvain), Ceri S (Univ. Milano), Thao NK (Necker-Enfants Malades Hosp., Paris).....	68
<i>Implementation of a new imaged-controlled sweat test for in vivo quantification of CFTR function: value for diagnosis and efficacy of new therapies (FFC#5/2016, Concluded), 15'</i>	
64. Netti P (IIT, Napoli), di Bernardo D (Univ. "Federico II", Napoli).....	68
<i>A novel Full Thickness Cystic Fibrosis model on a microfluidic chip to study pathogenic mechanisms and evaluate therapeutic strategies (FFC#8/2017, In progress), 8'</i>	
65. Eramo A (Istituto Superiore di Sanità), Lucarelli M (Univ. La Sapienza, Roma).....	69
<i>Establishment of Conditionally Reprogrammed Airway Epithelial Stem Cell cultures from nasal epithelia of Cystic Fibrosis patients: exploring response to CFTR-modulating drugs for correlation with genetic profile (theratyping) and restoring CFTR function through gene editing approaches (FFC#12/2018, New), 8'</i>	

Discussion (10')

66. Melotti P (Centro FC, AOUI Verona).....	70
<i>Human intestinal organoids for detecting CFTR rescue molecules in human plasma samples (FFC#7/2016, Concluded), 15'</i>	
67. Sorio C (Univ. Verona)	71
<i>Testing intestinal organoids for the prediction of response to CFTR potentiators and correctors used in clinics (FFC#13/2018, New), 8'</i>	
68. Fruiloni L (Univ. Verona), Lucidi V (Osp. Bambino Gesù, Roma), de Jonge H (Erasmus University Medical Center, Rotterdam)	72
<i>Intestinal organoids for assessment and pharmacological correction of abnormalities in fluid transport and anion currents in patients affected by pancreatitis (FFC#6/2018, New), 8'</i>	

Discussion (10')

14:00 - 14:05 Closing remarks

14:05 - 14:30 Poster detachments

APPENDICES

1. Archives of Publications & Congress Abstracts from FFC Projects (2010-2018)	74
2. Institutes and Laboratories involved in FFC Projects.....	98
3. International Reviewers of FFC Projects	102
4. 2010-2018 FFC Projects: Funding and Publications	104
5. Research Funding by FFC (1997-2018)	105
6. FFC Projects (2016-2018) adopted by Supporters.....	106

PLENARY SESSION 1

OVERCOME THE RESISTANCE OF PSEUDOMONAS AERUGINOSA

1. Drug repurposing for antivirulence therapy against *Pseudomonas aeruginosa*

Leoni L¹, Rampioni G¹, Baldelli V¹, Mellini M¹, Fortuna A¹, Bragonzi A²

¹University Roma Tre, Department of Science, Microbial Biotechnology Lab., ²Immunology, Transplantation and Infectious Diseases, Infections and Cystic Fibrosis Unit, HSR Institute, Milan (FFC#17/2018, New)



Livia Leoni, quarta da destra, con collaboratori

Background. The application of anti-virulence drugs to treat chronic lung infections caused by *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis (CF) patients has been hampered so far by toxicity issues and limited knowledge about their efficacy on CF strains. The state of the art knowledge about *P. aeruginosa* infection in CF highlights three notions relevant for CF research: i) the drug repurposing approach can be used for the identification of anti-virulence drugs with low toxicity and high probability of a rapid transfer to the clinic; ii) any new compound active against *P. aeruginosa* model (non-CF) strains should be proven to be active also against a large proportion of strains isolated from CF patients, before further development for CF therapy; iii) it is worth to test anti-virulence drugs targeting the quorum sensing system of *P. aeruginosa* for their application to CF therapy.

Hypothesis and objectives. We have discovered a new anti-pqs activity in four "old" FDA-approved drugs originally developed for the treatment of diseases different from *P. aeruginosa* infection. The possibility of repurposing these drugs for CF therapy will be studied in vitro, also in combination with antibiotics.

Methods. The anti-virulence activity of the four anti-pqs drugs will be tested in vitro in a collection of 100 *P. aeruginosa* strains isolated from CF patients with intermittent infection and chronic infection since different length of time. The most promising anti-pqs drugs will be tested for their ability to potentiate antibiotics currently used in CF therapy.

Expected results and spin-off. The novel pqs-inhibitory drugs are already approved for use in humans. The assessment of their activity against CF strains and possible synergy with antibiotics routinely used in CF therapy will provide a strong rationale for continuing this research in animal models of infection and, hopefully, to accelerate their delivery to clinical trials.

Vecchi farmaci con una nuova attività anti-virulenza contro *Pseudomonas aeruginosa*

Ragioni del progetto. I farmaci anti-virulenza inibiscono la capacità di *Pseudomonas aeruginosa* di produrre un'infezione e sono una promessa per lo sviluppo di nuove terapie anti-pseudomonas in fibrosi cistica (FC). I farmaci anti-virulenza hanno un meccanismo d'azione diverso dagli antibiotici e agiscono in sinergia con essi, soprattutto quando l'infezione coinvolge la formazione del biofilm. Il biofilm è una forma di crescita batterica tipica dell'infezione polmonare in FC, che aumenta la resistenza agli antibiotici. Rispetto ad altri tipi di infezione che *P. aeruginosa* può causare, l'infezione polmonare causata da *P. aeruginosa* nei pazienti FC ha caratteristiche uniche. Infatti, *P. aeruginosa* rimane nel polmone del paziente FC per molti anni, accumulando mutazioni che rendono la popolazione presente in ogni paziente diversa dalle altre, così come sono diversi tra loro i pazienti FC. In generale, queste molteplici mutazioni consentono a *P. aeruginosa* di adattarsi all'ambiente polmonare, resistendo a intense terapie antibiotiche. La diversità dei batteri appartenenti alla specie *P. aeruginosa* isolati da pazienti FC (chiamati "ceppi FC") richiede che, prima di passare a studi clinici, l'attività di un nuovo farmaco sia confermata in un numero statisticamente significativo di ceppi FC. Il nostro gruppo di ricerca ha scoperto che quattro "vecchi" farmaci, sviluppati per il trattamento di malattie diverse dall'infezione da *P. aeruginosa*, hanno una attività anti-virulenza nei confronti di questo batterio. Poiché i farmaci oggetto di questo studio sono già approvati per uso nell'uomo, potrebbero giungere ai test clinici più velocemente di molecole "nuove", non caratterizzate dal punto di vista farmacologico e tossicologico.

Obiettivi principali. I quattro farmaci da noi identificati in precedenza hanno chiara attività anti-virulenza contro un ceppo non-FC di *P. aeruginosa*. L'obiettivo di questo progetto sarà selezionare il più adeguato allo sviluppo di una terapia specifica per i malati di FC. A tale fine, l'attività anti-virulenza e di sinergia con gli antibiotici sarà verificata in una collezione di 100 ceppi isolati da pazienti FC con infezione intermittente o con infezione cronica.

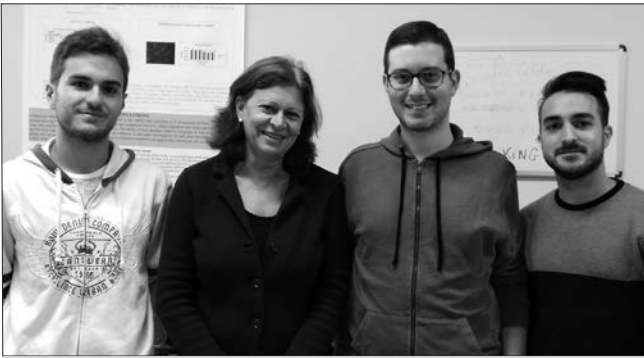
Risultati attesi. Ci aspettiamo di selezionare uno-due farmaci attivi contro la maggior parte dei ceppi FC testati, aprendo la strada a studi clinici per lo sviluppo di una nuova terapia, specifica per i malati di FC.

2. Induction of viable but non-culturable forms, possibly responsible for treatment failure, in vitro biofilms of *Pseudomonas aeruginosa*. Role of antibiotics and antibiotic concentrations

Biavasco F, Mangiaterra G, Cedrarò N, Vaiasicca S, Bizzaro D, Vignaroli C

Department of Life and Environmental Sciences, Polytechnic University of Marche, Ancona (FFC#13/2017, In progress)

Background and rationale. *Pseudomonas aeruginosa* pulmonary infection is the main cause of morbidity and mortality in cystic fibrosis patients.



Francesca Biavasco con i collaboratori

Hypothesis and objectives. This work aimed to assess the ability of tobramycin and ciprofloxacin to induce the viable but non-culturable (VBNC) state, a bacterial response to adverse environmental conditions - including starvation and the presence of toxic compounds - whereby bacteria are viable and can promote the development of chronic infections but are unable to grow on culture media and are therefore not detected by routine culture-based assays.

Essential methods. To do this, we: starved *P. aeruginosa* *in vitro* biofilms by maintenance in non-nutrient broth and exposed or non-exposed them to subinhibitory concentrations of tobramycin or ciprofloxacin; analyzed the biofilms every seven days for the presence and amount of VBNC forms both by culture-based assays and by an enhanced qPCR protocol targeting the species-specific gene *ecfX* that has been demonstrated to detect only viable cells; confirmed the viability of the non-culturable subpopulation by epifluorescence microscopy after live/dead staining; developed a flow cytometry assay capable of reliable detection and quantification of live *P. aeruginosa* in biofilms.

Preliminary results. *P. aeruginosa* biofilms starved in the presence/absence of tobramycin or ciprofloxacin were monitored for up to 170 days for culturability and for the emergence of new phenotypes. The comparison of qPCR and CFU counts allowed detecting all viable *P. aeruginosa* bacteria and the culturable subpopulation, respectively. After 100 days, all biofilms showed significantly ($p < 0.05$) higher qPCR than CFU counts. However, such difference (up to ca. 2 log) was seen throughout the experiment only in tobramycin-exposed biofilms, suggesting that VBNC *P. aeruginosa* forms are fairly stable. Moreover, culturable *P. aeruginosa* from tobramycin-exposed biofilms showed a slow-growing phenotype, with colonies detectable only after 72 h incubation at 37°C. Flow cytometry succeeded in quantifying a live bacterial population clearly distinguishable from dead cells or debris.

Conclusions. These results: provide insights into the role of antibiotics in the development of persistent biofilm-related *P. aeruginosa* infections; show that tobramycin exerts a greater influence on VBNC *P. aeruginosa* development than ciprofloxacin; demonstrate the reliability of the non-cultural techniques (qPCR and flow cytometry) employed for *P. aeruginosa* detection in biofilms.

Ruolo degli antibiotici nell'induzione di forme vitali ma non coltivabili (potenziali responsabili del fallimento della terapia) di *Pseudomonas aeruginosa* in modelli di biofilm *in vitro*

Ragioni dello studio. L'infezione polmonare sostenuta da biofilm di *Pseudomonas aeruginosa* è la principale causa di mortalità nei pazienti CF. Le forme batteriche quiescenti, tra cui quelle vitali ma non coltivabili (VBNC), incapaci di crescere sui terreni di coltura utilizzati nella diagnosi microbiologica di routine, sono coinvolte nella mancata eradicazione dell'infezione.

Ipotesi e obiettivi. Le forme VBNC sono indotte da svariati stress ambientali, tra cui la mancanza di nutrienti e la presenza di sostanze tossiche. In questo lavoro abbiamo valutato il ruolo di tobramicina (T) e ciprofloxacina (C), due degli antibiotici più utilizzati nel trattamento delle infezioni polmonari CF, nello sviluppo di forme VBNC di *P. aeruginosa*.

Metodi essenziali. Biofilm di *P. aeruginosa* ottenuti *in vitro* sono stati mantenuti in carenza di nutrienti in assenza/presenza di concentrazioni subinibenti di T o C per oltre quattro mesi; ogni 7 gg sono stati analizzati per la presenza di forme VBNC confrontando le conte batteriche ottenute mediante l'esame colturale e un protocollo non-culturale (qPCR) basato sul rilevamento di DNA specie-specifico; l'effettiva vitalità della popolazione NC è stata confermata con saggi di epifluorescenza; è stato messo a punto un saggio di citofluorimetria per un più efficace rilevamento delle diverse (viva, morta e danneggiata) popolazioni cellulari presenti nei biofilm di *P. aeruginosa*.

Risultati preliminari. I risultati hanno evidenziato dopo 100 giorni una discrepanza significativa ($p < 0.05$) tra il numero di cellule vitali totali e di quelle coltivabili in tutte le condizioni. Per i biofilm sottoposti solo a carenza di nutrienti o a carenza di nutrienti e C dopo 40 giorni le due conte tornavano ad essere sovrapponibili, mentre per quelli esposti alla T la discrepanza era osservata fino alla fine dell'esperimento, suggerendo rispettivamente la presenza di forme *pre-mortem* e di vere e proprie forme VBNC. Inoltre, solo nei biofilm trattati con T sono stati evidenziati fenotipi a crescita lenta. La citofluorimetria si è dimostrata in grado di distinguere efficacemente le cellule vive, morte e danneggiate, con conte vitali sovrapponibili a quelle ottenute con la qPCR.

Conclusioni. La tobramicina sembra avere un ruolo nell'induzione di fenotipi persistenti di *P. aeruginosa*; verranno saggiate altre classi di antibiotici. La citofluorimetria può essere presa in considerazione come tecnica efficace per la diagnosi di infezione polmonare nei pazienti CF, il protocollo sviluppato sarà validato su campioni clinici.

3. Biocompatible and inhalable antimicrobial-loaded nanoparticles for the counteraction of biofilm formation and antibiotic resistance: towards a potential new therapy for CF related infections

Sanguinetti M¹, Vitali A², Iafisco M³, Catalucci D⁴

¹Divisione Microbiologia clinica, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma, ²ICRM, CNR, Milano, ³ISTEC, CNR, Faenza, ⁴IRGB, CNR, Milano (FFC#20/2018, New)



Maurizio Sanguinetti, responsabile del progetto

Background and rationale. One of the major problems encountered in CF patients is the onset of serious pulmonary

infections characterized by the presence of antibiotic-resistant microorganisms. The search for new antibiotic formulations is therefore a primary objective especially in the current health context with the emergence of so-called “superbugs”. The use of nanoparticles (NPs) functionalized with antimicrobial and antibiofilm peptides (AMPs) can circumvent the problem of antibiotic-resistance and increase the effectiveness of conventional therapies.

Hypothesis and objectives. The aim of this project is to produce a new therapeutic formulation based on inhalable and biodegradable calcium phosphate (CaPs) NPs, functionalized with AMPs, able to counteract the formation of biofilm and the viability of microorganisms. This formulation should also serve as adjuvant and supplement to conventional antibiotic therapies by increasing its efficacy. The project will involve the use of dedicated inhalation tools to allow for future use in FC patients.

Essential methods. CaPs will be functionalized with different antimicrobial peptides (AMPs). AMP-NPs will be tested on resistant antibiotic strains also isolated from FC patients and assayed on appropriate cell-lines to verify their eventual cytotoxicity. Subsequently, AMP-NP will be employed in *in vivo* tests on appropriate animal models.

Results. A proposed peptide has already been characterized by the research group, showing no cytotoxic effects towards different human cell lines and while in recent tests it displayed interesting antibacterial activities against Gram-bacteria. Preliminary results showed the effectiveness of selected peptides in biofilm bacterial cells dispersion and killing. Moreover, the combined use of the two peptides on pre-formed biofilm of *Pseudomonas aeruginosa* showed a synergistic effect. Finally, several pieces of evidence were provided, highlighting that CaPs NPs formulation is well tolerated *in vivo* as shown by the absence of side effects upon single or multiple CaP administrations. In addition, when loaded with a therapeutic peptide, an inhalation protocol resulted effective in recovering a pathological condition in a mouse model of cardiomyopathy.

Conclusions. In case the produced AMP-NPs will show efficacy in *in vivo* experiments, they could be patented and used in pre-clinical experiments for their development as new antibiotics, paving the way for the generation of Spin-offs.

Nanoparticelle biocompatibili ed inalabili funzionalizzate con peptidi antimicrobici per contrastare la formazione di biofilm e l'antibiotico resistenza: verso una nuova potenziale terapia per le infezioni correlate alla FC

Ragioni dello studio. Uno dei maggiori problemi che si riscontrano nei pazienti di FC è l'insorgenza di gravi infezioni polmonari spesso caratterizzate dalla presenza di microrganismi antibiotico-resistenti in grado di formare biofilm. Il biofilm microbico è caratterizzato da una matrice complessa e variabile di sostanze esopolimeriche (principalmente polisaccaridi, proteine e DNA) prodotta dai batteri stessi. Questa matrice protegge i microrganismi dagli antibiotici e facilita la loro adesione ai tessuti delle mucose. La ricerca di nuove formulazioni antibiotiche risulta quindi un obiettivo primario. L'uso di nanoparticelle (NPs) funzionalizzate con peptidi antimicrobici e antibiofilm (AMPs) può aggirare il problema della antibiotico-resistenza e aumentare l'efficacia delle attuali terapie convenzionali.

Ipotesi e obiettivi. Lo scopo di questo progetto è quello di produrre una nuova formulazione terapeutica basata su NPs di calcio fosfato (CaP) inalabili e biodegradabili, funzionalizzate con AMPs, in grado di contrastare la formazione di biofilm e la vitalità dei microrganismi.

Metodi essenziali. Le NPs di CaP saranno funzionalizzate con diversi AMP selezionati tra quelli già presenti nella

“collezione” del consorzio del progetto. Questi nanosistemi saranno testati su isolati clinici di *Pseudomonas aeruginosa* antibiotico resistenti e su linee cellulari umane per evidenziarne l'eventuale citotossicità. Le formulazioni più promettenti saranno testate *in vivo* su modelli animali appropriati.

Risultati preliminari. Uno dei peptidi selezionati per lo studio, è stato ampiamente caratterizzato dal nostro gruppo: questo peptide è risultato non citotossico nei confronti di diverse linee cellulari umane mostrando interessanti attività antibatteriche e antibiofilm. Infine, queste NPs funzionalizzate con un peptide terapeutico, sono state somministrate per inalazione in un modello murino di cardiomiopatia risultando estremamente sicure ed efficaci nel recupero della condizione patologica.

Conclusioni. Le NPs prodotte in questo progetto, se risultassero efficaci anche in esperimenti *in vivo*, potranno essere brevettate e utilizzate in esperimenti di fase pre-clinica per un loro sviluppo come nuovi antibiotici, aprendo la strada anche per la generazione di Spin-offs.

4. Preclinical study of a host-directed therapy based on Metformin and bioactive liposomes for the control of multidrug resistant *P. aeruginosa* infection

Poerio N¹, De Santis F¹, Rossi A², Enriquez A¹, Di Sano F¹, Lucidi V³, Bragonzi A², Fraziano M¹

¹Dipartimento di Biologia, Università di Roma “Tor Vergata”,

²Unità di Infezioni e Fibrosi Cistica, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano, Italia, ³Unità Operativa Complessa Fibrosi Cistica, Dipartimento di Medicina Pediatrica, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma, Italia (FFC#14/2017, Concluded)



Maurizio Fraziano, responsabile del progetto, con collaboratrici

Background and rationale. We have recently showed that apoptotic body like liposomes (ABL) loaded with phosphatidylinositol 5-phosphate (PI5P) significantly enhance bactericidal response in macrophages from Cystic Fibrosis (CF) patients against *P. aeruginosa* and in bronchoalveolar lavage cells from patients with pneumonia caused by different multidrug resistance (MDR) bacterial pathogens. Moreover, Metformin (Met) has been recently reported to augment airway surface hydration, in *in vitro* models of CF, and to enhance antimicrobial innate immune response and to reduce inflammation in *in vivo* models of tuberculosis.

Hypothesis and objectives. The main goal of this project was the development of a novel immunotherapeutic approach based on bioactive liposome in combination with Met, aimed to enhance antimicrobial innate immune response, while simultaneously improve airway surface hydration and mitigate inflammation to control multidrug resistant infections in CF.

Methods. Macrophages generated by peripheral monocytes derived from healthy donors, treated or not with a pharmacological inhibitor of CFTR (INH172), and from CF patients were infected with a panel of MDR *P. aeruginosa* clinical isolates and stimulated with ABL/PI5P, alone or in combinations with Met. We have evaluated intracellular bacterial clearance and uptake, and phagosome maturation by CFU and fluorimetric assays, respectively. Finally, treatments were tested in *in vivo* murine model of MDR-RP73 *P. aeruginosa* acute infection, in terms of leukocytes recruitment and bactericidal action enhancement.

Results. We showed that treatment with ABL/PI5P and/or Met rescues impaired phagosome acidification in CFTR-pharmacologically inhibited macrophages and promotes intracellular bacterial killing in INH172- and CF primary macrophages infected with MDR *P. aeruginosa* 2113 strain, although only ABL/PI5P stimulation increase bacterial uptake. Finally, preliminary results in *in vivo* model of MDR-RP73 *P. aeruginosa* acute infection, show that treatment with ABL/PI5P or Met induces an overall decrease in leukocytes recruitment, associated to an increase of macrophage component and to a reduction of pulmonary bacterial load, although following ABL/PI5P treatment only.

Conclusions. Our results show that bioactive liposome and metformin-based strategy could represent a promising host-directed therapeutic option for the control of drug resistant bacterial infections and for the reduction of the inflammation-based pathology in CF.

Studio pre-clinico di un nuovo approccio immunoterapeutico basato sulla combinazione Metformina e liposomi bioattivi per il controllo delle infezioni causate da *P. aeruginosa* antibiotico-resistente.

Ragioni dello studio. Abbiamo recentemente dimostrato che liposomi simili a corpi apoptotici (*apoptotic body like liposomes*, ABL) caricati con fosfatidilinositolo-5 fosfato (PI5P) erano in grado di potenziare la risposta antimicrobica innata nei confronti di patogeni batterici farmaco-resistenti (*Multidrug Resistant- MDR*). Inoltre, è stato dimostrato come la Metformina (Met) sia in grado di aumentare, in modelli *in vitro* di fibrosi cistica (FC), l'idratazione di cellule epiteliali bronchiali umane.

Ipotesi e obiettivi. L'obiettivo di questo progetto è stato di validare, in modelli *in vitro* e *in vivo*, una nuova formulazione immunoterapeutica, basata su liposomi bioattivi e Met, come strumento per il controllo di infezioni causate da ceppi batterici MDR di *P. aeruginosa*.

Metodi Essenziali. Macrofagi generati da monociti del sangue periferico di donatori sani, trattati o meno con l'inibitore farmacologico per il CFTR (INH172), e da pazienti FC sono stati infettati con ceppi diversi di isolati clinici MDR di *P. aeruginosa* e stimolati con gli ABL/PI5P da soli o in combinazione con Met. Abbiamo quantificato la vitalità e l'internalizzazione batterica intracellulare e la maturazione fagosomale rispettivamente attraverso saggio di CFU e fluorimetria. Le formulazioni sono state poi testate *in vivo* in modelli murini di infezione acuta causata dal ceppo *P. aeruginosa* MDR-RP73, in termini di reclutamento leucocitario e potenziamento dell'azione microbicida.

Risultati. Abbiamo mostrato che il trattamento con ABL/PI5P e/o Met ripristina la difettiva maturazione del fagosoma in macrofagi trattati con INH172, e promuovono l'uccisione batterica intracellulare in macrofagi trattati con INH172 o FC infettati con il ceppo *P. aeruginosa* MDR-2113, sebbene solamente ABL/PI5P aumenti l'internalizzazione del patogeno. Infine, risultati preliminari ottenuti *in vivo* in modelli murini d'infezione acuta causata dal ceppo *P. aeruginosa* MDR-RP73, mostrano che il trattamento con ABL/PI5P o Met

induce una diminuzione complessiva dei leucociti associata ad un aumento della componente macrofagica e ad una diminuzione della carica batterica, sebbene ottenuta solo in seguito a trattamento con ABL/PI5P.

Conclusioni. I nostri risultati mostrano come la strategia basata sui liposomi bioattivi e Met possa rappresentare una promettente opzione immunoterapeutica per il controllo delle infezioni causate da batteri MDR e per la riduzione dell'infiammazione caratteristica delle infezioni associate a FC.

5. Exploiting the potential of gallium for the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* pulmonary infection

Visca P¹, Peri F², Sorrentino R³

¹Dipartimento di Scienze, Lab. Microbiologia Clinica e Virologia, Università Roma Tre, ²Dip. di Biotecnologie e Bioscienze, Università Milano Bicocca, ³Dip. di Farmacia, Università di Napoli Federico II (FFC#18/2017, Concluded)



Paolo Visca, terzo da destra, con i partner e i collaboratori del progetto

Background and rationale. Morbidity and mortality in cystic fibrosis (CF) patients is attributable to infectious sequelae caused by different pathogens¹. Antibiotic resistance in CF calls for the development of new antimicrobials. Ga(III) inhibits bacterial growth, acting as an iron mimetic, and is already used in medicine (Ganite[®]) for treatment of non-infectious disorders². Bacteria erroneously incorporates Ga(III) instead of Fe(III) within essential molecules because unable to discriminate between these two ions, resulting inhibited³.

Hypothesis and objectives. The main objective of this project was a comparative assessment of the antibacterial activity of different Ga(III) formulations on major CF pathogens, and the development of safe Ga(III)-based drugs that can specifically target the lung of CF patients, via inhalable formulations.

Essential methods. We capitalized upon expertise in organic synthesis, pharmaceutical chemistry and microbiology to: i) compare the antibacterial activity of different Ga(III) formulations on major CF pathogens; ii) generate new formulations for *in vivo* administration and determine their pharmacological characteristics; iii) investigate acute toxicity and the organ distribution of Ga(III), upon intra-tracheal and intravenous administration in rats.

Results. New Ga(III) testing methods have been developed for major CF pathogens. Two compounds showed potent broad-spectrum antibacterial properties. To overcome limitations of systemic administration, a novel inhalable Ga(III)-based dry powder has been developed. The new formulation showed high Ga(III) content and stability in the long-term, good antimicrobial properties, and an excellent biodistribution in rats after intra-tracheal aerosol administration.

Spin-off for research & clinical purposes. In the worrying scenario of increasing antibiotic resistance in CF-associated bacterial pathogens, Ga(III)-derived compounds are good candidates for broad-spectrum antimicrobials, and hold great promise for the progression into drugs with potential clinical applicability in the short-medium perspective.

Utilizzo del gallio come antibatterico nel trattamento delle infezioni polmonari da *Pseudomonas aeruginosa*

Ragioni dello studio. I pazienti con fibrosi cistica (FC) incorrono in una sequenza di infezioni polmonari che cronicizzano e compromettono la funzionalità respiratoria. La preoccupante tendenza verso l'antibiotico-resistenza nei patogeni della FC è oggi aggravata dalla carenza di nuovi antibiotici.

Il gallio Ga(III) inibisce la i batteri agendo da ferro-mimetico, ed è già utilizzato per il trattamento di patologie non infettive (Ganite®). Le sue proprietà farmacologiche si basano sulla somiglianza chimica tra lo ione Ga(III) e lo ione ferrico Fe(III). I batteri incorporano erroneamente Ga(III) al posto di Fe(III) in molecole essenziali, rimanendo uccisi.

Ipotesi e obiettivi. L'obiettivo di questo progetto è stato quello di valutare le proprietà antibatteriche di diverse formulazioni di Ga(III) nei confronti dei principali patogeni FC, ottenere dei derivati del Ga(III) più attivi ed opportunamente formulati per la veicolazione aerosolica, e di dimostrarne la sicurezza terapeutica.

Metodi essenziali. Abbiamo combinato competenze in chimica organica, chimica e tecnica farmaceutica, microbiologia e farmacologia per: i) effettuare un'analisi comparativa dell'attività antimicrobica di diversi composti del Ga(III) sui principali patogeni della FC; ii) generare formulazioni farmaceutiche e determinarne le caratteristiche farmacologiche; iii) valutare la tossicità e la bio-distribuzione del Ga(III) in vivo in seguito alla somministrazione intra-tracheale o intra-venosa nel ratto.

Risultati. Sono stati definiti metodi per saggiare l'attività antibatterica del Ga(III). Due composti hanno mostrato un effetto ad ampio spettro sui patogeni FC. Per superare i limiti della somministrazione sistemica di Ga(III) è stata generata una formulazione di Ga(III) inalabile, capace di raggiungere selettivamente e permanere ad elevate concentrazioni e per tempi lunghi nei polmoni.

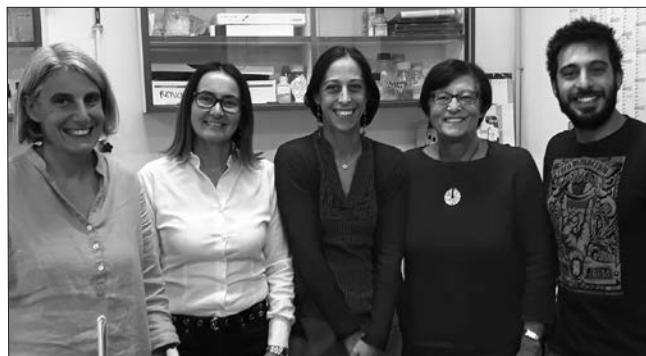
Possibili ricadute per ricerca e clinica. Nella prospettiva di un aumento dell'antibiotico-resistenza nei patogeni FC, la terapia con gallio offre la speranza di essere trasferita dal laboratorio alla clinica nel breve-medio termine.

6. In vivo validation of phage therapy against *Pseudomonas aeruginosa* infections using the new zebrafish (*Danio rerio*) animal model

Cafora M¹, Deflorian G², Forti F³, Ferrari L², Binelli G⁴, Briani F^c, Ghisotti D³, Pistocchi S¹

¹Dipartimento di Biotecnologie Mediche e Medicina Traslazionale, Università degli Studi di Milano, LITA ²Istituto FIRC di Oncologia Molecolare, IFOM, ³Dipartimento di Bioscienze, Università degli Studi di Milano, ⁴Dipartimento di Biotecnologie e Scienze della Vita, Università degli Studi dell'Insubria (FFC#22/2017, Concluded)

Background and Rationale. In a recent report, we isolated virulent phages capable of infecting *P. aeruginosa* and used them to treat *P. aeruginosa* infections in mouse and *Galleria mellonella* larvae. The positive outcome obtained by phage therapy encouraged us to further investigate its use in a cystic fibrosis (CF) background. Indeed, *P. aerugi-*



Anna Silvia Pistocchi, al centro, con il suo gruppo di ricerca

nosa infections are particularly serious in CF patients and, as a consequence, CF patients are subject to frequent antibiotic treatments to control the infections. The appearance and diffusion of multidrug resistant (MDR) isolates of *P. aeruginosa* is responsible for the increasingly unsuccessful use of antibiotics and alternative therapies are urgently needed. Phages, the natural enemies of bacteria, can be a possible solution as they infect only very specific bacterial hosts, they self-control their dose multiplying only when and where the target bacterial host strains are present, and are able to kill also MDR bacteria.

Hypothesis and Objectives. The scientific question addressed by this work is the validation of phage therapy against *P. aeruginosa* infection in a cystic fibrosis background (CF). We chose zebrafish (*Danio rerio*) as in vivo model. The zebrafish model has two main advantages: it lacks an adaptive immune response for the first 4-6 weeks of life representing an ideal model for studying innate immunity and it is a good model for CF as the *Cftr* channel is conserved between fish and mammals.

Essential Methods. We deregulated the *cftr* function in zebrafish, obtaining CF embryos. We infected control (WT) and CF embryos with *P. aeruginosa* and we compared lethality, bacterial burden and inflammatory cytokines after infection followed by phage administration.

Results. We demonstrate that phage therapy is effective against *P. aeruginosa* infections as it reduces lethality, bacterial burden and immune response in WT and in CF embryos. We also show an improvement by combining the action of phages and antibiotics against *P. aeruginosa* infection in CF zebrafish embryos. In addition, we found that phage administration, in the absence of bacterial infection, relieves the constitutive inflammatory state of CF embryos.

Conclusions. Our data suggest promising therapeutic approaches to reduce antibiotic doses and time of administration, avoiding the development of MDR *P. aeruginosa* isolates in a CF background. To our knowledge this is the first time that phage therapy is used to cure *P. aeruginosa* infections in an in vivo CF model.

Uso del nuovo modello di FC in Zebrafish per confermare in vivo la fagoterapia contro le infezioni da *Pseudomonas aeruginosa*

Ragioni dello studio. In questo lavoro convalidiamo l'uso della terapia fagica per combattere le infezioni da *Pseudomonas aeruginosa* in un modello di Fibrosi Cistica (FC). Le infezioni da *P. aeruginosa* sono particolarmente gravi nei pazienti FC che sono soggetti a frequenti trattamenti antibiotici per controllarle. La recente diffusione di ceppi multiresistenti (MDR) è responsabile della crescente inefficacia del trattamento antibiotico e rende urgente la ricerca di terapie alternative. I fagi possono essere una possibile soluzione perché, al contrario degli antibiotici, infettano solo batteri specifici, senza compromettere la flora intestinale, e sono in grado di uccidere anche i batteri MDR.

Ipotesi e obiettivi. In un recente lavoro, abbiamo dimostrato che l'uso di fagi era in grado di curare le infezioni da *P. aeruginosa* in topo. L'esito positivo ottenuto ci ha incoraggiato a estendere lo studio in un modello FC. Abbiamo scelto zebrafish (*Danio rerio*) per convalidare l'efficacia della terapia fagica contro l'infezione nella FC. Zebrafish presenta alcuni vantaggi rispetto ad altri modelli animali: la proteina canale Cfr dei pesci presenta alta omologia con quella umana e la deregolazione della funzione *CFTR* in zebrafish porta a un fenotipo simile ad alcuni difetti presenti nella malattia umana; inoltre zebrafish rappresenta un modello ideale per studiare l'immunità innata, la prima risposta alle infezioni batteriche.

Metodi essenziali. Abbiamo deregolato il gene *CFTR* negli embrioni di zebrafish, creando embrioni FC, e li abbiamo infettati

con *P. aeruginosa*; successivamente negli embrioni sono stati inoculati i fagi per curare l'infezione batterica (terapia fagica).

Risultati. La terapia fagica si è dimostrata efficace nell'abbassare la letalità dovuta all'infezione con *P. aeruginosa* e nel ridurre sia la carica batterica sia la reazione immunitaria. Inoltre, abbiamo dimostrato che combinando l'azione di fagi e antibiotici la risposta all'infezione da *P. aeruginosa* è ancora più efficace.

Conclusioni. Questa è la prima volta che la terapia fagica viene usata per curare infezioni da *P. aeruginosa* in vivo in un modello di FC. I nostri risultati suggeriscono che accoppiando antibiotici e fagi si potrebbero ridurre le dosi e i tempi di somministrazione degli antibiotici, evitando così lo sviluppo di ceppi MDR.

UNEXPLORED AREAS IN CF LUNG INFECTION

7. Cystic fibrosis modifier genes related to *Pseudomonas aeruginosa* lung disease

Loré N¹, Caslini C¹, He G², Strug L², Alessandro M³, Lombardo A³, Provezza L⁴, Cabrini G⁴, Rizzo G¹, Sipione B¹, Caci E⁵, Galiotta L⁶, Corvol H⁷, Bragonzi A¹

¹Infection and Cystic Fibrosis Unit, Division of Immunology, Transplantation and Infectious Diseases, IRCCS - San Raffaele Scientific Institute, Milan, Italy, ²Division of Biostatistics, Dalla Lana School of Public Health; University of Toronto, Toronto, Canada, ³San Raffaele Telethon Institute for Gene Therapy (SR-Tiget), IRCCS San Raffaele Scientific Institute, Milan, Italy, ⁴Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata Verona, Verona Italy, ⁵Istituto Giannina Gaslini, Genova, Italy, ⁶Telethon Institute of Genetics and Medicine, Pozzuoli, Italy, ⁷INSERM, Paris, France (FFC#15/2016, Concluded)



Alessandra Bragonzi, responsabile del progetto

Background and rationale. The outcomes of *P. aeruginosa* infections in patients with cystic fibrosis (CF) are difficult to predict and extremely variable, with the severity of the pulmonary conditions ranging from mild to life-threatening. This opens the question which other genetic loci in addition to the *CFTR* can contribute to the clinical variation. By using the Collaborative Cross (CC) lines as a novel and high genetically diverse mouse resource population and models of infection established by our group, we map a quantitative trait locus (QTL) on murine chromosome 3 that affect the severity of *Pseudomonas aeruginosa* lung infection (FFC#9/2014).

Hypothesis and objectives. This project hypothesizes candidate modifier genes within the identified QTL and aims to validate them as risk factors for *P. aeruginosa* infection and disease severity.

Essential methods. Validation of candidate modifier genes was carried out: 1) in model system including gene editing with CRISPR/Cas9 of cell lines; 2) in CF patients cohorts by

exploring available BIO-banks

Results. Within the QTL locus, 14 protein-coding genes were candidates for involvement in *P. aeruginosa* pneumonia. Among others, the sphingosine 1-phosphate receptor 1 (*S1PR1*) ranked as one of the most promising candidates. *S1PR1* encodes a G-protein-coupled receptor involved in several physiological processes, including inflammation. Immunohistochemistry showed significantly decreased *S1PR1* protein expression in lungs of CF patients compared with those of non-CF. Lack of *S1PR1* in CF cell line (IB3) increased inflammatory response after stimulation with *P. aeruginosa* supernatant, indicating a possible role in the infection. To translate our results to humans, first a genotyped cohort (Canadian CF Gene Modifier) with clinical microbiological data for *P. aeruginosa* infection was used for identification of candidate genes. Genetic-association analysis on the syntenic human locus on chromosome 1 identified two single-nucleotide polymorphisms annotated to the dihydropyrimidine dehydrogenase (*DPYD*) gene that were significantly associated with age at first *P. aeruginosa* infection. *DPYD* encoded a pyrimidine catabolic enzyme and has never been described in infection and inflammation processes. Other cohorts are under evaluation.

Conclusions. Our project identified possible genetic modifiers that affect the severity of *P. aeruginosa* lung infection in a new murine model.

Geni modificatori legati alla malattia polmonare da *Pseudomonas aeruginosa* in fibrosi cistica

Ragioni dello studio. La severità della malattia polmonare FC non è esclusivamente correlata alla mutazione del gene *CFTR*, ma influenzata anche da altri geni presenti nel profilo genetico individuale. Utilizzando una nuova popolazione murina caratterizzata da genotipi altamente diversificati abbiamo mappato un locus genico sul cromosoma 3 responsabile della gravità dell'infezione polmonare da *Pseudomonas aeruginosa* (FFC#9/2014)

Ipotesi e obiettivi. Questo progetto ipotizza la presenza di geni modificatori all'interno del locus genico identificato e mira a convalidarli come fattori di rischio per l'infezione da *P. aeruginosa* e la gravità della malattia.

Metodi. La validazione è stata effettuata: 1) in sistemi modello che utilizzano l'editing genetico con CRISPR/Cas9 in linee cellulari bronchiali; 2) in coorti di pazienti FC esaminando le Bio-banche disponibili.

Risultati. All'interno del locus genico, sono stati identificati 14 geni modificatori candidati per l'infezione da *P. aeruginosa*. Tra gli altri, il recettore della sfingosina 1-fosfato (*S1PR1*) è stato classificato come uno dei candidati più promettenti. *S1PR1* codifica per un recettore accoppiato alla proteina G e coinvolto in diversi processi fisiologici, inclusa l'infiammazione. Saggi di immunostochimica hanno mostra-

to una significativa riduzione dell'espressione della proteina S1PR1 nei polmoni dei pazienti FC rispetto a quelli dei non-FC. La mancanza di S1PR1 in cellule FC aumenta la risposta infiammatoria dopo stimolazione con *P. aeruginosa*, indicando un possibile ruolo nell'infezione.

Per traslare i nostri risultati sull'uomo e validare geni candidati è stata utilizzata una coorte genotipizzata (Canadian CF Gene Modifier) e fenotipizzata per l'infezione da *P. aeruginosa*. L'associazione genotipo/fenotipo è stata condotta considerando l'età alla prima infezione da *P. aeruginosa*. L'analisi genetica di associazione ha identificato sul cromosoma 1 due polimorfismi a singolo-nucleotide nel gene della diidropirimidina deidrogenasi (DPYD) significativamente associati all'età alla prima infezione da *P. aeruginosa*. DPYD codifica per un enzima coinvolto nella degradazione della pirimidina e non è mai stato descritto in processi di infezione e infiammazione. La validazione in altre coorti è in corso.

Possibili ricadute per ricerca e clinica. Il nostro progetto ha identificato possibili modificatori genetici che influenzano la gravità dell'infezione polmonare da *P. aeruginosa* in un nuovo modello murino.

8. Ex vivo study on Type I and III interferon response and virus-bacteria interactions in CF patients: a new approach to try to develop alternative therapeutic strategy

Antonelli G

Department of Molecular Medicine, Laboratory of Virology, "Sapienza" University, Rome (FFC#14/2018, New)



Guido Antonelli, responsabile del progetto

Background and rationale. Complex interplay between host immunity and pathogenic organisms has been proposed in CF disease progression. Type I and III interferon (IFN) are involved in tuning antimicrobial and inflammation response as well as emerging negative modifier of respiratory infections. The use of IFN therapies or targeting the IFN pathway has been pursued in other diseases, but the IFN expression profiling in CF patients according to the clinical and microbiological status is much less understood.

Hypothesis and objectives. We hypothesized that IFN signaling may eventually have a role in keeping viral infections under control and/or may have effects on the fight against *P. aeruginosa* or, even, detrimental effects on host immunity. Our aims and objectives can be summarized as follows: i) to delineate the presence and demonstrate the clinical value of the type I and III IFN signature in CF course; ii) to understand the dynamics between bacteria and viruses infections in CF patients; iii) to ascertain whether virus-bacteria coinfection compromise the IFN response and consequently clinical severity.

Essential methods. About 450 CF patients already diag-

nosed and enrolled at the CF Reference Center of the Policlinico Umberto I Hospital in Rome will be included. Several consecutive specimens from the upper respiratory tract will be collected according to the clinical routine. Respiratory samples will be analyzed for common and emerging microorganisms by using appropriate media and/or MALDI-TOF MS. Respiratory viruses detection, quantification and typing will be performed using consolidated PCR assays. IFN profiling will be measured by real-time PCR assays.

Preliminary results. We performed preliminary virological and IFN genes expression analysis on residual routinely collected respiratory samples from CF patients. Viruses were found in 25% of patients with a high prevalence of human rhinovirus. A certain heterogeneity within the IFN signature was recorded in patients, depending on the microbiological and clinical stage, strengthening us to decipher its clinical relevance in FC disease.

Conclusions. An improved understanding of the positive and/or negative effects of IFN response will enable clinicians and public health officials to better identify CF patients at risk of developing the potentially fatal complication, and hopefully aid in the development of new therapeutic immunological approaches.

Studio ex vivo della risposta mediata dagli IFN di tipo I e III e interazioni virus-batteri nei pazienti con fibrosi cistica: un nuovo approccio per lo sviluppo di strategie terapeutiche alternative

Ragioni dello studio. Una complessa interazione tra patogeni ed immunità dell'ospite rappresenta uno dei principali determinanti di evoluzione della fibrosi cistica (FC). Gli interferon di tipo I e III (IFN) sono coinvolti nella difesa antimicrobica e nell'induzione di una risposta infiammatoria ma sembrano esercitare anche un ruolo negativo nel controllo di alcune infezioni respiratorie. Il profilo di espressione genica dell'IFN nei pazienti FC rimane ancora poco definito.

Ipotesi e obiettivi. L'ipotesi del progetto è che l'attivazione del pathway dell'IFN nella FC possa giocare un ruolo sia nel controllo delle infezioni batteriche (e.g. *P. aeruginosa*) e virali ma anche favorire una disregolazione della risposta immunitaria. In particolare, gli obiettivi dello studio sono i seguenti: i) caratterizzare la "signature" dell'IFN nella FC ii) analizzare le interazioni dinamiche tra batteri e virus respiratori nei pazienti FC; iii) studiare se la presenza di una coinfezione da batteri e virus modifichi la risposta dell'IFN e la gravità clinica della FC.

Metodi essenziali. Nello studio saranno inclusi circa 450 pazienti FC afferenti al Centro di riferimento fibrosi cistica del Policlinico Umberto I di Roma. Campioni del tratto respiratorio superiore saranno raccolti consecutivamente sulla base della routine clinica. I campioni respiratori saranno analizzati per i microrganismi comuni ed emergenti usando terreni appropriati e/o MALDI-TOF. Il rilevamento, la quantificazione e la tipizzazione dei virus respiratori sarà eseguita mediante tecniche molecolari consolidate. Il profilo di espressione genica dell'IFN sarà esaminato mediante Real time PCR.

Risultati preliminari. Le analisi preliminari virologiche e di espressione genica della signature dell'IFN sono state eseguite su alcuni campioni respiratori raccolti durante il controllo di routine dei pazienti FC. Circa il 25% dei pazienti analizzati presentava una infezione da virus respiratori, con una maggiore prevalenza del rhinovirus. È stata inoltre osservata una elevata variabilità nello stato di attivazione della risposta IFN mediata in associazione a parametri microbiologici e clinici considerati.

Conclusioni. Comprendere gli effetti positivi e/o negativi della risposta IFN permetterà di meglio identificare i pazienti FC a rischio di sviluppare complicanze e di contribuire allo sviluppo di nuovi approcci immunologici terapeutici.

TOWARDS NEW MODULATORS OF F508del-CFTR

9. The lead corrector ARN23765 towards its preclinical development

Bandiera T¹, Pedemonte N², Galiotta LJV³¹Istituto Italiano di Tecnologia (IIT), Genova, ²U.O.C. Genetica Medica, Istituto Giannina Gaslini (IGG), Genova, ³Telethon Institute for Genetics and Medicine (TIGEM), Pozzuoli (NA) (FFC#TFCF & FFC#TFCF extension)

Tiziano Bandiera, secondo da sinistra, con i ricercatori del progetto TFCF

Background and rationale. The most frequent mutation among patients with cystic fibrosis (CF), F508del, causes defective maturation and early degradation of CFTR protein.. The F508del defect can be targeted with compounds known as correctors. The F508del-CFTR mutant also shows a channel gating defect that can be addressed with another type of modulators called potentiators). Currently, the F508del-CFTR correctors approved for use in patients have only modest efficacy. Therefore, new compounds are needed.

Hypothesis and objectives. The project aims at the selection of a backup of ARN23765, the corrector currently under evaluation as a preclinical development candidate.

Essential methods. The synthetic activities are targeting new analogs of ARN23765. All new compounds are evaluated for their activity in CFBE41o- cells stably overexpressing F508del-CFTR and the halide sensitive yellow fluorescent protein (HS-YFP). Compounds with good activity are then tested in primary human bronchial epithelial (HBE) cells from CF patients homozygous for the F508del mutation. In parallel, compounds are submitted to in vitro tests to assess their drug-likeness.

Preliminary Results. More than 60 new analogs of ARN23765 have been prepared during the TFCF-Extension project. All the new compounds have been characterized for their drug-like properties and activity in F508del-CFTR CFBE41o- cells (HS-YFP assay). Those showing a good activity in the HS-YFP assay have been tested in primary HBE cells from CF patients homozygous for the F508del mutation. A number of compounds showed improved drug-like profile while retaining a very good biological activity. New correctors are now being synthesized that embody structural motifs associated with good drug-likeness and biological activity.

Conclusions. Based on the data obtained in the previous phases of the project, the design and synthesis of new compounds are ongoing with the aim of obtaining one or more ARN23765 backups to increase the probability of identifying a candidate for the clinical development.

Il correttore guida ARN23765 verso lo sviluppo preclinico

Ragioni dello studio. La mutazione più frequente della proteina CFTR nei pazienti con fibrosi cistica, F508del, impedisce alla proteina di completare il processo di maturazione e di raggiungere la superficie cellulare. Questo difetto può essere trattato con composti chiamati *correttori*. La proteina F508del-CFTR presenta anche un difetto di funzionamento su cui si può intervenire con un diverso tipo di composti chiamati *potenziatori*. Ad oggi, l'efficacia dei correttori di F508del approvati per l'uso nell'uomo è modesta ed è quindi necessario identificare nuove molecole.

Ipotesi e obiettivi. Il progetto è finalizzato a selezionare un possibile sostituto (backup) di ARN23765, il correttore attualmente in studio come candidato allo sviluppo preclinico.

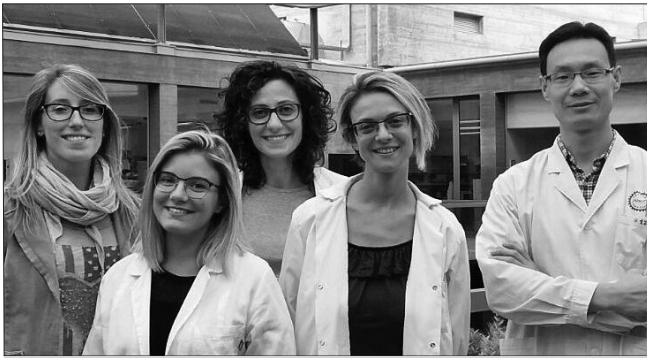
Metodi Essenziali. La sintesi chimica è indirizzata verso nuovi analoghi di ARN23765. Tutti i nuovi composti sono valutati nella linea cellulare CFBE41o- che esprime stabilmente la proteina F508del-CFTR e la Halogen Sensitive Yellow Fluorescent Protein (HS-YFP). I composti con buona attività vengono poi testati in cellule primarie bronchiali da pazienti omozigoti per la mutazione F508del. In parallelo, i nuovi composti sono valutati in saggi in vitro per determinare il loro profilo di drug-likeness.

Risultati Preliminari. Nel progetto TFCF-Extension sono stati sintetizzati oltre 60 nuovi analoghi di ARN23765. Diversi di questi composti hanno mostrato miglioramenti in alcuni dei parametri che misurano la drug-likeness mantenendo attività biologica. A partire da questi risultati, è in corso la sintesi di nuovi analoghi che incorporano elementi strutturali che permettono di mantenere una buona attività biologica migliorando al contempo il profilo di drug-likeness.

Conclusioni. Sulla base dei dati ottenuti nelle fasi precedenti del progetto, sta continuando il disegno e la sintesi di nuovi composti con l'obiettivo di identificare uno o più backup di ARN23765 per aumentare la probabilità di ottenere un candidato per lo sviluppo clinico.

10. Development of a PI3K γ -derived peptide as a novel F508del-CFTR potentiatorMurabito A¹, Pirozzi F^{1,2}, Ren K¹, Li M¹, Sala V¹, Quinney NL³, Laudanna C⁴, Gentsch M³, Hirsch E¹, Ghigo A¹¹Department of Molecular Biotechnology and Health Sciences, Molecular Biotechnology Center, University of Torino, Torino, Italy, ²Division of Internal Medicine, Department of Translational Medical Sciences, Federico II University, Naples, Italy, ³Marsico Lung Institute/Cystic Fibrosis Research Center, University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, USA, ⁴Department of Pathology and Diagnostics, Division of General Pathology, School of Medicine, Verona, Italy (FFC#11/2017, Concluded)

Background and rationale. The underlying cause of cystic fibrosis (CF) is a mutation in the CFTR gene. A number of CFTR correctors and potentiators, restoring membrane expression and cAMP-activated gating, respectively, have been developed, but their clinical efficacy is unsatisfactory. We recently developed a peptide targeting PI3K γ kinase-independent function (WO/2016/103176), which we found involved in the regulation of cAMP signalling. We previously demonstrated that this molecule rescues the conductance of F508del CFTR more efficiently than VX-770 potentiator.



Alessandra Ghigo, prima da sinistra, con i collaboratori

Hypothesis and objectives. *In the view of developing PI3K γ peptide as a novel human medicinal product, we intended to complete the chemical optimization of our peptide lead. In particular, we sought to obtain a molecule that recapitulates the biological features of the parent PI3K γ peptide but implying lower costs of synthesis. Finally, we further characterized the mechanism of action of the parent PI3K γ peptide.*

Essential methods. *Peptide derivatives were screened for their ability to elevate cAMP levels in human bronchial epithelial cells (16HBE14o-). To further investigate the molecular mechanisms underlying the ability of the parent PI3K γ peptide to rescue F508del-CFTR function, chloride current measurements and surface biotinylation assays were carried out in bronchial primary CF and CFBE41o- cells.*

Results. *The minimal active sequence (MIN seq) of PI3K γ peptide was identified and fused to different cell penetrating peptides. We found that the efficiency of PI3K γ MIN seq in elevating cAMP levels was comparable to that of the parent peptide when fused to Penetratin 1. On the other hand, the parent PI3K γ peptide stimulated CFTR-dependent currents even in non-corrected primary bronchial epithelial F508del cells, suggesting that this compound may also serve as a CFTR corrector. Surface biotinylation assays in CF cells confirmed the ability of the PI3K γ to promote trafficking of the mutant CFTR to the plasma membrane.*

Conclusions. *Overall, our data suggest that the PI3K γ peptide exerts both corrective and potentiating effects and may be exploited as a single agent for the treatment of F508del patients. This will eventually permit to ameliorate disease management and quality of life of patients. The PI3K γ -derived peptide received the Orphan Drug Designation by the European Medicinal Agency (EU/3/17/1859) in 2017 and we envisage completing preclinical safety assessments in 1.5 years.*

Sviluppo di un peptide derivato da PI3K γ come nuovo potenziatore del CFTR-F508del

Ragioni dello studio. La causa principale della fibrosi cistica (FC) è una mutazione nel gene CFTR. Nei pazienti FC, la funzione della proteina canale CFTR difettosa può essere recuperata da correttori e potenziatori, molecole che ripristinano, rispettivamente, la corretta localizzazione in membrana e l'apertura, del canale. La loro efficacia clinica purtroppo è insoddisfacente. Abbiamo recentemente sviluppato un peptide derivato dall'enzima PI3K γ che regola i livelli cellulari di AMP ciclico (cAMP), il principale stimolatore dell'attività del CFTR, e abbiamo dimostrato che il peptide ripristina le correnti del CFTR difettoso (F508del) in modo più efficiente rispetto al potenziatore standard VX-770.

Ipotesi e obiettivi. Nell'ottica di sviluppare il peptide PI3K γ come un nuovo farmaco per uso clinico, ne abbiamo completato l'ottimizzazione chimica. In particolare, abbiamo cercato di ottenere una molecola che ricapitolasse le ca-

ratteristiche biologiche del peptide originale, ma implicasse costi di sintesi inferiori. Infine, abbiamo ulteriormente caratterizzato il meccanismo d'azione del peptide PI3K γ originale.

Metodi essenziali. Abbiamo valutato l'effetto dei derivati del peptide originale sui livelli di cAMP in cellule epiteliali bronchiali normali. Inoltre, abbiamo indagato ulteriormente i meccanismi molecolari alla base dell'attività del peptide PI3K γ originale sul CFTR mutato (F508del), misurando le correnti di cloruro e la quantità di canale espresso in membrana in cellule epiteliali bronchiali CF trattate col peptide.

Risultati. Abbiamo identificato la sequenza più corta e biologicamente attiva del peptide PI3K γ (sequenza più MIN) e abbiamo verificato che questa sequenza aumenta i livelli di cAMP cellulari con la stessa efficienza del peptide originale in cellule epiteliali bronchiali normali. Inoltre, abbiamo dimostrato che il peptide originale è in grado di stimolare l'attività del CFTR in cellule epiteliali bronchiali F508del anche in assenza di un correttore, suggerendo che il peptide può agire esso stesso come correttore del CFTR.

Conclusioni. Nel complesso, i nostri dati suggeriscono che il peptide PI3K γ agisca sia da potenziatore che da correttore del CFTR, e possa essere sfruttato come unico agente terapeutico per il trattamento di pazienti con la mutazione F508del. Nel 2017 il peptide PI3K γ ha ricevuto la designazione di Farmaco Orfano dall'Agencia Europea del Farmaco.

11. In depth-characterization of the molecular mechanisms underlying PI3K γ -mediated regulation of CFTR channel

Ghigo A¹, Murabito A¹, Pirozzi F^{1,2}, Sala V¹, Ren K¹, Quinney NL³, Gentsch M³, and Hirsch E¹

¹Department of Molecular Biotechnology and Health Sciences, Molecular Biotechnology Center, University of Torino, Torino, Italy, ²Division of Internal Medicine, Department of Translational Medical Sciences, Federico II University, Naples, Italy, ³Marsico Lung Institute/Cystic Fibrosis Research Center, University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, USA (FFC#8/2018, New)



Emilio Hirsch, responsabile del progetto

Background and rationale. *The underlying cause of cystic fibrosis (CF) is a mutation in the gene encoding the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR), a cyclic AMP (cAMP)-stimulated chloride channel. The clinical approval of Orkambi[®], a combined drug composed of a CFTR potentiator and a corrector, highlighted the possibility of pharmacologically targeting the basic molecular defect of CF. However, the efficacy of this treatment appears unsatisfactory (1-3), likely because these molecules have been identified without a mechanistic rationale.*

Hypothesis and objectives. *The major aim of the proposed project is to better understand CFTR biology and regulation,*

so to set the basis for a rationale and mechanism-driven approach for conceiving new therapies for CF.

Essential methods. We recently patented a cell-permeable peptide derived from phosphoinositide 3-kinase gamma (PI3K γ). Within this project, we will exploit a PI3K γ -derived peptide as a unique pharmacological tool to better understand the interplay between PI3K γ , PDEs and the CFTR macromolecular complex. Moreover, we will assess the role of PI3K γ in cAMP compartmentalization (in airway epithelial cells), as well as in cAMP-dependent gating, stabilization and trafficking of CFTR.

Results. We identified PI3K γ as a key component of the CFTR macromolecular complex, and demonstrated that this enzyme restrains cAMP-mediated activation of the channel through a kinase-unrelated mechanism (4). By means of the PI3K γ -derived peptide, we were able to target this unexpected function of PI3K γ , and provided evidence that this molecule owns CFTR modulator properties.

Conclusions. We expect to validate PI3K γ as a new pivotal regulator of CFTR function, stability and trafficking. The rationale-based and mechanism-driven approach of the current project will ultimately allow the development of a new more finely tuned therapy targeting CF basic defect. Current treatment regimens for CF are complex and time consuming, with a bad impact on patients' adherence and quality of life. The results of this project will eventually result in the development of new therapeutic tools that will permit to ease patient care, with a positive impact on both disease management and patients' quality of life.

Caratterizzazione approfondita dei meccanismi molecolari alla base della regolazione del canale CFTR da parte dell'enzima PI3K γ

Ragioni dello studio. La causa che sta alla base della fibrosi cistica (FC) è una mutazione nel gene che codifica per il regolatore di conduttanza transmembrana della fibrosi cistica (CFTR), un canale del cloro stimolato dall'AMP ciclico (cAMP). L'approvazione del farmaco Orkambi® nella pratica clinica ha messo in evidenza la possibilità di colpire farmacologicamente il difetto molecolare di base della FC. Tuttavia, l'efficacia di questo trattamento appare insoddisfacente, probabilmente perché queste molecole sono state sviluppate senza conoscerne i meccanismi d'azione.

Ipotesi e obiettivi. L'obiettivo principale di questo progetto è di comprendere meglio la biologia e la regolazione del CFTR. In questo modo sarà possibile sviluppare nuove terapie per la FC con un approccio razionale guidato dalla conoscenza dei meccanismi di base.

Metodi essenziali. Recentemente, abbiamo brevettato un peptide derivato dall'enzima fosfoinositolo 3-chinasi gamma (PI3K γ), capace di entrare all'interno delle cellule. In questo progetto sfrutteremo questo peptide derivato da PI3K γ come strumento per comprendere meglio l'interazione tra PI3K γ e le proteine che fanno parte del complesso del CFTR. Valuteremo inoltre il ruolo di PI3K γ nella regolazione della funzionalità, della stabilizzazione e del trasporto alla membrana plasmatica del CFTR.

Risultati preliminari. Recentemente abbiamo identificato la PI3K γ come una componente chiave del complesso macromolecolare del CFTR, e abbiamo dimostrato che questo enzima regola l'attivazione dal canale mediata da cAMP attraverso un meccanismo non correlato all'attività chinasi. Inoltre, abbiamo dimostrato che il peptide derivato da PI3K γ è in grado di agire come modulatore del CFTR.

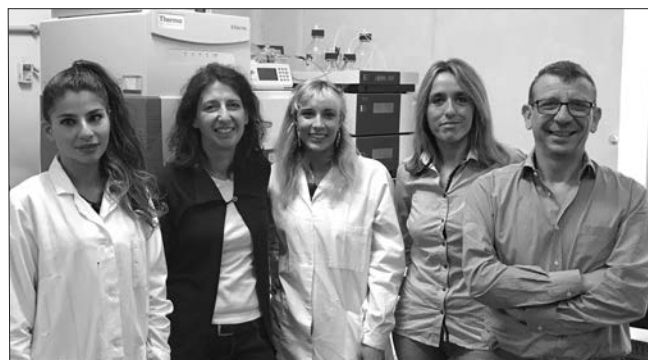
Conclusioni. Ci aspettiamo di convalidare il ruolo cardine di PI3K γ nella regolazione del CFTR. L'approccio sperimentale del progetto, basato sul meccanismo del difetto di base, potrà consentire lo sviluppo di una nuova terapia più mirata. Gli attuali trattamenti per la FC combinano diversi farmaci per ritardare il danno polmonare. Di conseguenza, i regimi

giornalieri raccomandati per la maggior parte dei pazienti FC sono lunghi e complessi, con un impatto negativo sull'aderenza al trattamento da parte dei pazienti e sulla qualità della vita. I risultati di questo progetto possono portare allo sviluppo di nuovi strumenti terapeutici mirati a migliorare i piani di cura, con un impatto positivo sulla gestione della malattia e sulla qualità della vita dei pazienti.

12. Pharmacophore and pharmacokinetic filtering tools guiding for the design and synthesis of novel thiazole-containing and VX-809 hybrid derivatives as F508del correctors

Liessi N¹, Cichero E², Pesce E³, Pedemonte N³, Salis A¹, Tasso B², Damonte G^{1,4}, Righetti G², Fossa P² and Millo E^{1,4}

¹Center of Excellence for Biomedical Research (CEBR), University of Genoa, Genoa, Italy, ²Department of Pharmacy, Section of Medicinal Chemistry, University of Genoa, Genoa, Italy, ³U.O.C. Genetica Medica, Istituto Giannina Gaslini, Genoa, Italy, ⁴Department of Experimental Medicine, Section of Biochemistry, University of Genoa, Genoa, Italy (FFC#6/2017, Concluded)



Enrico Millo, primo a destra, con le collaboratrici

Background. Cystic fibrosis (CF) is an autosomal recessive genetic disorder that results from the functional deficiency in a plasma membrane anion channel known as CFTR. The disease is caused by mutations in the CFTR which encodes a cAMP-regulated chloride channel. The primary defects can be treated with drug-like small molecules, known as "CFTR modulators". The most promising data came from molecular screening strategies, guiding towards the discovery of thiazole-containing correctors. In previous studies, we identified a class of compounds called aminoarylthiazoles (AATs) that potentially correct the CF basic defect and also showed a strong additive effect when combined with VX809.

Hypothesis and objectives. In our project we proceed applying a ligand-based strategy in order to enlighten the most relevant chemical groups involved in the modulator ability. Thus, we collected all the corrector chemo-types already known in the literature and used this set of molecules to perform pharmacophore analysis and QSAR studies. A limited number of selected descriptors has been chosen as filtering tools for the design of novel thiazole-based derivatives. The main objectives of our project was to identify new compounds, belonging both to the family of AATs and of VX-809 analogues, which have the ability to correct the CFTR protein defect caused by F508del.

Essential Methods. In an attempt to construct more active molecules, it was thought to generate chemically hybrid compounds, blending a portion of VX809 merged to the thiazole scaffold. Novel AAT analogues has been designed by filtering on the information obtained but these QSAR analyses, synthesized and tested on CFBE41o- cells expressing F508del to

further explore the chemical space around the thiazole ring.

Results. We evaluated different AAT-VX-809 hybrid derivatives with corrector properties. The new molecules were tested in functional and biochemical assays showing a promising corrector activity. Starting from the most active compounds, we have designed a second series of hybrids that could improve the good results obtained.

Conclusions. Herein we reported a ligand-based approach including quantitative-structure activity relationship (QSAR) that efficiently led to the rational design and optimization of VX-809 and thiazole-containing hybrid compounds. Such molecules may represent lead compounds for the development of drugs that correct the basic defect in CF patients.

Analisi farmacoforica per la progettazione e sintesi di nuovi derivati tiazolici ibridi di VX-809 come correttori della mutazione F508

Ragioni dello studio. Nei pazienti affetti da fibrosi cistica la struttura e le funzionalità della proteina di membrana CFTR sono compromesse a causa di mutazioni a carico del gene che la codifica. La correzione del difetto di base può essere ottenuta ripristinando la funzione della proteina CFTR mutata attraverso l'uso di opportuni modulatori. I dati più promettenti derivano da strategie di screening di molecole, alcuni dei quali hanno portato alla scoperta di correttori a struttura tiazolica. Negli studi precedenti, abbiamo individuato una classe di composti chiamati aminoariltiazoli (AATs) che correggono il difetto di base mostrando un effetto additivo in combinazione con VX809.

Ipotesi e obiettivi. Nell'ambito di questo progetto, sono stati condotti studi di "ligand-based" e QSAR (Relazione Quantitativa Struttura/Attività) per identificare un certo numero di descrittori capaci di spiegare la variazione struttura-attività osservata per diverse classi di correttori descritte in letteratura. Con questo approccio è stato prodotto un modello matematico in grado di predire l'efficacia di un determinato correttore prima della sua sintesi chimica. Tale modello è stato utilizzato come filtro per la progettazione razionale di nuove strutture da sintetizzare e testare come correttori di F508del. In particolare, ci siamo concentrati sulla progettazione di una libreria di composti definiti "ibridi" ottenuti unendo gli scheletri, opportunamente modificati, di VX809 e AATs.

Metodi essenziali. Nel tentativo di costruire molecole più attive, sono state progettate e sintetizzate librerie di composti, mescolando porzioni di VX809 con la struttura tiazolica. I nuovi analoghi sono stati testati in analisi funzionali e biochimiche su linee cellulari che esprimono F508del per valutarne l'efficacia.

Risultati. Ad oggi abbiamo valutato l'attività di alcuni derivati con l'interessante capacità di migliorare la funzionalità della proteina CFTR mutata. Le nuove molecole testate hanno mostrato una promettente attività correttiva suggerendo di approfondire gli sforzi sintetici attorno alla struttura tiazolica, fondendola con essa alcune porzioni del noto correttore VX-809.

Conclusioni. L'obiettivo finale del nostro progetto è stata l'identificazione di piccole molecole in grado di correggere il difetto di base nella terapia della fibrosi cistica oltre a fornire un attendibile modello computazionale per lo studio di CFTR. Sono in fase di progettazione e di studio nuovi derivati ibridi contenenti porzioni tiazoliche in grado di stimolare più efficacemente il trasporto di cloruro nelle cellule epiteliali.

13. Myriocin potential as a phenotype-modifier in Cystic Fibrosis

Mingione A^{1,3}, Ottaviano E², Bonezzi F³, dei Cas M^{3,4}, Piccoli M⁵, Barcella M², Caretti A³, Paroni R⁴, Ghidoni R³, Cirilli N⁶, Borghi E², Signorelli P³

¹Italian Research Cystic Fibrosis Foundation, Verona,

²Microbiology Laboratory, Health Sciences Department, University of Milan, ³Biochemistry and Molecular Biology Laboratory, Health Sciences Department, University of Milan, ⁴Clinical Biochemistry and Mass Spectrometry Laboratory, Biochemistry and Molecular Biology Laboratory, Health Sciences Department, University of Milan, ⁵Stem Cells for Tissue Engineering Laboratory, IRCCS Policlinico San Donato, ⁶Cystic Fibrosis Regional Reference Center, United Hospitals, Salesi Childrens' Hospital Mother, Child Department, Ancona (FFC#11/2016, Concluded)



Paola Signorelli, seconda da destra, con le collaboratrici

Background and rationale. Deletion of phenylalanine 508 ($\Delta F508$) in CFTR gene, occurring in 70% of Cystic Fibrosis (CF) patients, induces a proteinopathy that is characterized by aggregates of mutated proteins, hyper-inflammation, impaired trafficking and altered metabolism at cellular level. Aside to lung chronic inflammation and infections, severe comorbidities develop in pancreas, kidney, include infertility, osteopenia, diabetes and dyslipidemia with increased plasma triglyceride and tissues cholesterols, pancreas fibrolipomatosis, hepatic lipogenesis and steatosis. The lipotoxin ceramide contributes to lung hyper-inflammation. We previously demonstrated that the ceramide synthesis inhibitor Myriocin, reduces inflammation and ameliorates defense response against bacterial and fungal infection in CF in vitro and in vivo models.

Hypothesis and objectives. We here aim at demonstrating the mode of action of Myriocin as an anti-inflammatory and antimicrobial therapeutic agent.

Essential Methods. Myriocin treatment will be evaluated in $\Delta F508$ -CFTR broncho epithelial cell line and in peripheral blood monocytes derived from CF patients, either homozygous or heterozygous for $\Delta F508$.

Results. First, we show that Myriocin is an effective inducer of autophagy, which is defective in CF. Second, we demonstrate that Myriocin activates key transcriptional factors, TFEB, FOXO1a and PPARgamma, involved in autophagy induction, mitochondrial activity, energy production, lipid mobilization and consume. Next, we prove that Myriocin significantly increases the transcription of downstream genes, regulating fatty acids entry in mitochondria (CTP1a and 1b; FATP) and their oxidation (ACAD L). We show that Myriocin significantly reduces pathological accumulation of lipid un-organized deposits. We observe that inhibition of sphingolipid synthesis causes a reduced content of non sphingoid-lipids such as cholesterols. By RNA sequencing, we then prove that Myriocin changes the transcriptional profile of treated cells, enhancing the transcription of genes involved in lipid transport and consume and energy metabolism, that is partially downregulated in CF. Finally Myriocin treatment of peripheral blood monocytes from CF patients, infected with *A. fumigatus*, significantly increases their pathogen killing ability.

Conclusions. Myriocin has a therapeutic action against infection and it is a promising agent in the cure of CF diabetes and dyslipidemia comorbidities.

La Myriocina ha la capacità di modificare alcune caratteristiche morfologico-funzionali alterate della Fibrosi Cistica

Ragioni dello studio. La delezione della fenilalanina 508 nel gene del CFTR comporta l'accumulo di proteine aggregate che induce infiammazione e altera il metabolismo a livello cellulare. Accanto al più grave danno polmonare, i pazienti sviluppano comorbidità con disfunzioni pancreatiche e renali, infertilità, osteopenia, diabete e dislipidemia, con aumento di trigliceridi plasmatici, colesteroli tissutali e steatosi epatica. L'accumulo della lipotossina ceramide è una delle cause di infiammazione cronica polmonare in FC. Il nostro gruppo ha precedentemente dimostrato che l'inibitore della sintesi di ceramide, Myriocina, riduce l'infiammazione polmonare e l'infezione batterica e fungina in modelli murini di FC.

Ipotesi e obiettivi. Scopo di questo lavoro è comprendere il meccanismo che determina gli effetti anti-infiammatori e di protezione da infezioni della Myriocina.

Metodi essenziali. L'effetto della Myriocina verrà valutato in cellule epiteliali bronchiali FC e in monociti derivanti da sangue periferico di pazienti FC volontari.

Risultati. Abbiamo dimostrato che la Myriocina stimola un percorso fisiologico (autofagia), inefficiente in FC, e di supporto all'eliminazione di infezioni. Myriocina aumenta l'espressione di geni, noti per: i) attivare il percorso di autofagia; ii) spingere verso il consumo dei lipidi impropriamente accumulati nel paziente FC e causanti infiammazione; iii) stimolare la produzione di energia per combattere lo stress indotto da infezioni, che si avvalgono dei depositi lipidici per persistere. Cellule FC, rispetto a cellule sane, accumulano lipidi, soprattutto ceramidi e colesteroli, che sono ridotti dal trattamento con Myriocina. Abbiamo dimostrato che il profilo trascrizionale delle cellule FC varia rispetto alle sane, e che il trattamento delle cellule FC con Myriocina aumenta l'espressione dei geni coinvolti nel trasporto e consumo lipidico e nel metabolismo energetico. Infine abbiamo isolato i monociti dal sangue periferico di pazienti volontari, li abbiamo infettati con un fungo noto per la sua pericolosità in FC (*A. fumigatus*) e abbiamo dimostrato che il trattamento con Myriocina aumenta in modo significativo la capacità di uccidere il patogeno infettante.

Conclusioni. La Myriocina induce un cambiamento metabolico e trascrizionale, aiutando a recuperare la funzione di difesa dalle infezioni ed il suo effetto terapeutico potrebbe essere vantaggioso in pazienti con comorbidità quali il diabete e la dislipidemia.

14. Towards the discovery of new correctors based on nitrogen heterocyclic systems

Spanò V¹, Musante I², Montalbano A¹, Genovese M², Scudieri P², Barraja P¹

¹Department of Biological, Chemical and Pharmaceutical Sciences and Technologies (STEBICEF), University of Palermo, Italy ²Telethon Institute of Genetics and Medicine (TIGEM), Pozzuoli (NA), Italy (FFC#4/2018, New)

Background and Rationale. Cystic fibrosis (CF) is a genetic disease caused by mutations in CFTR gene. Correctors specifically address the folding and trafficking defects of F508del-CFTR protein. There is a general belief that treatment with a single corrector is not enough to achieve a clinically-relevant rescue of F508del defect and that a combination of correctors having complementary mechanisms is desired. Nearly 300 synthetic compounds were tested and two hit scaffolds were found from which one lead compound was initially identified (PP7) and further improved (PP8).



Foto sx, Paola Barraja, seconda da destra, responsabile del progetto.
Foto dx, Paolo Scuderi, primo a destra, partner

Hypothesis and Objectives. Based on a medicinal chemistry approach the following step by step sequence will be applied: validation and analysis of PP8 mechanism of action confirming the activity of PP8 and its synergy with VX-809; synthesis of new analogues of PP8 with improved corrector activity; synthesis of new scaffolds with optimized efficacy and potency on F508del-CFTR

Essential methods. Supported by the experience gained in the chemistry of nitrogen heterocycles, medicinal chemists will synthesize new molecules and, on the basis of SAR studies, the pharmacological insights will inspire the synthesis of new compounds, with optimized efficacy and potency on F508del-CFTR. All compounds will be tested as correctors i) on primary airway epithelial cells (bronchial and/or nasal) to confirm activity; ii) in biochemical assays and by microscopy to evaluate effect on F508del-CFTR maturation/trafficking.

Preliminary results. A previous screening revealed one compound, PP7, which showed an interesting ability to functionally rescue F508del-CFTR, particularly in combination with VX-809. This finding led to the synthesis of analogues among which we found PP8 which was also active in primary bronchial epithelial cells. The results obtained so far indicate PP8 as a lead candidate to develop highly effective F508del correctors, capable to synergize with class 1 correctors, thus indicating a new complementary mechanism of action.

Conclusions. We expect to generate a new class of small molecules for the correction of the basic defect in CF, with a particular ability to synergize with first generation correctors to maximize the rescue of mutant CFTR.

Verso l'identificazione di nuovi correttori basati su sistemi eterociclici azotati

Background e razionale. La Fibrosi Cistica (FC) è una malattia genetica causata da una mutazione del gene CFTR. I correttori sono farmaci capaci di correggere i difetti di ripiegamento e maturazione della proteina F508del-CFTR. E' convinzione comune che il trattamento con un singolo correttore non è sufficiente ad ottenere un recupero del difetto F508del clinicamente rilevante e che l'uso di una combinazione di correttori con meccanismi complementari è invece auspicabile. Circa 300 composti di sintesi sono stati saggiati come correttori, da cui sono stati identificati due hit scaffolds e un lead compound (PP7) che è stato successivamente migliorato (PP8).

Ipotesi e obiettivi. Basandoci su un approccio di chimica farmaceutica verrà seguito il seguente percorso: Validazione e analisi del meccanismo d'azione di PP8 confermandone l'attività e il suo effetto sinergico con il VX-809; Sintesi di nuovi analoghi di PP8 che siano dotati di massima efficacia e affinità per la proteina CFTR mutata sulla base di studi SAR; Sintesi di nuovi scaffolds come potenti correttori della proteina F508del-CFTR

Metodi. Supportati dall'esperienza sugli eterocicli azotati, i chimici farmaceutici sintetizzeranno nuove molecole e, sulla base di studi SAR, i risultati farmacologici ispireranno la sintesi di nuovi composti con potenza ed efficacia ottimizzata sulla proteina F508del-CFTR. Tutti i composti

saranno saggiati come correttori: i) su linee cellulari e cellule epiteliali primarie (bronchiali e/o nasali) per confermarne l'attività; ii) in saggi biochimici e per microscopia per valutare l'effetto sulla maturazione e trasporto della proteina mutata.

Risultati preliminari. Un primo screening ha evidenziato un composto, PP7, con una interessante capacità di recupero funzionale della proteina F508del-CFTR, specialmente in combinazione con il VX-809. Dalla sintesi di altri analoghi è emerso PP8 che è risultato attivo anche sulle cellule primarie epiteliali nasali e bronchiali. Questo composto costituisce un promettente *lead compound* per lo sviluppo di nuovi efficaci correttori capaci di generare effetti sinergici in combinazione con farmaci correttori già disponibili.

Conclusioni. Prevediamo di generare una nuova classe di piccole molecole per la correzione del difetto di base nella FC, con particolare capacità di svolgere azione sinergica con i correttori di prima generazione.

15. Rescuing defective CFTR applying a drug repositioning strategy based on computational studies, surface plasmon resonance and cell-based assays

D'Ursi P¹, Orro A¹, Urbinati C², Uggeri M¹, Paiardi G², Millo E^{3,4}, Milanese L¹, Fossa P⁵ e Rusnati M¹

¹ITB-CNR Segrate MI ²DMMT University of Brescia ^{3,4}Exp Med/CEBR University of Genoa ⁵Dept. of Pharmacy University of Genoa (FFC#11/2018, New)



Marco Rusnati, a sinistra, responsabile, Paola Fossa e Alessandro Orro, partner del progetto

Background. Cystic Fibrosis (CF) is caused by mutations of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR). Current CF therapies are aimed at symptoms alleviation, calling for new drugs to rescue CFTR function.

Hypothesis and objectives. Drug repositioning is aimed at finding new applications for already marketed drugs, reducing cost and duration and the likelihood of unforeseen adverse events. We recently exploited an in-tandem approach of computational studies and surface plasmon resonance (SPR) with F508Δ-NBD1 to identify new CF drugs and to comprehend their mechanism of action. Here, to achieve this aim, we will integrate the above described technologies.

Essential methods. New structural homology models of intact human F508Δ-CFTR embedded in a phospholipid bilayer will be prepared and used in drug repositioning with different compounds databases searching for F508Δ-CFTR-targeted drugs that will be evaluated for their rescue capacity in cell-based assays. Selected compounds will be further characterized by computational studies and SPR

analysis. For SPR analysis, a biosensor will be prepared with the protein immobilized in the presence of a cell membrane-mimicking lipid film to preserve the 3D structure of the protein.

Preliminary results. Molecular dynamics of the protein embedded in phospholipid allowed to explore the conformational plasticity of protein cavities identifying 75 drug-gable pockets for drug repositioning. The biosensors with intact F508 -CFTR has been prepared and used in SPR analysis that have been compared to those obtained with biosensors containing the isolated F508Δ-NBD1, showing that the novel biosensor allows the identification of F508Δ-binding compounds discriminating between those interacting with NBD1 or other domains.

Spin-off for research and clinical purposes. The novel computational models and biosensors will widen the study of CF drugs, will be employed for drug repositioning and made available to other research groups in the field of CF.

Studi computazionali e Risonanza Plasmonica di Superficie per il recupero del pathway di CFTR: identificazione di nuovi bersagli terapeutici attraverso analisi di interazione molecolare e riposizionamento di farmaci

Ragioni dello studio. La possibilità di sviluppare nuovi farmaci che correggano i difetti di CFTR mutato, causa della fibrosi cistica (FC), è l'obiettivo di numerose ricerche.

Ipotesi e Obiettivi. Il riposizionamento del farmaco è una tecnologia diretta a scoprire nuove applicazioni per farmaci già utilizzati per altre patologie. Essa riduce costi e durata dei programmi di sviluppo ed evita i rischi di effetti indesiderati. In un precedente progetto FFC abbiamo ottimizzato un approccio multidisciplinare di studi computazionali e risonanza plasmonica di superficie (SPR) per l'identificazione di nuovi farmaci per FC. In questo progetto ci proponiamo di integrare le sopracitate tecnologie con appropriati modelli cellulari per scoprire farmaci già commercializzati in grado di indurre benefici terapeutici nella FC.

Metodi essenziali. Procederemo allo sviluppo di modelli virtuali di CFTR mutato in ambiente lipidico. Parallelamente prepareremo biosensori SPR contenenti CFTR mutato in un film lipidico per conservare la sua corretta struttura 3D. Con il modello virtuale di CFTR mutato effettueremo uno "screening" virtuale di librerie di farmaci già noti, per valutare la loro capacità legante. I farmaci selezionati saranno ulteriormente studiati a livello computazionale ed analizzati in SPR per confermare la loro capacità di legare CFTR mutato e di indurre modificazioni conformazionali. Mediante appropriati modelli cellulari di FC verrà infine valutata la loro potenzialità terapeutica.

Risultati Preliminari. Nel breve tempo trascorso dall'inizio del progetto abbiamo già prodotto già prodotto i modelli virtuali e i biosensori di CFTR umano mutato, dimostrando che quest'ultimi sono effettivamente in grado di identificare piccole molecole in grado di legare CFTR.

Conclusioni. Il progetto intende identificare, tramite il riposizionamento, farmaci già in uso in altre terapie per il recupero della funzionalità di CFTR mutato, con conseguenti costi e tempi ridotti. Inoltre i nuovi modelli sperimentali e computazionali saranno resi disponibili alla comunità scientifica.

PLENARY SESSION 3

CLINICAL PERSPECTIVES

16. Outcomes of spontaneous application of carrier screening for cystic fibrosis: follow-up of its effects on birth prevalence, neonatal screening and reproductive behaviour of carrier couples

Castellani C

Centro FC, Ist. G. Gaslini, Genova, (FFC#26/2015, Concluded)



Carlo Castellani, responsabile del progetto

Background. In the latest decades the offer of CF carrier tests to individuals and couples with non-increased a priori risk of having affected children (Carrier Screening) has been widely practiced in a sub-area of north-eastern Italy (Eastern Veneto), although not in a structured and formal setting. A reverse correlation between number of carrier tests and CF incidence was previously shown.

Hypothesis and objectives. This observational study aimed at 1) understanding if a drop in the use of carrier screening could be associated with higher CF incidence, 2) monitoring trends of CF birth prevalence in the eastern part of the Veneto region over an unprecedented long period; 3) evaluating reproductive behavior of carrier couples identified by carrier screening.

Methods. Collection of data on CF tests performed, quality control and monitoring of results obtained (source: genetic labs); collection of data on CF birth prevalence (source: neonatal screening of the Verona CF Centre); investigation on the causes of the decrease in the number of tests performed in the Study Area; survey on CF Genetic Counseling sessions performed (2014-2016) in an experimental subarea, with the aim of evaluating the ways of access to counseling of carriers and carrier couples.

Results. Collection of data on Carrier Screening completed (1993-2017); a reduction in the number of tests performed in the area is confirmed, with a concomitant increase in CF incidence; identification of the main causes of the test reduction (namely: 1) effects of the economic crisis; 2) reorganization of the carrier test offer following the entry into force of the pertaining recent regional legislation; 3) consequent transformation of the private supply market; re-evaluation of carrier frequency in the area under study (1/29); only a fraction of carriers detected by screening use genetic counseling facilities.

Conclusions. The association between more newborns with CF and less carrier tests support previous data on the correlation between carrier screening and CF incidence. The results of the Survey on Genetic Counseling indicate the importance of implementing structured carrier screening programs that provide adequate access to pre-test information and consulting after analysis.

Risultati di un'offerta non organizzata di screening del portatore di fibrosi cistica: monitoraggio degli effetti su incidenza della malattia, screening neonatale e scelte riproduttive delle coppie di portatori

Ragioni dello Studio. L'offerta del test del Portatore di fibrosi cistica (FC) a individui e coppie della popolazione generale (Screening del Portatore) è diffusa e ampiamente utilizzata in parte del Nord-Est d'Italia (Veneto Orientale), sebbene non in un setting strutturato e formale. Una correlazione inversa tra numero di test del portatore e incidenza di FC è stata precedentemente dimostrata.

Ipotesi e Obiettivi. Questo studio osservazionale voleva 1) continuare a monitorare i trend della prevalenza di nascite FC nel Veneto orientale e correlarli con lo Screening del Portatore per un periodo di tempo senza precedenti (1993-2017), 2) valutare se una flessione dell'utilizzo dello screening del portatore si potesse associare ad un aumento dell'incidenza di FC; 3) valutare il comportamento riproduttivo delle coppie di portatori identificate dallo screening neonatale.

Metodi. Raccolta di dati sul numero di test effettuati, controllo qualità e monitoraggio dei risultati ottenuti (fonte: laboratori di genetica molecolare); raccolta di dati sulla prevalenza di nascite FC (fonte: screening neonatale del Centro Fibrosi Cistica di Verona); indagine sulle cause della diminuzione del numero di test effettuati nell'Area di studio; indagine sulle Consulenze Genetiche effettuate (2014-2016) in una sub-area sperimentale.

Risultati. La raccolta di dati sullo Screening del Portatore FC è stata completata (1993-2017). È stata confermata una riduzione del numero di test effettuati nell'Area di Studio con un concomitante aumento dell'incidenza FC. Identificazione delle probabili cause della diminuzione del numero di test, ovvero: 1) effetti della crisi economica; 2) riorganizzazione dell'offerta del test del portatore a seguito dell'entrata in vigore della recente normativa regionale in materia; 3) conseguente trasformazione del mercato privato convenzionato. Rivalutazione della frequenza del portatore nell'area in studio: 1/29. Evidenza di sottoutilizzo dei servizi di consulenza genetica da parte degli utenti dello screening del portatore.

Conclusioni. L'aumento del numero di nati affetti da FC in associazione alla flessione del numero di test del portatore confermano la correlazione tra screening del portatore e incidenza di FC. I risultati dell'indagine sulle Consulenze Genetiche sottolineano l'importanza di inserire l'offerta del test del portatore FC alla popolazione generale in un programma strutturato di screening che preveda adeguate modalità di accesso all'informazione pre-test ed alla consulenza dopo l'analisi.

17. Italian multicenter study of glucose tolerance defects in cystic fibrosis

Battezzati A¹, Colombo C², Lucidi V³, Magazzù G⁴, Mari A⁵
¹DeFENS, Università di Milano, ²Centro FC, Policlinico Mangiagalli, Milano, ³Ospedale Bambino Gesù, Roma, ⁴Università di Messina ⁵IN, CNR, Padova (FFC#20/2016, Concluded)

Background and rationale. Cystic Fibrosis Related Diabetes (CFRD) is a frequent complication associated to pulmonary and nutritional decay even years prior to diagnosis. Prominent defect is insufficient insulin secretion worsening with age. From 2003 we followed prospectively more than



Alberto Battezzati, in alto a sx, e i partner del progetto V. Lucidi, A. Mari, C. Colombo e G. Magazzù

300 patients with 1,000 OGTTs modified to quantify insulin secretory and sensitivity defects.

Hypothesis and objectives. Insulin secretory defects arise early in life, may predispose to CFRD, nutritional and respiratory deterioration. Focus is on the deleterious effects of reduced insulin secretion prior to the development of hyperglycemia. Primary aim was to create for the Italian CF population, reference values of glucose, insulin and c-peptide concentrations in response to OGTT, and of model-derived parameters of insulin secretion and insulin sensitivity. Secondly, to clarify the relationship of secretory defects with pancreatic insufficiency, liver disease and new CF therapies

Essential methods. a) creation of a centralized data platform to upload all clinical and laboratory data, suitable to follow up b) 450 OGTTs with simultaneous measure of insulin secretory and sensitivity parameters c) reference values calculation at a national level d) analysis of the association of the secretory parameters with clinical endpoints

Results. For the OGTTs performed, funding covered the collection of glucose concentrations and clinical data, but co-funding from recruiting centers allowed the completion of 406 studies with insulin secretory data and the remaining studies being concluded with insulin secretory data shortly. Insulin and c-peptide assays provided comparable measures among centers. Modelling is underway as well as statistical analysis for reference values and relationship with clinically relevant biomarkers. Preliminary analysis from the Milan group (inclusive of previously collected data) showed that Glucose Sensitivity and Insulin concentration at 30' are the main correlates of lung function and long term predictors of CFRD and adult height

Conclusions. Sex and age adjusted nomograms of OGTT parameters will be powerful tools to describe the glucose tolerance defects natural history, to predict future CFRD, nutritional and respiratory decay and to set a rational basis for treatment. A collaboration has been set with a US multicenter group, that will replicate our protocol and analysis in an equal number of patients, under the agreement to produce common international reference values.

Studio multicentrico italiano dei deficit di tolleranza glicemica in fibrosi cistica

Ragioni dello studio. Il diabete in fibrosi cistica (CFRD) è una complicanza frequente, associata a problematiche polmonari e nutrizionali anni prima della diagnosi di diabete. Dipende da un deficit progressivo di secrezione insulinica. Dal 2003 più di 300 pazienti sono stati seguiti prospettivamente, con 1.000 carichi orali di glucosio (OGTT) per misurare la secrezione e la sensibilità insulinica.

Ipotesi e obiettivi. I deficit di secrezione insulinica sono già presenti in età precoce e potrebbero predisporre a CFRD.

Il focus è stato sul deficit secretorio insulinico prima dello sviluppo di iperglicemia. L'obiettivo primario è stato creare, per la popolazione italiana FC, valori di riferimento per le risposte glicemiche e insulinemiche e per i parametri derivabili, e secondariamente studiare la relazione dei deficit di secrezione insulinica con insufficienza pancreatica, epatopatia e nuove terapie.

Metodi essenziali. a) piattaforma dati adatta a raccogliere dati prospettivi dei pazienti b) 450 OGTT con misura di parametri di secrezione e sensibilità insulinica c) calcolo di valori di riferimento a livello nazionale d) analisi delle associazioni tra parametri di secrezione ed endpoint clinici.

Risultati. Per gli OGTT eseguiti, il finanziamento ha coperto la raccolta dei dati clinici e delle concentrazioni di glucosio, mentre co-finanziamenti dei centri hanno permesso di concludere 406 studi con i dati di secrezione insulinica ed i rimanenti in completamento a breve. I dati di insulina e c-peptide sono risultati comparabili tra i centri. Sono in corso la modellizzazione di secrezione e sensibilità insulinica, l'elaborazione dei valori di riferimento e lo studio dei correlati clinici. Analisi preliminari del centro di Milano (inclusive di dati precedenti) mostrano come la sensibilità al glucosio e le concentrazioni di insulina al 30' correlino maggiormente con la funzionalità polmonare e siano predittori a lungo termine di CFRD e altezza in età adulta.

Conclusioni. Nomogrammi aggiustati per sesso ed età dei vari parametri a livello italiano potranno essere potenti strumenti per descrivere la storia naturale delle alterazioni glicemiche in FC, per predire il futuro CFRD e per porre una base razionale al trattamento. È iniziata una collaborazione con un gruppo multicentrico statunitense, a sua volta finanziato per replicare in 3 anni il nostro protocollo su un ugual numero di pazienti, con l'intenzione di costruire comuni valori di riferimento internazionali.

18. Environmental and human reservoirs of *Pseudomonas aeruginosa* and other bacterial species colonizing the lower airways of cystic fibrosis patients

Signoretto C

Department of Diagnostic and Public Health, Microbiology Section, University of Verona (FFC#22/2016, Concluded)



Caterina Signoretto, seconda da sinistra, con il gruppo di ricerca

Background and rationale. There are evidence that the upper airway (nose, paranasal sinuses) and oral cavity may be reservoir of *Pseudomonas aeruginosa* (Pa) and other bacterial that cause infections in CF lung. These adaptation sites probably allow bacteria to persist and then colonize the lower airways. Monitoring and eradication of potentially pathogenic nasal and oral microflora in FC patients is therefore mandatory to prevent/delay a chronic lung infection.

Objectives. 1. To set up and validate a protocol for the recovery of bacterial nasal microflora by nasal lavage (NAL) both in adults and children CF. 2. To evaluate the incidence of potentially pathogenic bacterial species in the upper airway/oral cavity and compare them with those isolated from the sputum. 3. Comparison, by molecular profiles, of bacteria isolated in the upper and lower respiratory tract to confirm their recirculation between the two anatomical districts. 4. Evaluation of the possibility that toothbrushes may act as bacterial reservoirs favouring the colonization of the oral cavity.

Project planning. A total of 60 patients (adult and pediatric) were enrolled; they were divided into two groups: free of colonization of Pa and with chronic infection of Pa. All patients are followed for 12/14 months with visits and sampling of NAL and sputum for a total of 2/3 visits per patient. The Pa free patients, were also involved in monitoring the bacterial flora in the oral cavity and toothbrushes with saliva sampling.

Results/Conclusion. 1. Patients Pa chronic infection: colonization in the lung prevent colonization by other bacterial species, indeed no other microorganism was isolated. 2. Patients no chronic Pa infection: colonization by different emerging pathogens for which there is still no clear pathogenic role. 3. Pediatric patients: *S.aureus* is the predominant bacterial species and it is often isolated together with other bacteria. A high percentage of patients are colonized in the nasal and pulmonary sites by the same genetically related bacterial species, indicating that it is the same clone and confirms their passage from the high to the lower airways. 5. About 40% of toothbrushes were colonized by bacteria and carry them in the oral cavity and thus potentially in the lower respiratory tract.

Clinical purposes. Proposal of guidelines for collection and monitoring of the bacterial flora of the nasal/ paranasal reservoir of selected patients FC, by application of NAL sampling. Identify therapeutic protocols for eradication of upper respiratory tract bacteria in order to prevent their passage in the lower respiratory tract and avoid/delay the onset of chronic lung infection. Introduction of treatment and conservation protocols of toothbrushes in order to avoid contact with environmental bacteria.

Serbatoi ambientali e umani di *Pseudomonas aeruginosa* e altre specie batteriche in grado di colonizzare le basse vie respiratorie di pazienti con fibrosi cistica

Ragioni dello studio. Studi recenti indicano che le vie respiratorie superiori e la cavità orale fungano da serbatoi di *Pseudomonas aeruginosa* (Pa) e altri microrganismi causa di infezioni polmonari in pazienti FC. Tali distretti sono considerati siti di adattamento che permettono ai batteri di persistere e colonizzare le basse vie respiratorie. Il monitoraggio e l'eradicazione della flora nasale/orale patogena è fondamentale per evitare/ritardare l'infezione polmonare cronica.

Obiettivi. 1) Applicare/validare un protocollo per recuperare la flora nasale/paranasale con lavaggio nasale (LN) in pazienti FC adulti e pediatrici; 2) calcolare incidenza delle specie batteriche potenzialmente patogene nelle vie aeree superiori/cavità orale e compararle con quelle isolate dall'escreato; 3) comparare, con metodo molecolare, i ceppi isolati nelle alte e basse vie respiratorie per confermare il loro ricircolo tra i due siti anatomici; 4) valutare la possibilità che gli spazzolini da denti siano serbatoi di batteri e che favoriscano la colonizzazione delle vie aeree.

Pianificazione progetto. In 60 pazienti FC, adulti e pediatrici, 20 con infezione cronica da Pa e 40 liberi da Pa, sono stati eseguiti 2/3 prelievi di LN ed escreato. I pazienti privi di Pa sono stati coinvolti anche nel monitoraggio della flora della bocca e degli spazzolini dentali con un prelievo di saliva e ritiro dello spazzolino ad ogni visita.

Risultati/Conclusioni. 1) Pazienti cronici per Pa: la coloniz-

zazione polmonare da parte di Pa previene quella di altre specie batteriche, infatti in questi pazienti non sono stati isolati altri microrganismi. 2) Pazienti senza infezione cronica Pa: colonizzati da vari microrganismi patogeni emergenti per i quali manca ancora un chiaro ruolo patogeno. 3) Pazienti pediatrici: *S.aureus* è il microrganismo predominante e spesso è isolato con altre specie batteriche. 4) Un'alta percentuale di pazienti sono colonizzati sia nei siti nasali che polmonari dallo stesso microrganismo geneticamente uguale, indicando che si tratta dello stesso clone e conferma del passaggio di microrganismi dalle alte alle basse vie respiratorie. 5) Circa il 40% degli spazzolini risultano colonizzati da batteri e quindi li possono veicolare dall'ambiente alla cavità orale e da qui alle basse vie respiratorie.

Possibili ricadute cliniche. Proposta di linee guida per raccolta e monitoraggio della flora batterica dei seni nasali/ paranasali di selezionati pazienti FC, mediante applicazione di protocollo di LN. Identificazione di protocolli terapeutici per l'eradicazione di batteri delle alte vie respiratorie per prevenire il passaggio nei polmoni ed evitare/ritardare l'insorgenza di infezione polmonare cronica. Introduzione di protocolli di trattamento/conservazione degli spazzolini così da evitare la colonizzazione da parte di batteri ambientali.

19. *Pseudomonas aeruginosa* eradication in patients with cystic fibrosis: a randomised multicentre study comparing classic treatment protocols with classic treatment together with antibiotic treatment of upper airways

Taccetti G¹, Dolce D¹, Campana S¹, Ravenni N¹, Francalanci M¹, Mergni G¹, Orioli T¹, Zavataro L¹, Braggion C¹, Tuccio G², Colombo C³, Cariani L⁴, Girelli D⁴, Collura M⁵, Orlando MA⁵, Pisi G⁶, Villani ML⁶, Longo F⁶

¹Centro Fibrosi Cistica AOU Meyer, Firenze, ²Centro Regionale di Riferimento per la Fibrosi Cistica Regione Calabria, ³Centro Fibrosi Cistica, Università di Milano, Fondazione IRCCS, Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano, ⁴Laboratorio di Microbiologia, Fondazione IRCCS, Ca' Granda - Ospedale Maggiore Policlinico, Milano, ⁵Centro Fibrosi Cistica Palermo, ⁶Centro Fibrosi Cistica Parma (FFC#30/2015, Concluded)



Giovanni Taccetti, terzo da sinistra, con i colleghi di ricerca

Background. Chronic pulmonary infection due to *P. aeruginosa* is a negative prognostic factor for cystic fibrosis (CF) patients. The eradication of *P. aeruginosa* in CF patients has been one of the major areas of treatment success in the last 10 years. Early antibiotic treatment can eliminate the bacteria in 70% of cases and delay the development of chronic infection. Currently, there is no gold standard treatment protocol.

Hypothesis and objectives. It has been demonstrated that patients can be reinfected by *P. aeruginosa*. Recent data indicate that the paranasal sinuses are an initial site of the infection and serve as a reservoir for subsequent reinfection. It has

also been hypothesized that *P. aeruginosa* undergoes genetic adaptation in the respiratory tract of CF patients. The main objective of this study is to compare the efficacy of two types of treatment: the classic eradication protocol used until now, versus the classic protocol together with nasal lavage with colistin. The role of the paranasal sinuses in the development of *P. aeruginosa* infection will be studied microbiologically.

Methods. CF patients were randomised to receive either the classic or the experimental treatment (duration is 4 weeks in both groups). Eradication is defined as 3 negative, successive *P. aeruginosa* cultures within 6 months. The *P. aeruginosa* strains isolated both from the sinuses and the lower respiratory tract of the patients will be investigated microbiologically to evaluate genetic mutations.

Results. 51 patients were randomised in 5 Centres, 25 males and 26 females (average age 13.2 ± 9.8 years). 20% of patients had positive *P. aeruginosa* samples in the upper airway at the time of enrolment. The mean FEV1 values at recruitment were 79.5 ± 19.7 (% of predicted). 25 patients were randomized to classic treatment and 26 to classic treatment associated with nasal irrigations with colistin. 47 (92%) of 51 patients completed 6 months of follow-up with 3 culture tests (follow-up is still ongoing in 4 patients). At present, the group of patients undergoing experimental treatment has a reduced risk of permanence of *P. aeruginosa* in the lower airways compared to the group of patients in the comparative arm (OR = 0.47 95% CI = 0.10-2.20). In patients with recolonization of the lower airways within 6 months the responsible strain showed an identical genotype.

Conclusions. At the present time follow-up in 4 patients must be completed. Although the power of the study is limited, the use of nasal lavages with colistin, in association with classical eradication strategies, was well accepted and could reduce the risk of permanence of *P. aeruginosa* in the lower airway in CF patients. Molecular studies on *P. aeruginosa* strains are still ongoing.

Studio randomizzato multicentrico sull'eradicazione di *Pseudomonas aeruginosa* in pazienti con fibrosi cistica: confronto tra il trattamento eradicante classico e il trattamento classico associato con la terapia delle alte vie respiratorie.

Ragioni dello studio. L'infezione polmonare cronica da *P. aeruginosa* è un fattore prognostico negativo in Fibrosi Cistica (FC). L'eradicazione di *P. aeruginosa* è stata nell'ultimo decennio uno dei maggiori progressi nella terapia della FC. Il trattamento antibiotico precoce elimina il germe dalle vie aeree nel 70% dei casi e ritarda notevolmente lo sviluppo dell'infezione cronica. Attualmente non esiste un protocollo di trattamento eradicante migliore degli altri.

Ipotesi e obiettivo. Dopo il trattamento eradicante molti pazienti ripresentano infezioni da *P. aeruginosa*. I seni paranasali possono essere la sede iniziale dell'infezione e avere un ruolo anche nei successivi episodi infettivi a livello polmonare. È ipotizzabile che a livello dei seni si verifichi un progressivo adattamento genetico di *P. aeruginosa* alle vie aeree del paziente FC. L'obiettivo primario di questo studio è quello di comparare l'efficacia di due diverse strategie (trattamento classico versus trattamento classico e lavaggi nasali con colistina) per eliminare *P. aeruginosa* dalle vie aeree nelle fasi iniziali dell'infezione.

Metodi essenziali. Un apposito software ha assegnato i pazienti in modo casuale a uno dei due schemi di trattamento (classico o sperimentale). Nel gruppo classico sono stati prescritti gli schemi e i farmaci finora usati nei centri, nel gruppo sperimentale sono stati prescritti gli stessi farmaci con l'aggiunta di lavaggi nasali con colistina in soluzione fisiologica. Il trattamento ha avuto la durata di 4 settimane in entrambi i gruppi. L'eradicazione è stata definita come 3 risultati colturali negativi successivi nell'arco di 6 mesi.

Risultati. Sono stati randomizzati 51 pazienti in 5 Centri, 25 maschi e 26 femmine (età media $13,2 \pm 9,8$ anni). Il 20% dei pazienti ha campioni positivi *P. aeruginosa* a livello delle vie aeree superiori al momento dell'arruolamento. I valori medi di FEV₁% al reclutamento nei pazienti oggetto di studio sono $79,5 \pm 19,7$ (% del predetto). 25 pazienti sono stati randomizzati a trattamento classico e 26 a trattamento classico associato a irrigazioni nasali con colistina. 47 (92%) su 51 pazienti hanno completato 6 mesi di follow-up con 3 esami colturali (in 4 pazienti è ancora in corso il follow-up). Al momento attuale il gruppo di pazienti sottoposti a trattamento sperimentale ha un ridotto rischio di permanenza di *P. aeruginosa* a livello delle vie aeree inferiori rispetto al gruppo di pazienti in trattamento eradicante classico (OR = 0,47 95% CI = 0,10-2,20). In caso di ricolonizzazione delle vie aeree inferiori entro i 6 mesi il ceppo responsabile mostra un identico genotipo.

Conclusioni. Al momento attuale deve essere completato il follow-up in 4 pazienti. Per quanto la potenza dello studio sia limitata, l'uso dei lavaggi nasali con colistina in associazione alle strategie classiche di eradicazione è stato ben accettato e potrebbe ridurre il rischio di permanenza di *P. aeruginosa* a livello delle vie aeree inferiori. Studi molecolari sui ceppi di *P. aeruginosa* sono ancora in corso.

20. Cystic Fibrosis screen positive inconclusive diagnosis (CFSPID): an italian multicenter survey evaluating prevalence, clinical data, management and outcome

Terlizzi V¹, Padoan R², Antonella T³, Claut LE⁴

¹Centro FC, Osp. "A. Meyer", Firenze, ²Centro Supp. FC, Spedali Civili, Brescia, ³Centro FC, Univ. "Federico II", Napoli, ⁴IRCCS Ca' Granda, Milano (FFC#30/2018, New)



Vito Terlizzi, responsabile del progetto

Background and rationale. Cystic fibrosis screen positive inconclusive diagnosis (CFSPID) is a relatively common outcome of Cystic Fibrosis (CF) newborn screening (NBS). Infants with a designation of CFSPID do not have clinical features consistent with a diagnosis of CF and further research is needed to determine the prognosis and the best practices for management, frequency and duration of follow-up.

Objectives. 1. to evaluate retrospectively prevalence, genetic and clinical data, management and outcome of CFSPID patients followed from 01.01.2011 to 31.08.2018 in 6 Italian CF Centers; 2. to standardize prospectively the sweat testing (ST) timelines (every 6 months), the diagnosis criteria during follow up and the genetic study in CFSPID infants born in the period 01.09.2018-31.12.2019.

Essential methods. NBS positive infants who were born in the period 01.01.2011-31.08.2018 and who received a diagnosis of CF or CFSPID will be enrolled in the study. We will exclude the CF infants diagnosed by meconium ileus. We will

retrospectively collect clinical, genetic and microbiological data, ST and information about management during follow up. We will carry out a reclassification of final diagnosis in CFSPID infants based on ST, well-defined clinical symptoms and results of gene sequencing. Furthermore, we will prospectively follow the CFSPID infants born in the period 01.09.2018-31.12.2019 until June 30th 2020 carrying out for all CFSPID infants the ST every 6 months and the CFTR genetic analysis of II and III level.

Preliminary results. We retrospectively evaluated CFSPID and CF diagnosis by CF NBS in 2011-2016 at CF Centre of Florence, Italy. CF-NBS program identified 31 CF diagnosis and 50 CFSPID. At 31.12.2017, 31/50 CFSPID patients had a conclusive diagnosis: 3 (6%) CF, 15 (30%) healthy and 13 (26%) healthy carrier; 19/50 (38%) cases had persistent borderline ST and are followed as CFSPID.

Expected final results. We expect to identify: 1. a high percentage of CFSPID infants and variable ratio CFSPID/CF among the centers involved, due to on NBS programs' differences; 2. a different management of CFSPID infants among the centers. The goal of prospective phase is not to lose clinical data during the follow-up, to standardize the criteria of definitive diagnosis and to allow early identification of healthy subjects and healthy carriers. Based on the clinical outcomes of CFSPID useful information about follow up will be provided in final report.

Diagnosi inconclusiva di fibrosi cistica a seguito di screening neonatale positivo (CFSPID): studio osservazionale multicentrico per valutare prevalenza, dati clinici, gestione ed outcomes in 6 centri italiani di riferimento regionale

Ragioni dello studio. Lo screening neonatale per la Fibrosi Cistica (FC) può identificare lattanti con diagnosi non conclusiva (l'acronimo inglese è CFSPID, "Cystic fibrosis screen positive inconclusive diagnosis") ad esempio perché aventi valori del test del sudore (TS) nel range borderline. Questi

bambini non hanno sintomi suggestivi per FC e ulteriori studi sono necessari per definire la gestione, l'andamento clinico e la durata del follow-up.

Ipotesi ed obiettivi. Il nostro obiettivo è di valutare retrospettivamente la prevalenza, la gestione e il quadro clinico dei bambini con diagnosi di CFSPID seguiti in 6 Centri Italiani dal 01.01.2011 al 31.08.2018. Inoltre, saranno fornite indicazioni univoche per una gestione prospettica dei lattanti CFSPID identificati dal 01.09.2018 al 31.12.2019, allo scopo di non perdere dati nel corso del follow up e raggiungere quanto prima una diagnosi definitiva.

Metodi essenziali. Saranno arruolati retrospettivamente bambini positivi allo screening neonatale nati tra il 01.01.2011 e il 31.08.2018 e che hanno ricevuto diagnosi di CF o CFSPID. Saranno raccolti dati clinici, genetici e microbiologici, risultati dei TS e dati relativi alla gestione clinica durante il follow-up. Verrà effettuata una riclassificazione delle diagnosi definitive dei bambini CFSPID basata su criteri univoci. Inoltre, dati prospettici saranno raccolti per i bambini con diagnosi di CFSPID nati dal 01.09.2018 al 31.12.2019 e seguiti in follow up fino al 30.06.2020, effettuando univocamente il TS ogni 6 mesi e il test genetico di II e III livello.

Risultati preliminari. Retrospectivamente abbiamo raccolti i dati dei bambini positivi allo screening neonatale per FC e con diagnosi di FC o CFSPID dal 2011 al 2016 presso il Centro Regionale Toscano per la Fibrosi Cistica. Abbiamo identificato 31 bambini FC e 50 CFSPID. Al 31.12.2017, 31/50 CFSPID avevano una diagnosi definitiva: 3 (6%) FC, 15 (30%) sani e 13 (26%) portatori sani; 19/50 (38%) erano asintomatici e presentavano valori del TS persistentemente nel range borderline.

Conclusioni/risultati finali attesi. Ci attendiamo di identificare: 1. un'alta percentuale di bambini CFSPID ed un rapporto variabile CFSPID/FC tra i centri coinvolti; 2. una diversa gestione dei bambini CFSPID tra i centri. I risultati ottenuti consentiranno di fornire informazioni utili sul follow up di questi bambini al fine di uniformare il comportamento dei diversi centri e velocizzare la diagnosi finale.

INTEGRATED RESEARCH METHODOLOGY: FACE-TO-FACE LABORATORY & CLINICS

21. Identification and validation of circulating microvesicle analysis as a new ex vivo assay to monitor cystic fibrosis disease

Romano M¹, Lanuti P²

¹University of Chieti-Pescara, School of Medicine and Health Sciences, Department of Medical and Oral Sciences and Biotechnologies, ²University of Chieti-Pescara, School of Medicine and Health Sciences, Department of Medicine and Aging Sciences (FFC#29/2018, New)



Mario Romano, responsabile, e Paola Lanuti, partner del progetto

Background and rationale. Monitoring inflammation and lung disease progression is pivotal in cystic fibrosis (CF). However, to date no reliable indices of phlogosis and surrogate endpoints for clinical studies are available. The simultaneous monitoring of the activation status of inflammatory cells may provide an integrated parameter of potential clinical value. Activated cells release microvesicles (MV), which deliver signals to recipient cells and are emerging as disease biomarkers. Peripheral blood contains MV released by platelets, leukocytes, endothelial cells and also epithelial cells. The simultaneous analysis of these MV, which has never been conducted in clinical settings, could be highly informative on the degree of ongoing inflammation and tissue damage.

Hypothesis and objectives. We hypothesize that the enumeration of circulating platelet, leukocyte, endothelial and epithelial MV may represent a novel and reliable parameter of inflammation, infection and lung damage. Main objectives are: 1. To validate the integrated analysis of circulating MV as a new biomarker of CF lung disease progression and response to therapy. 2. To develop a new diagnostic/prognostic laboratory tool for CF, readily transferable to the clinic.

Essential methods. Using flow cytometry, we will identify and enumerate platelet, leukocyte, endothelial and epithelial MV in the peripheral blood of 20 CF patients with varying genotype and degree of inflammatory lung disease. Patients will be examined every 3 months for 21 months and re-ex-

amed at the beginning and the end of any exacerbation. Patients before and after 1, 6, 12 and 21 month treatment with CFTR modulators will be also examined.

Preliminary results. We detected a 100-200-fold increase in blood platelet- and leukocyte-derived MV in a small cohort of CF patients compared to age- and gender-matched healthy subjects. Annexin V+ leukocyte MV and FEV1 inversely correlated. CF patients also displayed a 30-fold increase in circulating epithelial MV.

Conclusions. The identification of novel biomarkers of inflammation and disease progression will help the clinician to assess the patient's status and response to therapy. Moreover, results from this study will provide the basis for the introduction of a new diagnostic tool to monitor CF disease and the efficacy of therapeutic regimens including CFTR modulators.

Identificazione e validazione della analisi delle microvescicole circolanti come un nuovo metodo ex vivo per monitorare la fibrosi cistica

Ragioni dello studio. Monitorare l'infiammazione e la malattia polmonare nei pazienti con fibrosi cistica (FC) è molto importante per mettere a punto efficaci strategie terapeutiche. Questo è un obiettivo difficile da raggiungere perché non abbiamo a disposizione precisi indici di flogosi in una patologia così complessa. La risposta infiammatoria è un processo che coinvolge cellule del sangue, dei vasi e degli epitelii. Queste cellule rispondono a stimoli infettivo/infiammatori rilasciando piccole vescicole, denominate microvescicole (MV), che trasportano sulla loro membrana delle proteine ereditate dalle cellule di origine, le quali permettono il loro riconoscimento. Più le cellule vengono attivate più MV rilasciano nel sangue, dove possono essere contate.

Ipotesi e obiettivi. Ipotizziamo che la conta delle MV circolanti di origine piastrinica, leucocitaria, endoteliale ed epiteliale possa fornire indicazioni su infiammazione, infezione e danno polmonare. I nostri obiettivi principali sono: 1. Validare l'analisi delle MV circolanti come un nuovo biomarcatore della progressione e risposta alla terapia della malattia polmonare nella FC; 2. Mettere a punto un nuovo strumento di laboratorio a fini diagnostico/prognostici, facilmente trasferibile alla pratica clinica.

Metodi essenziali. Studieremo per 2 anni 20 pazienti FC con vario genotipo e malattia polmonare di diversa gravità. Studieremo anche pazienti che inizieranno la terapia con farmaci modulatori di CFTR. Ai pazienti verrà effettuato modesto prelievo di sangue ogni 3 mesi per 21 mesi e all'inizio e alla fine di ogni esacerbazione infettiva. I pazienti che inizieranno la terapia con modulatori verranno controllati prima e dopo 1, 6, 12, 21 mesi di terapia. I dati verranno correlati con funzione respiratoria e indici tradizionali di infezione/infiammazione. Le MV del sangue verranno contate utilizzando un metodo messo a punto dal nostro gruppo e di facile utilizzo per laboratori clinici.

Risultati preliminari. In studi eseguiti su 8 pazienti FC e 5 volontari sani abbiamo osservato un aumento delle MV piastriniche, leucocitarie ed epiteliali nei pazienti FC. Abbiamo inoltre osservato che le MV leucocitarie sono maggiormente aumentate nei pazienti con più elevata compromissione respiratoria.

Conclusioni. I risultati di questo studio potranno permettere un più accurato monitoraggio del paziente oltre che fornire alla sperimentazione clinica un nuovo metodo per verificare l'efficacia di farmaci anti-infiammatori nella FC.

Critical comments and proposals

What part of the research project shall clinicians be involved in: the original idea, the design or the study implementation?

Braggion C

(Centro FC, Osp. "A. Meyer", Firenze)



Cesare Braggion

We need to acknowledge a strong impulse to translational research in cystic fibrosis (FC) in the last decade: translational research includes the long and structured path that starts from the laboratories where we study the basis of a disease in cells and animal models, to the laboratories where the characteristics of the drugs are optimized, eventually to the centers where clinical research is carried out, which aims at confirming the efficacy and safety of the new drugs in patients. The last step is essential to get approval from the national agencies and commercialization.

Effective translational research, that actually links basic and clinical researchers, is realized thanks to the CF North American Foundation (CFF). Supported by CFF, clinical centers fill the registry with patients' personal and clinical data, creating a network for clinical research (Therapeutic Development Network), which has its own coordination and where clinical and laboratory measures are centralized. CFF has helped finance a large part of pre-clinical research in university and industry laboratories; the latter has the task of optimizing and producing the new drugs to be tested through different phases of clinical research. This partnership was successful in the commercialization of the first CFTR protein modulators (Kalydeco® and Orkambi®).

If the Italian research community wants to contribute to the current progress of translational research, the above partnerships must be promoted or enhanced. The interaction and joint planning of clinicians and researchers in hospitals or universities or through scientific societies and research agencies should be promoted. Networks for international clinical research need to be strengthened, also consolidating a national network: more clinical centers must acquire resources and skills to become centers for clinical research. It is indeed necessary for the clinicians to be active in the management and implementation of the flow of data to and from Registries, which represent a fundamental tool for research. This process is essential to verify the efficacy and safety of therapies, in medium to long term. Moreover, partnerships between research laboratories funded by research agencies, drug agencies that can provide support and facilities for clinical research, and industry that optimizes and produces drugs, is what we need to regulate prices of new drugs and allow their widespread commercialization

Come può essere coinvolto il clinico nei progetti di ricerca (anche di base): ideazione - disegno dello studio - implementazione

Dobbiamo registrare nell'ultimo decennio un forte impulso alla ricerca traslazionale per la fibrosi cistica (FC): la ricerca traslazionale comprende il lungo e strutturato percorso che parte dai laboratori, dove si studiano i meccanismi delle

malattie nelle cellule e nei modelli animali, per arrivare ai laboratori, dove si perfezionano le caratteristiche dei farmaci, ed ai centri dove si realizza la ricerca clinica, che ha lo scopo di confermare nei pazienti arruolati l'efficacia e la sicurezza dei nuovi farmaci. Quest'ultimo passaggio è indispensabile per arrivare alla loro approvazione da parte delle agenzie nazionali e alla loro distribuzione nelle farmacie.

Un modello efficace di ricerca traslazionale, di raccordo tra ricercatori di base e clinici, è quello realizzato grazie all'azione della Fondazione Nord Americana per la FC (CFF). Con il supporto della CFF, i centri clinici alimentano il Registro dei dati anagrafici e clinici dei pazienti, e costituiscono una rete per la ricerca clinica (Therapeutic Development Network), che ha un suo coordinamento e nodi dove si sono sviluppate e dove sono centralizzate alcune misure cliniche e di laboratorio. CFF ha contribuito a finanziare molta parte della ricerca pre-clinica nei laboratori universitari e dell'industria; quest'ultima ha il compito di ottimizzare e produrre i nuovi farmaci da testare attraverso le varie fasi della ricerca clinica. Questa partnership è risultata vincente con la commercializzazione dei primi farmaci modulatori della proteina CFTR (Kalydeco® e Orkambi®).

Se anche la realtà italiana vuole contribuire all'attuale

avanzamento della ricerca traslazionale, molte delle partnership descritte vanno promosse o potenziate. Va promossa l'interazione e la progettualità congiunta di clinici e ricercatori nelle singole realtà ospedaliero-universitarie o attraverso le società scientifiche e le agenzie di ricerca. Occorre potenziare le reti per la ricerca clinica internazionale, consolidando anche una rete nazionale: altri centri clinici devono acquisire le risorse e le competenze per diventare anche centri per la ricerca clinica. Occorre poi che i clinici siano attivi nella gestione ed implementazione del flusso di dati ai Registri, che rappresentano un fondamentale strumento per la ricerca sulla comparazione di efficacia delle diverse terapie nel "mondo reale" ed una base di dati retrospettivi da congiungere a quelli ottenibili con studi osservazionali prospettici. Ciò è indispensabile per verificare efficacia e sicurezza delle terapie nel medio e lungo periodo. La riconosciuta partnership tra i laboratori di ricerca, finanziati dalle agenzie di ricerca, le agenzie dei farmaci, che possono fornire supporto e facilitazioni alla ricerca clinica, e l'industria che ottimizza e produce i farmaci e conduce la ricerca clinica rappresenta anche la base per calmierare i prezzi dei nuovi farmaci e consentire una loro diffusa commercializzazione.

PLENARY SESSION 4

NEW TARGETS AND RESCUE MECHANISMS OF F508del-CFTR

22. Understanding the mode of action of regulatory pathways controlling F508del-CFTR proteostasis and developing drugs that rescue F508del-CFTR by targeting these pathways synergistically

Parashuraman R, Subramanian A, Hegde R, Luini A
IBP, CNR, Naples, Italy (FFC#6/2016, Concluded)



Alberto Luini, responsabile del progetto

Background and rationale. Cystic fibrosis (CF) is caused by mutations in CF transmembrane conductance regulator (CFTR). The most frequent mutation (F508del-CFTR) results in the misfolding of the mutant protein that leads to its intracellular retention and degradation. Several corrector compounds have been identified that restore the proteostasis of the mutant protein. We recently identified the molecular changes associated with these corrector drugs that contributed to the rescue of the mutant protein from degradation. These changes included modulation of the activity of several signaling pathways and also ubiquitin ligases. The MLK3 pathway. Among the signaling pathways, one centered on Mixed Lineage Kinase 3 (MLK3) potentially controlled the proteostasis of CFTR. We are analyzing and

targeting these pathways with suitable drugs, when possible.

Hypothesis and objectives. We propose that MLK3 pathway acts on CFTR proteostasis by modulating the levels of machinery controlling proteostasis and small molecules targeting this pathway signalling can be potent correctors of F508del-CFTR proteostasis. So here we identify the molecular mechanism of action of this pathway and also identify repositionable drugs targeting this pathway as correctors to rescue F508del-CFTR.

Essential methods. 1) We have used transcriptional profiling (microarrays or RNA-seq) under conditions when the MLK3 pathway was downregulated to understand the molecular changes that can be correlated with the rescue of F508del-CFTR. 2) We have identified appropriate small molecules or combinations of them targeting MLK3 pathway and rescue F508del-CFTR in model systems.

Results. MLK3 pathway. By transcriptional profiling we identified Insulin induced gene - 1 (INSIG-1) to be an essential downstream executor of the proteostasis control by MLK3 pathway. Specifically, we found that INSIG-1 binds to CFTR and targets it to endoplasmic reticulum associated degradation possibly via the ubiquitin ligase gp78. INSIG-1 is known to regulated the proteostasis of its client proteins by binding to Sterol sensing domain (SSD) present in these proteins. We found that CFTR has domain with similarities to SSD on its second transmembrane domain. By mutating a key proline residue in this domain, we find that F508del-CFTR lost its sensitivity to INSIG-1 expression. The intersection of the cholesterol homeostasis regulated by INSIG-1 and the CFTR proteostasis is currently being investigated. We also screened several clinically approved (or safety approved after crossing Phase I trials) MLK3 pathway inhibitors as potential correctors of F508del-CFTR proteostasis and found 3 active compound that restored proteostasis of F508del-CFTR as measured by biochemical maturation assays. Among these 3 drugs, one of them restored also the chloride conductance in the F508del-CFTR expressing cells to levels comparable to that of VX-809. **The ubiquitin ligases.** In addition, we also evaluated the mechanism of action of RNF215, an uncharacterized ubiquitin ligase identified in our earlier analysis, whose depletion exert a potent corrector activity. We found that RNF215

directly binds to F508del-CFTR to target it to degradation. RNF215 downregulation also potently restored the chloride conductance in the F508del-CFTR expressing cells.

Conclusions. These analyses provide insights into CF pathology; provide specific targets to control F508del-CFTR proteostasis and also efficient small molecules regulators that can rescue F508del-CFTR. The approach precisely encapsulates the mission of CF foundation to develop innovative pharmacological approaches to correct or compensate the deficiency of functional CFTR.

Nuovi meccanismi regolatori che controllano la proteostasi F508del-CFTR e sviluppo di farmaci che riducono il difetto di F508del-CFTR agendo su questi meccanismi in modo sinergico

Ragioni dello studio. La fibrosi cistica (FC) è causata da mutazioni nel regolatore di conduttanza transmembrana CF (CFTR). La mutazione più frequente (F508del-CFTR) provoca il folding errato della proteina mutante, il che porta alla sua ritenzione e degradazione intracellulare. Sono stati identificati diversi correttori che ripristinano la proteostasi della proteina mutante. Recentemente abbiamo identificato i cambiamenti molecolari associati a questi farmaci correttori che hanno contribuito alla protezione della proteina mutante dalla degradazione. Questi cambiamenti includono la modulazione dell'attività di diverse vie di segnalazione e anche varie ubiquitino-ligasi. Tra queste vie di segnalazione, una centrata sulla kinasi MLK3 controlla in modo potente la proteostasi del CFTR. Stiamo analizzando e identificando bersagli molecolari in queste vie di segnalazione con farmaci adatti, quando possibile.

Ipotesi e obiettivi. Proponiamo che la kinasi MLK3 agisca sulla proteostasi di CFTR, e che le molecole che inibiscono questa via di segnalazione possano essere correttori potenti della proteostasi di F508del-CFTR. Quindi, qui identifichiamo il meccanismo molecolare di azione di questa via e identifichiamo anche i farmaci riposizionabili che hanno come bersaglio questa via come correttori di F508del-CFTR.

Metodi essenziali. 1) Abbiamo usato lo studio dei profili trascrizionali (microarrays o RNA-seq) in condizioni in cui la via MLK3 era downregolata, per comprendere i cambiamenti molecolari che possono essere correlati con la correzione di F508del-CFTR. 2) Abbiamo identificato le piccole molecole o le combinazioni di esse appropriate per inibire MLK3 e per correggere F508del-CFTR in sistemi cellulari modello.

Risultati. Sulla via MLK3. Studiando i profili trascrizionali abbiamo identificato un gene indotto dall'insulina (INSIG-1) come un attore essenziale a valle del controllo della proteostasi mediante MLK3. Nello specifico, abbiamo scoperto che INSIG-1 si lega al CFTR e lo indirizza verso la degradazione associata al reticolo endoplasmatico, possibilmente attraverso l'ubiquitina ligasi gp78. È noto che INSIG-1 regola la proteostasi delle sue proteine client legandosi al dominio sensoriale Sterol (SSD) presente in queste proteine. Abbiamo trovato che CFTR ha un dominio simile a SSD nel suo secondo tratto transmembrana. Mutando un residuo di prolina chiave in questo dominio, troviamo che F508del-CFTR perde la sua sensibilità all'espressione di INSIG-1. Il ruolo dell'omeostasi del colesterolo regolata da INSIG-1 nella proteostasi di CFTR è attualmente oggetto di studio. Abbiamo anche esaminato diversi inibitori della via di segnalazione di MLK3 già approvati in trials clinici di fase I come potenziali correttori della proteostasi F508del-CFTR e abbiamo trovato 3 composti attivi che hanno ripristinato la proteostasi di F508del-CFTR misurata mediante analisi biochimica. Tra questi 3 farmaci, uno di essi ha ripristinato anche la conduttanza del cloruro nelle cellule che esprimono F508del-CFTR a livelli paragonabili a quelli di VX-809.

Le ubiquitino-ligasi. Abbiamo anche valutato il meccanismo d'azione di RNF215, una ubiquitino-ligasi non caratterizzata identificata nella nostra analisi precedente, la cui deple-

zione esercita una potente attività correttiva. Abbiamo trovato che RNF215 si lega direttamente a F508del-CFTR per indirizzarlo verso la degradazione. La downregulation di RNF215 ripristina anche potentemente la conduttanza del cloruro nelle cellule che esprimono F508del-CFTR.

Conclusioni. Queste analisi forniscono informazioni sulla patologia CF; forniscono obiettivi specifici per il controllo della proteostasi F508del-CFTR e identificano molecole in grado di correggere F508del-CFTR. L'approccio incapsula precisamente la missione della Fondazione FFC per sviluppare approcci farmacologici innovativi per correggere o compensare la carenza di CFTR.

23. Identification of the binding sites of CFTR correctors

Baroni D, Amico G and Moran O

IBF – CNR, Genova, (FFC#8/2016, Concluded)



Oscar Moran assieme alle ricercatrici del progetto

Background and rationale. Cystic fibrosis (CF) is caused by dysfunction of the CF Transmembrane conductance Regulator (CFTR), a cAMP-regulated anion channel that resides in the apical membrane of epithelial cells. CFTR dysfunction can occur by defects in protein synthesis, folding, intracellular trafficking, channel gating, conductance, or plasma membrane stability. In each case, loss of CFTR results in abnormalities of water, chloride, and bicarbonate transport that lead to dysfunction of target tissues. In the Caucasian population, the deletion of phenylalanine at position 508 of the protein (F508del) is the most frequent mutation. It causes errors in folding, trafficking and docking of the protein, determining the lack of expression of functional CFTR at the plasma membrane. In recent years some correctors, able to rescue the defects of the F508del-CFTR, partially increasing its functional expression in the plasma membrane, have been identified.

Hypothesis and objectives. Despite the encouraging drug discovery results, to date no corrector mechanism of action and no corrector binding site have been defined. For this reason, in this project a big effort was addressed to the identification of correctors' binding sites.

Essential method. To achieve results, we prepared constructs codifying for WT and mutant F508del N-half of CFTR and expressed them alone or together with the C-half in mammalian cells. Cells preparations were incubated with different correctors (VX809, VX661, corr-4a and VX325) to evaluate the effect of each drug on the expression and stability of the two CFTR halves.

Results. Our results show that expression and stability of WT N-half of the CFTR protein resulted enhanced by correctors VX809, VX661 and VX325, while only VX809 and VX661 demonstrated able to exert this effect on F508del N-half. Co-expression experiments indicated that the C-half of the CFTR is the main target of corr-4a. Indeed, it significantly enhanced

the expression as well as the stability of this polypeptide.

Conclusions. Retrieved results confirm that we are able to quantitatively evaluate the effects of a corrector on each CFTR domain. Complimentary approaches such as competition and cross-linking experiments will definitively permit us to identify the binding sites of available correctors and provide useful information for the design of better corrector candidates.

Individuazione dei siti di legame dei correttori di CFTR

Ragioni dello studio. La fibrosi cistica (FC) è causata da mutazioni nel gene che codifica per la proteina CFTR, canale anionico che risiede nella membrana apicale delle cellule epiteliali. Tali mutazioni possono causare difetti nella sintesi, ripiegamento o traffico della proteina, o modifiche dei meccanismi di trasporto del canale. In ogni caso, il non corretto funzionamento della proteina conduce ad anomalie del trasporto di acqua, cloruro e bicarbonato, che determinano il deterioramento di molti organi. Nella popolazione caucasica, la mutazione più frequente è la delezione della fenilalanina in posizione 508 (F508del). Essa causa errori di ripiegamento e trasporto che determinano la mancata espressione funzionale della CFTR sulla membrana plasmatica. Recentemente sono stati identificati alcuni correttori rivelatisi capaci di rimediare i difetti della F508del-CFTR, aumentandone parzialmente l'espressione funzionale a livello della membrana plasmatica.

Ipotesi e obiettivi. Nonostante gli incoraggianti risultati della ricerca scientifica, non si conoscono né il meccanismo d'azione né il sito di legame dei correttori ad oggi identificati. Per questo motivo, questo progetto è stato centrato sull'identificazione dei siti di legame dei correttori.

Metodi essenziali. Costrutti codificanti la metà N-terminale della CFTR nativa e F508del sono stati prodotti ed espressi in cellule di mammifero, isolatamente o insieme alla metà C-terminale. I campioni cellulari sono stati quindi trattati con diversi correttori (VX809, VX661, corr-4a e VX325) per valutare l'effetto di ciascun farmaco sulla loro espressione e stabilità.

Risultati. I risultati ottenuti dimostrano che l'espressione e la stabilità della metà N-terminale della CFTR nativa sono migliorate in seguito al trattamento con VX809, VX661 e VX325, mentre solo VX809 e VX661 sono risultati efficaci sull'isoforma F508del. Gli esperimenti di co-espressione hanno indicato che la metà C-terminale della CFTR è invece il bersaglio di corr-4a. Infatti, il trattamento con questo correttore ha migliorato significativamente sia l'espressione che la stabilità della seconda metà della CFTR.

Conclusioni. I dati ottenuti confermano la nostra capacità di valutare quantitativamente gli effetti dei correttori su uno o più domini della CFTR. L'uso di approcci sperimentali complementari, come i saggi di competizione e di cross-linking, ci permetteranno di raffinare ulteriormente la nostra capacità di discriminazione dei siti di legame, fornendo informazioni utili per il processo di drug-design.

24. RNF5 inhibitors as potential drugs for Cystic Fibrosis basic defect

Pedemonte N¹, Cavalli A²

¹U.O.C Genetica Medica, IRCCS Istituto Giannina Gaslini, Genova, ²Dipartimento di Farmacia e Biotecnologie, Università di Bologna (FFC#9/2017, In progress)

Background and rationale. The F508del mutation causes the arrest of the maturation of CFTR protein. Correctors are able to rescue F508del-CFTR, either by act directly on CFTR



Nicoletta Pedemonte e Andrea Cavalli, rispettivamente responsabile e partner del progetto

or by modulating other proteins thus affecting CFTR maturation. Our studies highlighted the E3 ubiquitin ligase RNF5 as a target whose inhibition leads to mutant CFTR rescue both in vitro and in vivo. Thus, we used a computational approach, based on ligand docking and virtual screening, to discover inh-02, a drug-like small molecule that inhibits RNF5.

Hypothesis and objectives. Treatment with inh-02 causes significant F508del-CFTR rescue in immortalized and primary bronchial epithelial cells from F508del homozygous CF patients. Our aims now are: 1. the optimization of RNF5 inhibitors; 2. the evaluation of possible individual variability in the efficacy of RNF5 inhibitors; 3. the evaluation of possible toxicity of RNF5 inhibitors (due to their mechanism of action).

Essential methods. Improved RNF5 inhibitors will be developed by screening commercially available analogs and by synthesizing novel analogs. The knowledge of the structure-activity relationship will help us to improve efficacy and potency of RNF5 inhibitors. The efficacy of RNF5 inhibitors on mutant CFTR will be assessed by electrophysiological techniques on bronchial epithelia derived from patients bearing F508del or other mutations with trafficking defect.

Preliminary Results. We have already tested a small set of inh-2 analogs and identified a moiety that is mandatory for the activity of the compounds. In parallel, to evaluate the therapeutic potential of inhibiting RNF5 and inter-individual variability, the ability of inh-2 to rescue F508del-CFTR was assayed on well-differentiated primary cultures of human bronchial epithelial cells from four F508del homozygous subjects, using the transepithelial electrical conductance measurements, and short-circuit current recordings. Treatment with inh-2 consistently increased chloride transport, although to a lesser extent than VX-809.

Conclusions. Our results clearly demonstrate that RNF5 inhibition can rescue F508del-CFTR trafficking defect and that this mechanism is not only amenable in cell lines or in a murine CF model, but also in human primary bronchial epithelia, that are the main target tissue of CF treatment. These findings thus validate RNF5 as a drug target for CF, and provide evidences to support its druggability.

Gli inibitori di RNF5 quali potenziali farmaci per il difetto di base in fibrosi cistica

Ragioni dello studio. La mutazione più frequente nei pazienti con fibrosi cistica è la delezione della fenilalanina 508 (F508del), che causa un blocco nella maturazione della proteina. Molecole chiamate correttori possono recuperare la proteina F508del-CFTR, agendo direttamente su CFTR oppure modulando altre proteine che influiscono sulla maturazione di CFTR. Di particolare interesse è la ligasi RNF5. I nostri studi hanno dimostrato che, su modelli cellulari e animali, la soppressione di RNF5 causa il recupero del mutante F508del-CFTR, migliorando il malassorbimento intestinale. Questi dati dimostrano che RNF5 può costituire il bersaglio per lo svilup-

po di nuove terapie farmacologiche per la fibrosi cistica.

Ipotesi e obiettivi. Il trattamento con inh-2 ripristina l'attività del mutante F508del sia in cellule bronchiali umane immortalizzate sia su epiteli derivati da pazienti con fibrosi cistica. Ora i nostri obiettivi sono migliorare gli inibitori di RNF5, valutarne l'efficacia nel recupero dell'attività di CFTR su cellule di pazienti e verificare possibili effetti tossici dovuti al loro meccanismo di azione.

Metodi essenziali. La ricerca di migliori inibitori di RNF5 procede testando analoghi disponibili commercialmente e sintetizzati dai nostri gruppi. La conoscenza di come l'attività del composto varia al variare della sua struttura chimica ci aiuterà nel disegnare composti più efficaci. L'efficacia dei composti nel recuperare CFTR verrà analizzata attraverso metodi elettrofisiologici su epiteli derivati da pazienti con una o due copie di F508del o altre mutazioni che causano un difetto simile.

Risultati Preliminari. Abbiamo già testato un piccolo pannello di analoghi di inh-2, identificando una porzione della molecola che è fondamentale per la sua attività. In parallelo, abbiamo valutato la variabilità inter-individuale nel recupero dell'attività di CFTR usando cellule derivate da quattro pazienti diversi, omozigoti per la F508del, usando tecniche elettrofisiologiche. Il trattamento ha sempre determinato un aumento del trasporto di cloruro, anche se inferiore a quello osservato con il correttore VX-809.

Conclusioni. Questi risultati dimostrano che l'inibizione di RNF5 determina un recupero di F508del-CFTR, non solo su modelli cellulari immortalizzati ma anche in epiteli bronchiali primari derivati da pazienti FC, e quindi confermando il ruolo di possibile nuovo bersaglio terapeutico di RNF5.

25. Alternative strategies for F508del-CFTR repair: novel targets for drug discovery approach in Cystic Fibrosis

Cozza G¹, Tosco A², Ferrari E³, Villella VR², Esposito S³, Monzani R³, Spinella MC³, Venerando A⁴, De Gregorio F², Rossetto M¹, Bosello Travain V¹, Ursini F¹, Raia V², Maiuri L³

¹Department of Molecular Medicine, University of Padua,

²Department of Translational medical sciences, University of Naples Federico II, Regional Cystic Fibrosis Care Unit, Naples,

³European Institute for Research in Cystic Fibrosis (IERFC), San Raffaele Institute, Milan, ⁴Department of Comparative Biomedicine and Food Science, University of Padua, (FFC#10/2017, Concluded)



In alto, al centro, Giorgio Cozza, responsabile del progetto. In basso, prima da sinistra, Eleonora Ferrari, partner. In basso, foto a destra, al centro, Antonella Tosco, partner

Background and Rationale. Cystic Fibrosis (CF) is a life-shortening genetic disorder, caused by mutations of Cystic Fibrosis Transmembrane-conductance Regulator (CFTR). The most common F508delCFTR mutant is unable to traffic to

and reside at the plasma membrane (PM). Currently, CFTR-repairing therapies available for F508delCFTR are not very effective. For this reason our novel approach aims at targeting the derailed CF intracellular environment, and not directly the mutant CFTR, through a combination of drugs (e.g. cysteamine and epigallocatechin-gallate, EGCG) able to inhibit TG2 activity and specific protein kinases.

Hypothesis and Objectives. We aim to 1) refine new targets as novel therapeutic strategy in CF by exploiting a network of *in silico* and experimental approaches; 2) validate the efficacy of novel drug candidates in pre-clinical CF models.

Essential Methods. We used: A) *in silico* approaches to identify novel chemical entities able to interact with our new protein targets; B) *in vitro* and *in cell* methodologies to validate the best candidates from A; C) *in vivo* validation into appropriate mouse models.

Results. A) Refining cysteamine structure: the chemical optimization of cysteamine led to a series of novel compounds (CT-family), active in restoring F508delCFTR function, up to more than 50% respect to control. In particular, CT11 is the best optimized molecule, being able to restore CFTR function equally to cysteamine (>70%), at a concentration more than 500 fold lower (0.1 μ M vs 250 μ M). These results were obtained via SPQ assay, in both CFBE410- cells and *ex vivo* in cells collected by nasal brushing from CF patients. Accordingly with CT11 results on CFTR function, immunoblot detection of CFTR confirm that a sizeable fraction of the channel resides at the PM after treatment with 0.1 μ M CT11. Moreover CT11 (0.1 μ M) is able to restore Bcl-1-dependent autophagy and to reduce P62, decreasing at the same time the inflammation biomarkers (phospho) p42/44 MAPK. Finally, CT11 is able to rescue the CFTR protein and function as well as reestablish the autophagy pathway in F508del-Cfr homozygous (CftrF508del\F508del) mice, a result obtained at lower concentration compare to cysteamine and effective after 20d of wash out. B) Identification of new approved lead compounds active in restoring F508delCFTR function: by applying our discovery strategies against our target models, we have focused our attention on our database of approved chemical entities, with the aim to preliminary identify molecule potentially transferable to the clinical use. A small number of approved entities were identified and prioritized for experimental validation via SPQ assay in CFBE410- cells. Intriguingly, three compounds showed encouraging results, compared to cysteamine. Indeed, AMX, CT47 and PTE were able to restore CFTR function similarly to cysteamine, but at a lower concentration (25, 50 and 10 μ M, respectively). These results obtained unequivocally demonstrate that our research strategy is indeed very solid and that these lead molecules (after further studies *ex vivo* and *in vivo*) could represent a very promising resource for future developments and applications in Cystic Fibrosis.

Conclusion. The novel compounds identified represent a new frontier for the treatment of Cystic Fibrosis, by a) clarifying the roles of several other protein targets in CF, despite from the F508delCFTR itself; b) paving the way for novel phase clinical studies with a combination of molecules (or a single drug candidate) able to improve the life of CF patients.

Strategie alternative per il ripristino funzionale di F508del-CFTR: nuovi target per lo sviluppo di farmaci contro la fibrosi cistica

Ragioni dello studio. La Fibrosi Cistica (FC) è una malattia genetica a prognosi infausta, causata da mutazioni della proteina CFTR. In particolare la mutazione più comune F508delCFTR, genera un difetto funzionale che non permette alla proteina di spostarsi all'interno della cellula e stazionare a livello della membrana plasmatica (MP). Attualmente le terapie disponibili per i pazienti omozigoti per la F508del risul-

tano essere poco efficaci. Il nostro nuovo approccio, invece di colpire direttamente il CFTR mutato, mira a migliorare il compartimento intracellulare che causa la bassa espressione del CFTR sulla superficie cellulare, attraverso la combinazione di farmaci (es. cisteamina e EGCG) in grado di inibire l'attività di TG2/PDI e specifiche proteine chinasi.

Ipotesi e obiettivi. Il nostro progetto ha l'obiettivo di 1) definire nuovi target terapeutici nella FC utilizzando un network di approcci computazionali e sperimentali; 2) validare l'efficacia delle nuove molecole candidate in modelli preclinici di FC.

Metodi essenziali. A) Approcci computazionali per identificare nuove molecole capaci di interagire con i nuovi target proteici. B) Metodologie in vitro e in cellule per validare i migliori candidati del punto A). C) Validazione in vivo in appropriati modelli murini.

Risultati. A) Ottimizzazione della cisteamina. L'ottimizzazione dello scaffold della cisteamina ha portato all'identificazione di una famiglia di molecole (CT), in grado di ripristinare la funzione del F508delCFTR di oltre il 50% rispetto al controllo. In particolare, CT11 è risultato la molecola più promettente, essendo in grado di ripristinare la funzione del CFTR in maniera paragonabile alla cisteamina (>70%), utilizzando concentrazioni più di 500 volte inferiori (0.1 μ M vs 250 μ M). Questi risultati sono stati ottenuti, attraverso la tecnica SPQ, in modelli cellulari (CFBE41o-), e ex vivo in cellule derivate da brushing nasale di pazienti CF. Questi risultati sono stati confermati attraverso immunoblot, dimostrando il recupero di una significativa banda del CFTR nella membrana plasmatica. Inoltre, il trattamento è in grado di ripristinare il marcatore di autofagia Beclin1 e abbattere P62, riducendo contemporaneamente il marker di infiammazione p42/44 MAPK. Infine CT11 si è dimostrato in grado di recuperare i livelli di proteina e la funzione del F508del-CFTR, oltre che ristabilire l'autofagia, in topi omozigoti per 508del-CFTR (CFTR-F508del\F508del); questo risultato è stato ottenuto utilizzando concentrazioni più basse rispetto a quelle usate nel caso della cisteamina, con effetti mantenuti fino a 20 giorni dopo la sospensione del trattamento. B) Identificazione di nuovi composti lead approvati, in grado di ripristinare la funzione del F508delCFTR. Applicando la nostra strategia di identificazione di nuove molecole versus i bersagli selezionati durante il progetto, abbiamo preso in considerazione un database di molecole clinicamente approvate, con lo scopo di identificare molecole con un potenziale terapeutico. Una piccola selezione di molecole è stata validata sperimentalmente in cellule CFBE41o- utilizzando la tecnica SPQ. Tre composti (AMX, CT47 e PTE) si sono dimostrati in grado di recuperare la funzione del canale con la stessa efficacia dimostrata dalla cisteamina, ma a dosi nettamente inferiori (25, 50 e 10 μ M, rispettivamente). Questi risultati dimostrano inequivocabilmente l'efficacia della nostra strategia di ricerca e che i composti lead identificati potrebbero rappresentare, dopo ulteriori approfondimenti, una risorsa molto promettente nella terapia della Fibrosi Cistica.

Conclusioni. I composti identificati rappresentano una nuova frontiera per il trattamento delle FC, a) chiarendo il ruolo di altre proteine target nella FC, al di là del F508del-CFTR, b) aprendo le porte ad una nuova fase clinica per una combinazione di molecole (o un singolo farmaco) capaci di migliorare la vita dei pazienti affetti da FC.

Conclusioni. I nuovi composti identificati rappresentano una nuova frontiera per il trattamento della fibrosi cistica, a) chiarendo il ruolo di molti altri bersagli proteici nella FC, nonostante la presenza dello stesso F508delCFTR; b) aprendo la strada a nuovi studi clinici con una combinazione di molecole (o un singolo farmaco candidato) in grado di migliorare la vita dei pazienti CF.

26. Modulation of protein kinases in the regulation of chaperone machinery leading F508del-CFTR fate

D'Amore C¹, Borgo C¹, Cesaro L¹, Salizzato V¹, Bosello-Travain V², Venerando A³, Salvi M¹

¹Department of Biomedical Sciences, University of Padova,

²Department of Molecular Medicine, University of Padova,

³Department of Comparative Biomedicine and Food Science, University of Padova, (FFC#12/2017, Concluded)



Mauro Salvi, primo a destra, con il suo gruppo di ricerca

Background and Rationale. Deletion of phenylalanine 508 in CFTR (F508del) is the most common mutation in Cystic fibrosis (CF) patients (70-90%). F508delCFTR maintains channel activity, but the mutation causes the majority of CFTR protein to be retained in the endoplasmic reticulum and prematurely degraded by the ubiquitin-proteasome system before it reaches the plasma membrane. The combination of lumacaftor-ivacaftor (corrector plus potentiator, OrkambiTM) represents the first therapy for CF patients homozygous for F508del-CFTR mutation, and in general a combination of therapy seems to show improved clinical benefits over available monotherapies. Independent reports have shown that the heterotetrameric (two catalytic or ' and two regulatory subunits) ubiquitous and constitutively active Ser/Thr protein kinase CK2 is linked to CFTR channel function. Recently CK2 inhibition have been proposed in combinatory therapy with the proteostasis regulator cisteamina. However, the knowledge of the molecular mechanism(s) linking CK2 and F508delCFTR are lacking.

Hypothesis and objectives. Recently it has been demonstrated that CK2 targeting could be a viable strategy to reduce the expression of HSP27, a member of the small heat shock proteins involved in F508delCFTR degradation. To investigate the possible role of CK2 as a potential therapeutic target for treat F508del patients we analyzed firstly if CK2 signaling in these patients is deregulated, as suggested by previous reports, and secondly if CK2-targeting via HSP27 downregulation could be a valuable strategy to increase F508delCFTR plasma membrane trafficking and/or its stability.

Essential Methods. Both CFBE41o- cell variant, stably expressing either wild-type CFTR (CFBE-WT) or the mutant F508delCFTR (CFBE-F) (provided by J. P. Clancy), and primary human cells from healthy and F508delCFTR patients, purchased from the Lab. Genetica Molecolare, Istituto Giannina Gaslini (Genova), were used in this study. CFBE-F cells knockout for CK2 catalytic subunits or for HSP27 have been generated by Crispr/Cas9 gene editing tool. F508delCFTR functional recovery was assayed by western blotting and by SPQ analysis.

Results. Our results show that, in contrast with what is observed in immortalized cell lines, CK2 expression and activity is not specifically impaired in F508delCFTR patients. In

addition, we have analyzed the contribution of CK2 targeting in combination with different type of correctors or proteostasis regulator in our CK2 knockout cell models obtaining only modest results despite an overall reduction of HSP27 expression. On the contrary, HSP27 knockout CFBE cells show an improved response to correctors treatments leading to a strong functional recovery of F508delCFTR.

Conclusions. Whilst on the one hand these pre-clinical studies minimize the effectiveness of CK2 as a potential target in treating F508delCFTR patients, on the other they provide experimental evidences that HSP27 targeting could be a valuable strategy in a combinatory therapy with Vertex compounds.

Modulazione delle protein chinasi per regolare le molecole chaperoniche che controllano il destino della proteina F508del-CFTR

Ragioni dello studio. La delezione di un singolo aminoacido nella posizione 508 di CFTR (F508del) è la mutazione più frequente nei malati di Fibrosi Cistica (CF). Questa mutazione è responsabile di un ripiegamento non corretto della proteina che rimane bloccata nel reticolo endoplasmatico e rapidamente degradata. Inoltre la minima quantità di F508del CFTR che raggiunge la membrana plasmatica, dove la proteina svolge la sua funzione fisiologica, mostra una emivita più breve rispetto alla forma non mutata. La combinazione di due farmaci (lumacaftor-ivacaftor, Orkambi™) rappresenta la principale terapia per il trattamento di pazienti omozigoti per la mutazione F508del CFTR ed attualmente la ricerca scientifica sembra suggerire che una terapia combinata possa generalmente offrire maggiori possibilità di successo rispetto alle monoterapie attualmente disponibili. Studi indipendenti hanno evidenziato un link fra la proteina chinasi CK2 e CFTR. Inoltre, recentemente la proteina chinasi CK2 è stata proposta quale bersaglio molecolare per trattare pazienti CF nella terapia combinata cisteamina ed epigallocatechina gallato. La cisteamina favorisce un recupero di F508delCFTR alla membrana plasmatica mentre l'epigallocatechina gallato, che è stato selezionato per la sua abilità di inibire CK2, ne amplifica gli effetti. Tuttavia non si conoscono ancora i dettagli molecolari attraverso i quali una inibizione di CK2 favorisce un recupero delle funzionalità di F508del-CFTR, condizione necessaria per sviluppare una terapia combinata.

Ipotesi e Obiettivi. Recentemente abbiamo dimostrato che CK2 può essere considerato un ottimo bersaglio molecolare per ridurre l'espressione di HSP27, una proteina appartenente alla famiglia delle *heat shock proteins* che è coinvolta nella degradazione di F508del-CFTR. Per comprendere i meccanismi molecolari che legano CK2 a F508del-CFTR ci siamo chiesti se in pazienti omozigoti per F508del-CFTR il signaling di CK2 sia deregolato, come ipotizzato da lavori precedenti. Il nostro secondo obiettivo è stato poi quello di verificare se la delezione di CK2, che porta ad una riduzione in espressione di HSP27, possa essere una effettiva strategia terapeutica per incrementare la stabilità e il recupero della funzionalità di F508delCFTR in combinazione con classici correctori.

Metodi essenziali. Cellule utilizzate in questo studio: CFBE41o⁻ overesprimenti CFTR wildtype (CFBE-WT) o F508 CFTR (CFBE- F) F508delCFTR. Cellule umane primarie provenienti da individui sani o affetti da fibrosi cistica (F508delCFTR) sono stati ottenuti dal Lab. Genetica Molecolare, Istituto Giannina Gaslini (Genova). CFBE- F cells knockout per le subunità catalitiche di CK2 o per HSP27 sono state generate utilizzando la tecnologia di editing genetico Crispr/Cas9. Il recupero funzionale di F508delCFTR è stato valutato mediante western blotting e analisi SPQ.

Risultati. I nostri risultati mostrano che espressione e attività di CK2, al contrario di quello che si osserva in cellule immortalizzate, non sono alterate in maniera specifica dalla mutazione F508delCFTR in pazienti CF. Inoltre utilizzando

cellule Knockout per CK2 abbiamo analizzato il potenziale contributo di CK2 in una terapia combinata con differenti correctori o regolatori della proteostasi, ottenendo tuttavia modesti risultati, pur avendo una riduzione dell'espressione di HSP27. Cellule CFBE knockout per HSP27 mostrano invece una risposta amplificata ai correctori Vertex portando ad un notevole recupero funzionale di F508delCFTR.

Conclusioni. Questi studi preclinici, anche se sminuiscono l'importanza di CK2 quale potenziale bersaglio farmacologico per trattare pazienti F508del-CFTR, sono comunque importanti nel produrre evidenze sperimentali che supportano una strategia per una terapia combinata di correctori Vertex con lo sviluppo di molecole che abbiano come bersaglio HSP27.

27. Identification of deubiquitinases and ubiquitin ligases that affect mutant CFTR rescue

Musante I, Scudieri P, Renda M, Genovese M, Guidone D, Galletta LJV

Telethon Institute of Genetics and Medicine (TIGEM), Pozzuoli (NA), (FFC#2/2017, In progress)



Luis Galletta, responsabile del progetto

Background and Rationale. Cystic fibrosis (CF) is a genetic multi-organ disease caused by the lack of function of the CFTR protein. The most frequent mutation in CF is F508del. Recently, novel drugs, named correctors, have been developed to treat patients with F508del mutation. However, such drugs have limited efficacy.

Hypothesis and objectives. Despite the treatment with correctors, F508del-CFTR protein is still detected by cell quality control mechanisms as a defective protein and degraded to a significant extent. In particular, ubiquitin ligases (UBLs) are involved in CFTR ubiquitination and degradation through the proteasome and lysosome pathways. Importantly, deubiquitinases (DUBs) antagonize the activity of UBLs by removing the ubiquitin tag and therefore may save mutant CFTR from degradation. There are approximately 100 different DUB types in human genome. Our aim is to identify the UBLs and DUBs that determine the fate of mutant CFTR.

Methods. We are using cells expressing CFTR protein with the F508del mutation. Using transfection of siRNA molecules and a high-throughput functional assay, we are knocking down cellular DUBs, one at a time, to identify proteins whose silencing affects mutant CFTR rescue.

Results. We have screened a commercial library containing siRNAs against 97 DUBs with the functional assay based on the halide-sensitive yellow fluorescent protein. In this way, we have identified a panel of DUBs that are important for F508del-CFTR function/trafficking. Identification of these proteins will be a way to identify the corresponding UBLs. Indeed, each DUB inside the cell usually associates with one or more UBLs as molecular partners.

Expected results and spin-off. The identification of pro-

teins that control mutant CFTR degradation will be important to design novel pharmacological strategies. Indeed, drugs that increase the activity of DUBs and/or decrease the activity of UBLs could favor the efficacy of CFTR correctors.

Identificazione di deubiquitinasi e ubiquitina-ligasi che influenzano la correzione della proteina CFTR mutata

Ragioni del progetto. La fibrosi cistica (FC) è una malattia genetica causata dalla perdita di funzione della proteina CFTR. La mutazione più frequente nei pazienti FC è F508del. Recentemente sono stati sviluppati dei farmaci, chiamati correttori, per il trattamento dei pazienti con la mutazione F508del. Tuttavia, i correttori attualmente a disposizione hanno efficacia limitata.

Ipotesi e obiettivi. La nostra ipotesi è che la proteina CFTR mutata, nonostante il trattamento con correttori, sia in gran parte eliminata a causa di proteine intracellulari chiamate ubiquitina-ligasi (UBL). Le UBL agiscono da controllori; riconoscono la proteina CFTR con la mutazione F508del come un difetto di produzione e attaccano alla proteina stessa l'ubiquitina, una specie di etichetta molecolare che ne determina l'eliminazione. È importante notare che esistono anche proteine con azione contraria. Queste sono le deubiquitinasi (DUB), ne esistono circa 100, che rimuovono l'ubiquitina salvando le proteine dalla degradazione. Il nostro obiettivo è l'identificazione delle UBL e delle DUB che determinano il destino della proteina CFTR mutata.

Metodi. Per il nostro studio utilizziamo cellule in coltura che esprimono la proteina CFTR con la mutazione F508del. Attraverso una tecnica di silenziamento genico effettuiamo lo spegnimento delle DUB, una per volta, per valutarne l'effetto sulla proteina CFTR mutata. L'identificazione delle DUB importanti per CFTR sono un passo importante per poi scoprire le UBL. Infatti ciascun tipo di DUB si associa specificamente con una o più UBL.

Risultati. Abbiamo completato un primo screening in cui abbiamo silenziato la maggior parte delle DUB conosciute. Il silenziamento di alcune di queste ha prodotto un effetto sulla proteina CFTR mutata. Stiamo al momento effettuando esperimenti per la conferma dei risultati e per identificare le corrispondenti UBL.

Possibili ricadute. Le informazioni ottenute potranno essere utilizzate per lo sviluppo di nuove terapie farmacologiche. Si può infatti ipotizzare lo sviluppo di farmaci mirati che, promuovendo l'attività di DUB e/o inibendo l'attività di UBL, abbiano l'effetto desiderato di proteggere la CFTR favorendo l'azione di correttori.

28. Properties of airway mucus in cystic fibrosis: their modification by changes in the activity of CFTR and after application of bicarbonate

Gianotti A¹, Delpiano L¹, Capurro V¹, Moran O², Ferrera L¹
¹U.O.C. Genetica Medica, Istituto G. Gaslini, Genova, ²CNR, Istituto di Biofisica, Genova (FFC#12/2016, In progress)

Background and rationale. Most of the problems of patients affected by cystic fibrosis (CF) are due to the defective mucociliary clearance caused by a very thick mucus. We demonstrated that the viscoelastic properties of CF mucus improve with the direct application of lumacaftor. Thus, we hypothesise that the rescue of the F508del-CFTR function by lumacaftor could increase the bicarbonate secretion, recovering the correct airway surface liquid (ASL), pH homeostasis, and favouring the post-secretional mucine processing. Thus, a direct treatment of airways with bicarbonate, determining an



Loretta Ferrera, prima a destra, con le collaboratrici

increase of the ASL pH, would result beneficial in the viscoelastic properties of the mucus.

Hypothesis and objectives. The aims of the project are: 1) to investigate whether the bicarbonate treatment modify the mucin secretion and water reabsorption in the ASL; 2) to verify the direct role of airway pH on the viscoelastic properties of the ASL mucus; 3) to examine whether the mutant CFTR rescue by lumacaftor is correlated with the bicarbonate transport and pH modifications in the ASL.

Essential methods. We use primary bronchial cells monolayers from normal subjects and CF patients as epithelial models. Bicarbonate is directly applied to the apical surface of the monolayers; alternatively, the bicarbonate cell production is altered enzymatically. Water reabsorption, pH, ASL protein concentration and microrheological properties, measured by the displacement of fluorescent nanobeads, characterises the properties of the ASL.

Preliminary results. Our results clearly indicate that the treatment with bicarbonate significantly improves the properties of the mucus and determines increase of mucus pH in treated CF epithelia.

Expected final results and their significance. Data obtained in this work will be useful for the design strategies for CF treatment patients using inhaled bicarbonate, and improve the protocols that are been used in a clinical trial. Noteworthy, bicarbonate might represent a mutation-independent and low cost therapy to clear out the mucus that accumulates in the airways, reducing the risk of infections, and improve lung function.

Proprietà del muco delle vie aeree in fibrosi cistica: modifiche dovute a cambiamenti nell'attività di CFTR e dopo l'applicazione di bicarbonato

Ragioni dello studio. La maggior parte dei problemi dei pazienti colpiti da fibrosi cistica (FC) è dovuta a una clearance mucociliare difettosa causata dalla presenza di un muco molto denso. Noi abbiamo recentemente dimostrato che le proprietà viscoelastiche del muco FC possono migliorare dopo l'applicazione diretta di lumacaftor. Così noi possiamo ipotizzare che il recupero della funzione di F508d-CFTR determinato da lumacaftor possa aumentare la secrezione di bicarbonato, ripristinando le proprietà del liquido sulla superficie delle vie aeree, l'omeostasi del pH e la maturazione delle mucine dopo la loro secrezione. Quindi, l'applicazione diretta di bicarbonato nelle vie aeree potrebbe determinare un aumento del pH con una conseguente azione benefica sullo spessore del muco.

Ipotesi e obiettivi. Gli obiettivi del progetto, sono, quindi: 1) studiare se il trattamento con bicarbonato modifica la secrezione di mucina e il riassorbimento di acqua nel liquido periciliare; 2) verificare il ruolo diretto del pH delle vie aeree sulle proprietà viscoelastiche del muco; 3) capire se il recupero della proteina mutata da parte del lumacaftor è correlato con il trasporto di bicarbonato e con i cambiamenti di pH nel liquido periciliare.

Metodi essenziali. Usiamo monostrati di cellule bron-

chiali primarie differenziate e derivate da soggetti normali e da pazienti FC. Applichiamo direttamente il bicarbonato sulla superficie apicale di epitelio modello o modificando la produzione cellulare di bicarbonato con opportuni enzimi. Il riassorbimento di acqua, il pH, la concentrazione di proteine e le proprietà microreologiche, misurate tramite lo spostamento di nanobiglie fluorescenti, rappresentano le proprietà chimico-fisiche valutate nel liquido periciliare.

Risultati preliminari. I nostri risultati indicano che l'applicazione di bicarbonato migliora significativamente le proprietà del muco e causa un aumento del pH del muco negli epitelio CF trattati.

Risultati finali attesi e loro significato. I dati ottenuti da questo lavoro saranno utili per progettare strategie per il trattamento di pazienti FC, usando bicarbonato inalato, e per migliorare i protocolli da usare nelle sperimentazioni cliniche. Fatto importante, il bicarbonato può rappresentare una terapia mutazione-indipendente e a basso costo per fluidificare ed eliminare il muco che si accumula nelle vie aeree, riducendo così il rischio di infezioni e migliorare la funzionalità polmonare.

29. Proteomic profiling of F508del-CFTR cells to identify new pharmacological targets for CF

Braccia C^{1,4}, Tomati V², Pedemonte N², Armirotti A³

¹D3Pharmachemistry, Fondazione Istituto Italiano di Tecnologia, Genova, ²U.O.C. Genetica Medica, IRCCS Istituto Giannina Gaslini, Genova, ³Analytical Chemistry Lab, Fondazione Istituto Italiano di Tecnologia, Genova, ⁴Dipartimento di Chimica, Università degli Studi di Genova



Andrea Armirotti, responsabile del progetto, con una collaboratrice

Background and Rationale. An approach to identify new targets for CF is the screening of siRNA libraries designed to silence molecules with a role in F508del-CFTR processing and degradation, in order to pinpoint those that, upon inhibition, lead to CFTR rescue at the plasma membrane. This screening, performed at Gaslini Hospital by Pedemonte's group, already allowed the identification of some new candidate targets. Still, some of the identified molecules (primary targets) are "big-players" in the cell machinery and their inhibition might potentially arise safety concerns.

Hypothesis and objectives. We aim at finding new potential targets (secondary targets) for the pharmacological treatment of CF. We will conduct this investigation by extensively profiling the proteome of CFBE41o- cells after the silencing of the primary targets. Our working hypothesis is that, among the proteins that are dysregulated following this genetic abolition, there might be other molecules acting on CFTR maturation and trafficking in a molecularly "closer" manner (compared to the primary targets). These secondary targets, being more specific for CFTR, should be safer to inhibit, from a pharmacological standpoint.

Essential methods. We will perform proteomics by using SWATH-MS. In this respect, we already optimized the Homo Sapiens ion library, a sort of molecular "map" of the proteome that allows the simultaneous identification and quantification of proteins in biological samples.

Results. Our results show that changes in protein expression are clearly detectable after the silencing of primary targets, also by means of advanced data analysis techniques. This supports the feasibility of our project. On a (partially) side project, we also showed that our SWATH approach, dutifully tuned for the proteome of the human bronchial epithelium, generated expression data for over 4000 proteins from primary cells of CF patients. Indeed, we managed to compare their proteomic profiles with those of non-CF individuals and our analysis outlined the dysregulation of several proteins. The corresponding paper is in press by Journal of Cystic Fibrosis.

Conclusions. The expected result of our project is the identification of a set of secondary targets, whose modulation results in CFTR rescue in CFBE41o- cells. In the frame of this 1-year project, we will also validate our findings in primary cell lines from CF patients.

Analisi proteomica su cellule F508del-CFTR per identificare nuovi bersagli farmacologici per la fibrosi cistica

Ragioni dello studio. Nonostante i successi della ricerca, le opzioni terapeutiche per il trattamento di CF rimangono limitate ed è necessario trovare nuovi bersagli farmacologici. Dall'analisi approfondita dei cambiamenti del proteoma di cellule F508del è possibile individuare delle proteine che giocano ruoli chiave e che potrebbero costituire dei nuovi bersagli farmacologici per la FC. Negli anni passati, il gruppo della Dr.ssa Pedemonte (Ist. G. Gaslini) ha individuato un set di proteine (target primari) che interagiscono con la maturazione di CFTR e la cui modulazione farmacologica consentirebbe un miglioramento del fenotipo CF.

Ipotesi e obiettivi. L'ipotesi alla base del nostro progetto è che, mediante una estesa investigazione dei cambiamenti nell'espressione proteica risultanti dall'abolizione dei target primari, sia possibile individuare un nuovo set di bersagli meno generici e molecularmente e funzionalmente più "vicini" a CFTR. Questi "target secondari", essendo più specifici per CFTR, dovrebbero anche risultare più sicuri da modulare farmacologicamente.

Metodi essenziali. Questo esteso studio di proteomica verrà condotto usando una particolare tecnologia analitica (SWATH-MS), che il nostro gruppo ha già opportunamente ottimizzato per investigare il proteoma dell'epitelio bronchiale umano.

Risultati. I risultati preliminari mostrano chiaramente che, mediante questo tipo di esperimenti e opportune tecniche di analisi dati avanzate, è possibile rilevare cambiamenti nel proteoma di cellule CFBE41o- a seguito del silenziamento selettivo dei target primari. Questo supporta la nostra ipotesi di lavoro. In un progetto parallelo, abbiamo già usato il nostro approccio per quantificare circa 4000 proteine nell'epitelio bronchiale di pazienti CF, confrontandolo con quello di soggetti di controllo. I nostri esperimenti hanno già portato all'individuazione di un numero di proteine disregolate dalla patologia. Life-threatening

Conclusioni. Il risultato atteso per questo progetto di 1 anno è l'individuazione di un set di proteine potenzialmente utili per il trattamento farmacologico della FC e per il miglioramento delle condizioni di vita dei pazienti. A tale scopo, dopo aver individuato questi target secondari nel modello in vitro (CFBE41o-), valideremo i nostri risultati su cellule primarie provenienti da pazienti FC.

30. Dissecting the rescue mechanisms mediated by CFTR correctors

Amico G, Brandas C, Moran O, Baroni D
IBF – CNR, Genova (FFC#2/2018, New)



Debora Baroni, al centro, con i ricercatori del progetto

Background and rationale. Cystic fibrosis (CF) is a life-threatening genetic disease caused by the loss or dysfunction of the CF transmembrane conductance regulator (CFTR) channel. Ultimately, CF disrupts the function of many organs in the body, most notably the lungs, by perturbing salt and water transport across epithelia surfaces. Deletion of phenylalanine at position 508 (F508del) of CFTR protein is the most prevalent mutation among CF patients. It results in defects of protein folding, maturation and trafficking. High-throughput screening campaigns aimed to identify small molecules effective in correcting the folding and trafficking defects of F508del CFTR have yielded some promising hits. Few such compounds are being used in patients, showing some clinical benefits but also many limitations. The need to identify new and more effective correctors, capable of restoring the functional expression of mutant CFTR becomes imperative. Filling the gaps in the knowledge of the mechanisms of action of existing correctors as well as understanding the basic defect of mutant CFTR protein will allow a significant step forward in an efficient treatment of the CF disease.

Hypothesis and objectives. The main objective of this proposal is to identify the F508del CFTR domains and sub-domains involved in the rescue mechanism exerted by correctors. Further efforts will be addressed to study the effect of correctors on the folding and maturation of both wild-type and mutant CFTR. The elucidation of the conformational modifications induced by correctors to the two isoforms will provide new information for the rational design of structure-targeted CFTR drugs.

Essential methods. We plan to use complementary biochemical methods – heterologous expression of isolated domains and sub-domains and affinity chromatography - to recognize the domains involved in the mechanisms of rescue mediated by correctors. Retrieved results will be corroborated by limited proteolysis and cross-linking experiments.

Expected results. Retrieved results will allow to elucidate the folding consequences of the treatment with correctors and will provide useful information for the design of more effective therapeutics to combat CF.

Analisi del meccanismo d'azione dei correttori della proteina CFTR

Ragioni del progetto. La fibrosi cistica (FC) è una malattia genetica che mette a rischio la vita ed è causata dalla mancata espressione o dal malfunzionamento della proteina denominata “regolatore della conduttanza transmembrana

della fibrosi cistica” (CFTR). La FC colpisce gli epiteli di rivestimento di molti organi del corpo, in particolare i polmoni, dove causa una severa perturbazione del trasporto di sali e acqua attraverso la superficie dell'epitelio. La delezione della fenilalanina in posizione 508 (F508del) della proteina è la mutazione con più alta incidenza tra i pazienti affetti da FC. Essa determina la sintesi di una proteina con difetti di ripiegamento, maturazione e traffico. Campagne di high-throughput screening, volte all'identificazione di molecole capaci di correggere i difetti di ripiegamento e maturazione della proteina CFTR mutate, hanno prodotto alcuni risultati promettenti. Alcuni correttori sono stati oggetto di studi clinici che hanno evidenziato alcuni benefici terapeutici ma anche, purtroppo, molte limitazioni d'uso. Diventa quindi sempre più pressante la necessità di identificare nuovi e più efficaci correttori capaci di ripristinare l'espressione funzionale della proteina CFTR mutata. Una migliore conoscenza del meccanismo d'azione dei correttori esistenti, così come la comprensione del difetto di base causato dalla mutazione F508del consentiranno di compiere un notevole passo avanti nella cura della malattia.

Ipotesi e obiettivi. L'obiettivo principale di questo progetto è quello di identificare i domini e i sotto-domini della proteina CFTR mutata coinvolti nell'azione di recupero dei difetti di ripiegamento e maturazione mediata dai correttori. Ulteriori sforzi saranno mirati a studiare l'effetto dei correttori sull'assemblaggio e la maturazione della proteina CFTR nativa.

Metodi essenziali. Utilizzeremo metodi biochimici complementari (espressione eterologa di domini e sottodomini isolati e cromatografia di affinità) per riconoscere i siti coinvolti nei meccanismi di salvataggio della proteina CFTR mediata dai correttori. I risultati ottenuti saranno corroborate da esperimenti di proteolisi limitata e cross-linking.

Risultati attesi. Il progetto che proponiamo consentirà di far luce sui possibili cambiamenti conformazionali indotti dal trattamento con i correttori nelle due isoforme, nativa e mutata, della proteina CFTR e fornirà informazioni utili per la progettazione di farmaci mirati.

31. Revealing the microRNAs-transcription factors network in cystic fibrosis: from microRNA therapeutics to precision medicine (CF-miRNA-THER)

Gambari R¹, Finotti A¹, Gasparello J¹, Fabbri E¹, Corradini R²
¹Department of Life Sciences and Biotechnology, Ferrara, Italy,
²Department of Chemistry, Life Sciences and Environmental Sustainability, University of Parma, Italy (FFC#7/2018, New)



Roberto Gambari, responsabile del progetto, con le collaboratrici e, in basso, Roberto Corradini, parter di ricerca

Background and rationale. Regulation of CFTR protein expression by microRNAs has been explored by different groups in cystic fibrosis (CF) primary bronchial epithelial cells in vitro or from bronchial brushings ex vivo. Modulation of miRNA expres-

sion can be achieved by the use of pre-miRNAs as well as using antagomiRs, including peptide-nucleic acids (PNAs).

Hypothesis and objectives. The objectives of CF-miRNA-THER are: (a) identification and characterization of key microRNAs involved in CF and regulating CFTR and CFTR modulators; (b) identification and validation of the most relevant mRNA targets of CF-associated miRNAs, with particular focus on transcription factors controlling CFTR expression; (c) study of changes of the gene expression in CF using PNAs targeting microRNAs; (d) development of PNA-based antagomiRNAs for activating CFTR transcription and induce CFTR stabilization; (e) combined treatments, with particular focus on CFTR correctors and/or potentiators; (f) characterization of miRNAs differentially present in body fluids from CF patients.

Essential methods. Experiments focusing on miRNA expression profile and identification and validation of microRNAs/mRNAs networks involved in CF will be first performed. Modulation of microRNA activity using antagomiRs and pre-miRNAs will be developed targeting CFTR and CFTR regulators. PNA-based antagomiR molecules and suitable delivery systems will be studied. Content of miRNAs in body fluids from CF patients will be carried out.

Results. The major output of CF-miRNA-THER is the identification of microRNA targets and mRNA targets of biomolecules of interest in translational medicine, with the objective of modifying gene expression of cystic fibrosis cells, and, in particular, of increasing stability/expression of CFTR protein. This therapeutic goal is very important for the treatment of cystic fibrosis. We have demonstrated that PNAs against miR-145-5p and miR-101-3p (both targeting CFTR mRNA) induce increase of CFTR in Calu-3 cells. Increase of CFTR was obtained with a PNA against miR-335-5p, targeting the CFTR modulator NHERF1. PNA masking miR-145 binding sites increase CFTR mRNA content.

Conclusions. Therapies currently in development will probably not be able to address the medical need of CF patients over the next decade; therefore, additional therapeutic options and novel targets will be required to treat CF lung disease increasing CFTR functions.

Caratterizzazione del “Network microRNA-fattori di trascrizione in fibrosi cistica”: dalla “terapia microRNA” alla medicina di precisione (CF-miRNA-THER)

PLENARY SESSION 5

OTHER TARGETS TO RESCUE AND STABILIZE CFTR

32. Development of ganglioside GM1-based therapy to improve F508delCFTR rescue approaches

Tamanini A¹, Loberto N², Mancini G², Valsecchi M², Bassi R², Pedemonte N³, Cabrini G⁴, Dehecchi MC¹, Santangelo A¹, Pradini P¹, Aureli M²

¹Laboratorio di Patologia Molecolare, UOC Laboratorio Analisi (Sede di Borgo Trento), Dipartimento di Patologia e Diagnostica, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona, ²Department of Medical Biotechnology and Translational Medicine, University of Milano, ³U.O.C. Genetica Medica, Istituto Giannina Gaslini, ⁴Università di Verona, Dip. Di Neuroscienze Biomedicina e Movimento (FFC#2/2018, New)

Background and rationale. The most common F508del CFTR mutation causes a defect in: i) protein maturation and stability, ii) trafficking to the plasma membrane (PM), and iii) channel open probability. Many pharmacological agents have

Ragioni dello studio. La modulazione diretta dell'espressione della proteina CFTR da parte di microRNA (miRNA) è stata recentemente studiata in fibrosi cistica (FC) da diversi gruppi in cellule primarie epiteliali bronchiali in vitro o brushing bronchiali ex vivo. La modulazione dell'espressione dei miRNA può essere ottenuta mediante l'uso di molecole pre-miRNA, nonché utilizzando molecole antagomiR, tra cui quelli basati su acidi peptidici nucleici (PNA).

Ipotesi e obiettivi. Gli obiettivi del progetto CF-miRNA-THER sono: (a) la caratterizzazione dei principali miRNAs coinvolti in fibrosi cistica e in grado di regolare l'espressione di CFTR e di modulatori di CFTR; (b) l'identificazione e la validazione di mRNA regolati da miRNA, con particolare riferimento a miRNA per fattori di trascrizione del CFTR; (c) studio delle modifiche dell'espressione genica in cellule FC trattate con PNA in grado di colpire miRNA; (d) sviluppo di molecole antagomiRNA basate su PNA per l'attivazione della trascrizione di CFTR e per la stabilizzazione di CFTR; (e) trattamenti combinati, in particolare con correttori e/o potenziatori di CFTR; (f) caratterizzazione dei miRNA presenti in modo differenziale nei fluidi biologici di pazienti CF.

Metodi essenziali. Gli esperimenti saranno incentrati sullo studio del profilo di espressione dei miRNA e l'identificazione e la validazione di miRNA/mRNA coinvolte in FC. Protocolli di modulazione dell'attività dei microRNA usando antagomiR e pre-miRNA saranno sviluppati per ottenere una alterazione di CFTR e di proteine regolanti CFTR. Saranno sviluppate molecole antagomiR basate su PNA e adeguati sistemi di veicolazione.

Risultati. Il risultato principale di CF-miRNA-THER è l'identificazione di microRNA (e relativi mRNA bersaglio) di interesse in medicina traslazionale, con l'obiettivo di modificare l'espressione genica di cellule da pazienti FC e di aumentare la stabilità/espressione della proteina CFTR. Abbiamo dimostrato che PNA contro miR-145-5p e miR-101-3p (entrambi diretti al CFTR mRNA) inducono un aumento di CFTR nelle cellule Calu-3. L'aumento di CFTR è stato ottenuto anche con un PNA contro miR-335-5p, che regola un modulatore di CFTR (NHERF1).

Conclusioni. Le terapie attualmente in fase di sviluppo non saranno probabilmente in grado di affrontare la necessità medica dei pazienti FC nel prossimo decennio; di conseguenza, opzioni terapeutiche aggiuntive sono necessarie e tra queste potrebbero rientrare le strategie sviluppate nel presente progetto.



Massimo Aureli, responsabile del progetto, e Anna Tamanini, seconda da sinistra, con collaboratrici

been designed to rescue the F508delCFTR function and among these, Orkambi[®], the lumacaftor (VX-809, corrector)-ivacaftor (VX-770, potentiator) combination, has been recently approved by FDA. However, only modest improvements in lung function have been observed after treatment with Orkambi[®] in CF patients homozygous for F508delCFTR likely due to: i) inability of drug treatment in F508delCFTR PM stabilization, ii) presence of P aeruginosa infections, which increase the internalization rate of CFTR. Furthermore, given the role of the ganglioside GM1 in stabilization and function of transmembrane proteins, its reduction in the PM of CF bronchial cells could contribute to poor ef-

fectiveness of drug treatment on stabilizing F508delCFTR at PM.

Hypothesis and objectives. Based on this evidence, our research project is aimed to investigate the role of GM1, already tested for the treatment of Parkinson's disease, as adjuvant to increase the effectiveness of Orkambi® therapy in term of F508delCFTR rescue.

Essential methods. Using CFBE bronchial epithelial cells overexpressing F508delCFTR we will: i) perform dose response experiments aimed to select the best combination of correctors, potentiators and GM1 resulting in the higher rescue of F508delCFTR both in presence or absence of *P.aeruginosa* infection; ii) carry out time-course experiments to evaluate the effectiveness of the treatments on F508delCFTR rescue over time, and iii) study the effect of the GM1 in term of the PM stability and turnover of F508delCFTR. Furthermore, we will validate the most promising combination of VX-770, VX-809 and GM1 in differentiated F508del primary human bronchial epithelial cells.

Results. We found that administration of GM1 to CF bronchial epithelial cells, chronically treated with high dose of VX-809 and VX-770, results in an increased level of the mature form of F508delCFTR and scaffolding proteins NHERF1 and P-ezrin.

Conclusions. The results that will be obtained are aimed to identify new therapeutic approaches based on co-administration of GM1 with correctors and potentiators that could improve therapeutic benefits for CF patients.

Stabilizzazione della F508del-CFTR sulla membrana cellulare mediante ganglioside GM1

Ragioni dello studio. La CFTR con mutazione F508del è una proteina che non matura normalmente, non è in grado di raggiungere la membrana plasmatica, presenta un difetto funzionale di trasporto di cloruro ed è instabile in membrana. Per correggere questi difetti è quindi necessario l'uso combinato di molecole in grado di indurre la normale maturazione della proteina (correttori), attivarne la funzione (potenziatori) e stabilizzarla. La nuova combinazione, lumacaftor (correttore)-ivacaftor (potenziatore) (Orkambi®) ha dato benefici minimi in pazienti sottoposti a trial clinico, probabilmente a causa della bassa efficienza del correttore Vx-809 nello stabilizzare la proteina mutata in membrana e delle interazioni negative con il potenziatore Vx-770. Inoltre, la presenza di infezioni croniche da *P. aeruginosa* nei pazienti trattati peggiora la situazione causando una maggiore internalizzazione della CFTR. Pertanto, risulta urgente la necessità di sviluppare nuovi approcci terapeutici capaci di aumentare la stabilità in membrana di CFTR.

Ipotesi e obiettivi. Sulla base di questi presupposti, il nostro progetto intende indagare la possibilità che il ganglioside GM1, componente della membrana cellulare che sembra essere deficitario nelle cellule epiteliali bronchiali FC, possa aumentare l'efficienza di correttori e potenziatori nel recupero funzionale della CFTR con mutazione F508del.

Metodi essenziali. Verranno identificate in cellule epiteliali bronchiali le combinazioni di correttori, potenziatori e GM1 più efficaci in termini di recupero della funzionalità di trasporto di cloruro da parte della proteina CFTR con mutazione F508del. Queste combinazioni verranno poi validate in cellule epiteliali bronchiali primarie differenziate all'interfaccia aria liquido.

Risultati. I dati fino ad ora ottenuti, mostrano che la combinazione di GM1, VX-770 e VX-809 è in grado di aumentare la funzione di F508del CFTR in cellule epiteliali bronchiali FC.

Conclusioni. Essendo il GM1 una molecola già in uso per la cura di altre patologie, i risultati di questo studio potrebbero rappresentare il punto di partenza per lo sviluppo di nuove strategie terapeutiche basate sull'associazione di GM1 con correttori e potenziatori, per migliorare l'efficacia dei trattamenti nei pazienti con FC.

33. Dissecting the mechanism of action of the TG2 inhibitor cysteamine on Cystic Fibrosis

Rossin F¹, Vilella VR², D'Eletto M¹, Occhigrossi L¹, Palucci I³, Delogu G³, Maiuri L² and Piacentini M¹

¹Department of Biology University of Rome "Tor Vergata", Rome, ²European Institute for Research in Cystic Fibrosis, San Raffaele Scientific Institute, Milan, ³Institute of Microbiology, Università Cattolica del Sacro Cuore - Fondazione Policlinico Universitario Gemelli, Rome (FFC#10/2018, New)



Mauro Piacentini, responsabile del progetto, con collaboratrici

Background/Rationale. Transglutaminase 2 (TG2), the most ubiquitous member of the TG family, plays a crucial role in Cystic Fibrosis (CF) pathogenesis. TG2 is a multifunctional enzyme involved in a variety of cellular processes by playing a key regulatory role in intracellular proteostasis under stressful conditions. TG2 catalyses post-translational modifications of proteins through both Ca²⁺ dependent and independent reactions. In fact, in addition to its crosslinking activity, TG2 may also act as protein disulphide isomerase. It has been demonstrated that TG2 is constitutively up regulated in CF airways and drives chronic inflammation. The enzyme deregulation in CF disrupts the TG2 mediated capability of fighting stress, making TG2 a harmful, instead of beneficial, player of the disease pathogenesis. Several TG2 inhibitors can ameliorate the disease phenotype such as cysteamine, a small molecule with pleiotropic functions, among which the capability of controlling TG2 overactivation in CF improving the trafficking and the function of F508del CFTR.

Hypothesis and Objectives. The aim of this project is to elucidate the molecular mechanisms by which cysteamine modulates CFTR trafficking and consequently the susceptibility to opportunistic airways infections. We will assess the activity of cysteamine against bacterial infection and the effect on the activation of the innate immune response analysing the STING pathway in the CF models. Moreover, we will perform a transcriptome sequencing in human and mouse CF models treated with cysteamine to inhibit TG2 with the aim to obtain a platform of new possible CF targets.

Essential methods. We will use CF mouse models infected in vivo and ex vivo with Mabs and *P. aeruginosa* as well as peripheral blood mononuclear cell from CF patients.

Preliminary results. Our preliminary findings indicate that TG2 controls both trafficking and degradation of the mutated CFTR by modulating the heat shock proteins expression via its PDI activity. In addition, we have also reported that cysteamine can improve the clearance of *Pseudomonas aeruginosa* and of other pathogenic mycobacteria such as *Mycobacterium abscessus*.

Conclusions. The results of this project will define the molecular basis that supports the use of cysteamine not only as a CFTR corrector but also as a promising therapy against bacterial opportunistic infections. To understand the molecular pathway involved in bacterial infection could provide new

possible targets and the possibility to define novel strategies aimed to improve the health care of CF patients.

Analisi dei meccanismi di azione dell'inibitore della transglutaminasi di tipo 2 nella fibrosi cistica

Ragioni dello studio. La transglutaminasi 2 (TG2) è una proteina che svolge un ruolo cruciale nella patogenesi della fibrosi cistica (FC). La TG2 è un enzima multifunzionale coinvolto in una varietà di processi cellulari e svolge un ruolo chiave nella regolazione della proteostasi intracellulare in condizioni di stress. La TG2 modifica le proteine sia attraverso reazioni Ca^{2+} dipendenti che indipendenti. È stato dimostrato che la TG2 è costitutivamente attivata nelle vie aeree dei pazienti con FC e causa infiammazione cronica. L'enzima è deregolato nella FC, rendendolo un fattore dannoso invece che benefico della patogenesi della malattia. Diversi inibitori del TG2 possono migliorare il fenotipo della malattia come la cisteamina, una piccola molecola con funzioni pleiotropiche, tra cui la capacità di controllare l'iperattivazione della TG2 migliorando la funzione del CFTR mutato.

Ipotesi e obiettivi. Lo scopo di questo progetto è quello di chiarire i meccanismi molecolari con cui la cisteamina modula la suscettibilità alle infezioni delle vie respiratorie nella

FC. Valuteremo l'attività della cisteamina contro l'infezione batterica e l'effetto sull'attivazione della risposta immunitaria nei modelli di FC. Inoltre, analizzeremo i cambiamenti nell'espressione genica in modelli di FC utilizzando la cisteamina per inibire la TG2 con l'obiettivo di ottenere una piattaforma di nuovi possibili bersagli della FC.

Metodi essenziali. Utilizzeremo modelli di topo infettati con *Mycobacterium abscessus* e *Ps. aeruginosa*, nonché cellule del sangue da pazienti con FC. Studieremo l'effetto dell'inibitore del TG2 sull'attivazione della risposta immunitaria nei modelli di FC dopo infezione batterica.

Risultati preliminary. I nostri risultati preliminari indicano che la TG2 controlla sia la traslocazione che la degradazione del CFTR mutato modulando l'espressione delle proteine dello shock termico. Inoltre, abbiamo anche visto che la cisteamina può migliorare la rimozione di *Pseudomonas aeruginosa* e di micobatteri non tubercolari patogeni come *Mycobacterium abscessus* (Mabs).

Conclusioni. I risultati di questo progetto definiranno la base molecolare che supporta l'uso della cisteamina. La cisteamina è un farmaco approvato e rivelare i suoi meccanismi di azione contro le infezioni batteriche potrebbe fornire nuove possibili strategie volte a migliorare il tenore di vita dei pazienti con FC.

CFTR MODULATORS: RESEARCH AND CLINICAL APPLICATION

Close to the edge: state of the art of the F508del-CFTR modulators and new cell types

Galiotta LJV (TIGEM, Napoli)



New combinations of drugs. F508del causes multiple CFTR defects and the drug therapy aimed at recovering the function of the mutated protein requires combination of drugs that may complement one another. So far, patients carrying F508del mutation have benefited from a particular combination, made up of a potentiator, i.e. ivacaftor, and a corrector, i.e. lumacaftor. That combination is on the market with the name of Orkambi, it aims to correct both "gating" and "trafficking" defects: The potentiator targets the "gating" defect by stimulating the activity of the protein, keeping it longer in the open state so that chloride ions can easily flow through; the corrector addresses the "trafficking" defect, which is the main concern due to F508del as the mutation makes an unstable protein that undergoes early degradation. However, the double combination in Orkambi has shown a relatively modest efficacy in patients with two copies of the F508del mutation and almost nothing in patients with a single copy. Similar results have also been obtained with another double combination, i.e. tezacaftor and ivacaftor. These results are not surprising for the scientific community, because the "trafficking" defect is actually due to

different areas of the CFTR protein. Therefore, one single corrective drug (lumacaftor or tezacaftor) may not be sufficient to recover the protein altogether. That is the reason why a second generation of correctors have been developed; in combination with the first generation correctors and with the potentiator, they can generate an important recovery of the CFTR protein. Two recent studies published in the prestigious journal *N Engl J Med*, are relative to the combinations VX-659 / tezacaftor / ivacaftor and VX-445 / tezacaftor / ivacaftor.

Laboratory studies on cellular models and clinical data from patients show similar results using both combinations. In cells, the treatment shows a significant recovery of mutated CFTR. In patients with two copies of the F508del mutation, the triple combination shows greater efficacy than the double one tezacaftor-ivacaftor. Finally, in patients carrying one copy of F508del, the triple combination results in an improvement in respiratory function, almost never revealed in previous clinical studies with only one corrector plus potentiator. It is a particularly relevant result because, if confirmed, it would affect all CF patients who carry F508del in combination with another mutation, from another class. For example, F508del plus class 1 mutations (G542X, R553X, W1282X, etc.) or F508del plus class 2 mutation (N1303K) would have a significant improvement in their clinical condition and no need to treat the second mutation. However, the two publications are relative to phase two clinical trials, which will be confirmed through the ongoing phase three clinical trials. The FFC Foundation joins this effort to search for new drugs through the strategic project "Task Force for Cystic Fibrosis", which has identified a correcting compound (ARN23765) that shows higher efficacy in comparison to first generation correctors: it works on patients' cells at concentrations 100-1000 times lower than those required for lumacaftor and tezacaftor. A preclinical study is underway to assess the safety and bioavailability of the compound.

Massive sequencing reveals new cell types. New technologies allow to edges that were unreachable until a few years ago. Two recent articles published in the top journal *Nature* have exploited massive sequencing to obtain the gene expression profile of individual cells of the respiratory epithelium. Researchers isolated thousands of epithelial cells from the trachea or bronchi and on each of these determined the expressed genes. The study has expanded the number of cell

types that are present in the airway epithelium and, above all, has revealed a completely unexpected data: the CFTR protein seems to be particularly expressed in a very small number of cells (1-2% of total cells). CFTR-positive cells seem to have peculiar characteristics, similar to those of "ionocytes", that are cells of the skin in amphibians and fish gill, useful to exchange ions with the external environment and to balance salt and water. These results stimulate many questions that will be addressed in future studies: is CF a disease that arises from ionocytes? What are the characteristics of ionocytes in the airways of CF patients? In the future, gene or cell therapy strategies will selectively target that cell?

Vicino alla svolta: stato dell'arte dei modulatori F508del-CFTR e nuovi tipi di cellule

Nuove combinazioni di farmaci. F508del provoca difetti multipli a carico di CFTR e una terapia farmacologica mirata al recupero della funzione della proteina mutata richiede la combinazione di farmaci con meccanismi d'azione complementare. Finora i pazienti con F508del avevano a disposizione solo combinazioni composte da un potenziatore, ivacaftor, e un correttore, lumacaftor. La combinazione chiamata Orkambi si propone di correggere due difetti separati, di "gating" e di "trafficking": Il potenziatore punta al difetto di "gating" stimolando l'attività della proteina, mantenendola per più tempo nello stato aperto e quindi consentendo un flusso più sostenuto di ioni cloruro; Il correttore punta invece al difetto di "trafficking", il problema principale causato da F508del. Infatti, la mutazione rende la proteina instabile determinandone la precoce degradazione da parte dei sistemi di controllo cellulari. La doppia combinazione di farmaci che costituisce Orkambi ha però mostrato un'efficacia relativamente modesta nei pazienti con due copie della mutazione F508del e quasi nulla nei pazienti con una sola copia. Risultati simili sono stati ottenuti anche con un altro tipo di combinazione doppia, costituita da tezacaftor e ivacaftor. Tali risultati non sorpremono perché è stato dimostrato che il difetto di "trafficking" è in realtà dovuto a problemi che interessano regioni diverse di CFTR. Pertanto un solo farmaco correttore (lumacaftor o tezacaftor) non è sufficiente per risolvere del tutto tale difetto. Per questo, sono stati sviluppati dei correttori di seconda generazione che in combinazione con quelli di prima generazione e con il potenziatore possono generare un recupero della proteina CFTR particolarmente importante. Di due studi recentemente pubblicati su *N Engl J Med*, uno riguarda la tripla combinazione VX-659/tezacaftor/ivacaftor mentre l'altro riguarda VX-445/tezacaftor/ivacaftor. Sia gli studi di laboratorio effettuati su cellule sia gli studi clinici su pazienti mostrano risultati simili per i due tipi di combinazione. A livello di cellule il trattamento mostra un recupero significativo di CFTR mutata. Nei pazienti con due copie della mutazione F508del, la tripla combinazione mostra un'efficacia maggiore rispetto al trattamento con tezacaftor-ivacaftor. Infine, nei pazienti con una sola copia di F508del, la tripla combinazione determina un miglioramento della funzionalità respiratoria che era quasi del tutto assente negli studi clinici precedenti con un solo correttore più il potenziatore. Questo risultato è particolarmente rilevante perché, se confermato, riguarderebbe tutti i pazienti FC che hanno F508del in combinazione con un'altra mutazione, appartenente anche ad un'altra classe. Ad esempio, pazienti con F508del e mutazioni di classe 1 (G542X, R553X, W1282X ecc.) oppure con F508del e un'altra mutazione di classe 2 (N1303K) avrebbero un miglioramento sensibile della propria condizione clinica senza bisogno di trattare la seconda mutazione. Però, i risultati pubblicati riguardano studi clinici di fase due, che andranno confermati in studi clinici di fase tre, in corso. Allo sforzo per la

ricerca di nuovi farmaci si unisce la Fondazione FFC con il progetto "Task Force for Cystic Fibrosis", che ha identificato un composto correttore (ARN23765) con proprietà migliori rispetto a quelli di prima generazione: esso lavora su cellule di pazienti a concentrazioni 100-1000 volte più basse di quelle richieste per lumacaftor e tezacaftor. È in corso uno studio preclinico in cui si valuta sicurezza e biodisponibilità del composto.

Il sequenziamento massivo rivela nuovi tipi cellulari. Le nuove tecnologie permettono studi impensabili fino a pochi anni fa. Recentemente, due articoli pubblicati sulla rivista *Nature* hanno sfruttato il sequenziamento massivo per ottenere il profilo di espressione genica delle singole cellule che compongono l'epitelio delle vie respiratorie. I ricercatori hanno isolato migliaia di cellule epiteliali della trachea o dei bronchi e su ciascuna di queste hanno determinato i geni espressi. Lo studio ha ampliato il numero di tipi cellulari presenti nell'epitelio delle vie aeree ma ha soprattutto rivelato un dato del tutto inatteso: la proteina CFTR sembra essere particolarmente espressa in un numero di cellule molto piccolo (1-2% delle cellule totali). Le cellule CFTR-positive sembrano avere caratteristiche peculiari simili a quelle degli "ionociti", un tipo di cellule già descritto nella pelle degli anfibii e nelle branchie dei pesci, organi importanti per lo scambio di ioni con l'ambiente esterno e per l'equilibrio idrosalinico. Questi risultati stimolano molte domande che andranno affrontate in studi futuri. Quindi la FC è una malattia che nasce dagli ionociti? Qual è il numero e la condizione degli ionociti nelle vie aeree dei pazienti FC? In futuro, strategie di terapia genica o cellulare dovranno mirare selettivamente a questo tipo cellulare?

Ivacaftor in Italian CF patients with residual CFTR function mutations

Salvatore D

Cystic Fibrosis Center, "San Carlo" Hospital, Potenza



Donatello Salvatore

Ivacaftor is a drug, distributed since 2012, that has as direct target the CFTR channel protein. It is a CFTR potentiator, as it increases the probability of opening the anionic channel, restoring the activity of the protein itself. Ivacaftor is currently authorized by the US Food and Drug Administration (FDA) and the European Medicine Agency (EMA) for the treatment of cystic fibrosis patients aged 2 years or older, who carry at least one of the nine mutations that alter gating function of CFTR channel. Overall, ivacaftor led to improvements in lung function, with a mean increase in FEV1 from baseline of 10.4% compared to placebo after 24 weeks. The effects on lung function were detected as of two weeks after the start of therapy. A 55% reduction in the risk of pulmonary exacerbation was also demonstrated when ivacaftor treatment was continued for up to 48 weeks. It is worth mentioning that

these studies have shown that ivacaftor therapy reduces the chloride concentration in sweat, even under the cut-off used for the diagnosis of cystic fibrosis, confirming the action of ivacaftor on the CFTR channel-protein. The studies also reported mean weight gain of up to 3.7 kg in patients treated with ivacaftor. Recently, ivacaftor has also been studied in children aged 1 to 2 years, highlighting the ability to reduce sweat chloride and the improvement of biomarkers of pancreatic function.

Based on preclinical data, in addition to CF patients with "gating" mutations, FDA has authorized the use of ivacaftor for other 28 mutations of the CFTR gene, that are characterized by residual function of the anionic channel. Case-studies and clinical trials confirm the beneficial effects of ivacaftor in patients who carry at least one copy of residual function mutation. Taking that as a starting point, it has been possible to treat, in Italy, 17 CF patients with ivacaftor for compassionate use carrying those genetic characteristics and a very severe respiratory disease (FEV1 <40%). The follow-up on these patients confirms the safety of the drug and shows a significant improvement in the clinical picture, with a significant increase in FEV1 (on average, absolute change + 12%), improvement of exercise performance and marked reduction in Infectious pulmonary exacerbations.

In conclusion, ivacaftor is a safe and effective drug in patients with "gating" mutations. It is advisable to increase the knowledge on the efficacy of ivacaftor in CF patients with residual function mutations, which represent about 16% of the Italian CF population.

Ivacaftor nei malati FC italiani con mutazioni CFTR con funzione residua

Ivacaftor è un farmaco, distribuito a partire dal 2012, che ha il suo bersaglio diretto nella proteina canale CFTR. Esso è un potenziatore di CFTR, nel senso che aumenta la probabilità di apertura del canale anionico e di fatto ripristina l'attività della proteina stessa. Ivacaftor è attualmente autorizzato dalla Food and Drug Administration (FDA) USA e dalla European Medicine Agency (EMA) per il trattamento di pazienti con fibrosi cistica dall'età di 2 anni in poi che abbiano almeno una delle nove mutazioni che alterano la funzione di gating del canale CFTR. Nel complesso, ivacaftor ha portato a miglioramenti della funzionalità polmonare con un aumento medio di FEV1 rispetto al basale del 10,4% rispetto al placebo dopo 24 settimane. Gli effetti sulla funzione polmonare sono stati rilevati già due settimane dopo l'inizio della terapia. E' stata anche dimostrata una riduzione del 55% nel rischio di esacerbazione polmonare quando il trattamento con ivacaftor veniva proseguito fino a 48 settimane. Inoltre è importante sottolineare che questi studi hanno evidenziato che la terapia con ivacaftor riduce la concentrazione di cloruro nel sudore, anche sotto il cut-off utilizzato per la diagnosi di fibrosi cistica, confermando l'azione di ivacaftor sulla proteina CFTR. Gli studi hanno segnalato inoltre un aumento di peso fino a 3,7 kg nei pazienti trattati con ivacaftor. Recentemente, ivacaftor è stato studiato anche in bambini di età compresa fra 1 e 2 anni, evidenziando la capacità di ridurre il cloro sudorale ed il miglioramento di biomarkers di funzione pancreatica.

Oltre all'uso in pazienti FC con mutazioni "gating", la FDA, basandosi su dati preclinici, ha autorizzato l'uso di ivacaftor per ulteriori 28 mutazioni del gene CFTR che sono caratterizzate dalla presenza di una funzione residua del canale anionico. Alcune case series ed uno studio clinico confermano il possibile beneficio dell'uso di ivacaftor in pazienti che abbiano almeno una mutazione con funzione residua. Su questa base, è stato possibile ottenere in Italia il trattamento con ivacaftor per uso compassionevole in 17 pazienti FC con queste caratteristiche genetiche e malattia respiratoria molto severa (FEV1 < 40% del predetto). Il fol-

low up di questi soggetti conferma, in modo omogeneo, la sicurezza del farmaco ed evidenzia un rilevante miglioramento del quadro clinico, con significativo incremento del FEV1 (mediamente + 12%), miglioramento della capacità di esecuzione dell'esercizio fisico e marcata riduzione delle esacerbazioni infettive polmonari.

In conclusione, ivacaftor è un farmaco sicuro ed efficace nei pazienti con mutazioni "gating". È auspicabile aumentare la conoscenza sull'efficacia di ivacaftor nei pazienti FC con mutazioni con funzione residua, che rappresentano circa il 16% della popolazione italiana FC.

Retrospective Observational study in patients with cystic fibrosis homozygous for F508del, treated, for compassionate use programme, with Ivacaftor/Lumacaftor (Orkambi)

Carnovale V

Adult Cystic Fibrosis Center, Department of Translational Medical Sciences, "Federico II" University of Naples



Vincenzo Carnovale

Cystic Fibrosis (CF) is an autosomal recessive genetic disease caused by gene mutations that result in an abnormal Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) protein on the apical membrane of cells. CFTR modulator therapies are designed to correct directly the molecular defect. Ivacaftor/Lumacaftor (Orkambi) is a CFTR modulator approved for the treatment of CF patients homozygous for F508del, the most common CFTR mutation.

This is a retrospective cohort observational study that shows, for the first time in Italy, the data from 12 months treatment of 67 patients enrolled in an Ivacaftor/Lumacaftor compassionate use programme (FEV1<40% or on lung transplant waiting list or severely worsening trend of lung function). Data were collected from 11 Italian CF centers for 1 year following Ivacaftor/Lumacaftor commencement. Follow-up consisted of measuring the change in FEV1, BMI, sweat Cl⁻ concentration, 6 minute walking test distance, prevalence of exacerbation and safety.

67 patients (31 F) received Ivacaftor/Lumacaftor for a median of 536 days. Participants drop outs were 11 (16.4%). Mean FEV1 percent predicted increased after 2 months of treatment and then stabilized. 6-minute walking test (6MWT) and Body Mass Index (BMI) significantly improved. Sweat chloride significantly decreased from an average (SD) of 88.89 (15.9) mmol/L to an average of 68.9 (23.3) mmol/L (Repeated measures Anova: $F=21,359$; $p=0.0001$). The prevalence of exacerbations decreased during the 12 months after commencement of Ivacaftor/Lumacaftor. Safety data showed no relevant concern. In conclusion, Ivacaftor/Lumacaftor was safe and clinically effective in CF patients with severe lung disease homozygous for F508del.

Studio retrospettivo osservazionale in pazienti con fibrosi cistica omozigoti F508del, trattati, per uso compassionevole, con Ivacafor/Lumacafor (Orkambi)

La fibrosi cistica (FC) è una malattia genetica autosomica recessiva causata da una mutazione genetica che si traduce in una proteina CFTR (Transmembrane Conductance Regulator) anormale sulla superficie delle cellule. Le terapie basate sui modulatori di CFTR sono progettate per correggere direttamente il difetto molecolare. Ivacafor/Lumacafor (Orkambi) è un modulatore CFTR approvato per il trattamento dei pazienti FC omozigoti per Fe508del, la mutazione più comune.

Questo è uno studio retrospettivo osservazionale che mostra, per la prima volta in Italia, i dati di trattamento di 12 mesi su 67 pazienti, in condizioni cliniche gravi (FEV1 <40% o lista d'attesa di trapianto di polmone o tendenza ingravescente della funzionalità polmonare), arruolati presso 11 centri FC italiani in un programma di uso compassionevole di Iva-

cafor/Lumacafor. I dati clinici sono stati raccolti per 1 anno dopo l'inizio di Ivacafor/Lumacafor. Il follow-up consisteva nel misurare le modifiche di FEV1, BMI, concentrazione del sudore Cl, test a 6 minuti, prevalenza di esacerbazioni e tolleranza per effetto del trattamento.

67 pazienti (31 F) hanno ricevuto Ivacafor/Lumacafor per 536 giorni (valore mediano). 11 pazienti hanno abbandonato il trattamento (16,4%). Il FEV1% medio previsto è aumentato dopo 2 mesi di trattamento e poi stabilizzato. Il test del cammino di 6 minuti (6MWT) e l'indice di massa corporea (BMI) sono migliorati in modo significativo. Il cloruro del sudore è diminuito significativamente da una media (DS) di 88,89 (15,9) mmol/L a 68,9 (23,3) mmol/L (misure ripetute Anova: $F = 21,359$; $p = 0,0001$). La prevalenza di esacerbazioni è diminuita durante i 12 mesi dopo l'inizio di Ivacafor/Lumacafor. I dati sulla sicurezza non hanno mostrato preoccupazioni rilevanti. In conclusione, Ivacafor/Lumacafor è risultato sicuro e clinicamente efficace nei pazienti FC con malattia polmonare grave, omozigoti per F508del.

PLENARY SESSION 6

TOWARDS NEW POTENTIAL ANTI-INFLAMMATORY THERAPIES

34. Enabling pulmonary delivery of siRNA in cystic fibrosis lung inflammation: therapeutic potential of hybrid lipid/polymer nanoparticles (FFC#23/2017, Pilot proj. concluded; FFC#25/2018, Extension)

Ungaro F¹ Merkel OM²

¹Università degli Studi di Napoli Federico II, Dip. Farmacia,
²Dept. Pharmazie, Ludwig-Maximilians Universität, München



Francesca Ungaro, seconda da sinistra in basso, con collaboratrici di ricerca

Background and rationale. The down-regulation of genes directly involved in the pathogenesis of severe lung diseases through pulmonary delivery of short RNA fragments, also known as siRNA, has gained recently remarkable research interest, especially in cystic fibrosis (CF). Nevertheless, the unsuccessful history of inhaled siRNA points out the urgent need of an appropriate formulation strategy to move them from the laboratory to the bedside.

Hypothesis and objectives. The generation of breakthrough technologies and their translation into new pharmaceutical products is crucial for CF treatment. In this context, the general aim of the present project is the integrated development of inhalable hybrid nanoparticles (hNPs) for siRNA delivery made up of a combination of lipids and polymers. To allow a proof-of-concept of the soundness of this approach, the *in vitro/in vivo* therapeutic potential of hNPs delivering a siRNA against one of the most critical signals in evoking the

inflammatory response in CF, the nuclear factor-kB (NF-kB), is under investigation.

Essential methods. hNPs delivering a siRNA pool against NF-kB are prepared from biodegradable polymers and endogenous phospholipids. Toxicity, uptake and efficacy of siRNA-loaded hNPs are evaluated in different human airway cell culture models, providing a tool to optimise hNP properties for *in vivo* pulmonary delivery. *In vivo* studies are performed in rats challenged intratracheally with LPS from *E. Coli* to induce pulmonary inflammation.

Results. During Pilot project FFC#23/2017, lipid/polymer hNPs for sustained release at lungs of a siRNA pool against NF-kB have been successfully developed. The most adequate formulation conditions to produce non-PEGylated and PEGylated siRNA-loaded hNPs with optimal aerosolization and mucus-penetrating properties have been identified. Preliminary *in vitro* data suggest that siRNA-loaded hNPs are not cytotoxic and may penetrate lung extracellular barriers, allowing siRNA uptake inside human bronchial epithelial cells. Furthermore, a rat model of lung inflammation has been set up and validated to start with *in vivo* efficacy studies.

Conclusions. The correct operating conditions to produce nanoparticles for prolonged release of siRNA in CF have been identified. Optimized nanoparticles can move to *in vivo* pre-clinical studies, which are essential to translate the technology under development from labs to the clinics.

Extension project. The main objective of the FFC #25/2018 Project is to go in depth on the therapeutic potential of optimised siRNA-loaded hNPs. One or two optimized formulations will progress into advanced preclinical studies, aimed to assess the behaviour of hNPs upon contact with human CF sputum and human lung epithelial barrier models. Meanwhile, *in vivo* silencing efficacy will be assessed in rats challenged intratracheally with LPS from *E. Coli*. The development of a siRNA delivery system already engineered for *in vivo* inhalation and transfection might shorten the time to translation to patients, providing a therapeutic platform to address multiple targets that are still considered "undruggable" in CF.

Somministrazione polmonare di siRNA nel trattamento dell'infiammazione polmonare in fibrosi cistica: potenziale terapeutico di nanoparticelle ibride a base di lipidi e polimeri

Ragioni dello studio. La somministrazione per inalazione di frammenti corti di RNA (chiamati siRNA), in grado di inibire selettivamente l'espressione di singoli geni responsabili dello sviluppo della malattia, rappresenta oggi un approccio promettente nel trattamento di patologie polmonari severe, quali fibrosi cistica (FC). Lo scarso successo di studi clinici in tale ambito, tuttavia, mette in luce l'urgente bisogno di adeguate formulazioni per trasferire tale approccio nella pratica clinica.

Ipotesi e obiettivi. L'obiettivo generale del progetto è lo sviluppo di una nuova strategia formulativa in grado di promuovere l'assorbimento polmonare di siRNA in FC. Tale obiettivo è perseguito attraverso la produzione, caratterizzazione e valutazione del potenziale terapeutico in vitro/in vivo di nanoparticelle ibride a base di lipidi e polimeri per il rilascio controllato di un siRNA in grado di inibire il fattore di trascrizione NF- κ B, un mediatore cruciale del processo infiammatorio polmonare caratteristico della FC.

Metodi essenziali. Nanoparticelle ibride contenenti un pool di siRNA contro NF- κ B sono prodotte a partire da polimeri biodegradabili e fosfolipidi endogeni e caratterizzate attraverso un'ampia gamma di metodiche. Studi di tossicità, internalizzazione e silenziamento sono condotti in vitro su modelli di epitelio polmonare. Gli studi in vivo sono condotti in un modello di infiammazione polmonare che prevede la somministrazione intratracheale di lipopolisaccaridi di origine batterica nel ratto.

Risultati. Durante il progetto pilota FFC #23/2017, sono state prodotte nanoparticelle aerosolizzabili, stabili in muco FC simulato, che incapsulano efficacemente e rilasciano per tempi prolungati il siRNA. Studi in vitro confermano la capacità del nanosistema di penetrare attraverso il muco e trasportare il siRNA all'interno delle cellule polmonari. Un modello murino di infiammazione polmonare è stato messo a punto e validato per gli studi di efficacia in vivo.

Conclusioni. Nanoparticelle ottimizzate per il rilascio modificato di siRNA al polmone in pazienti FC sono state sviluppate con successo. Le conoscenze acquisite sono sufficienti per iniziare gli studi di efficacia preclinici, essenziali per la traslazione dello studio dal laboratorio alla clinica.

Estensione del progetto. Obiettivo primario del progetto FFC #25/2018 è approfondire le potenzialità in vitro ed in vivo delle nanoparticelle contenenti siRNA ottimizzate. Una o due formulazioni sono state selezionate per studi preclinici avanzati, volti ad approfondire il comportamento delle nanoparticelle su muco da pazienti FC e su modelli complessi di epitelio polmonare. Allo stesso tempo, l'efficacia di silenziamento in vivo sarà valutata nel modello di infiammazione polmonare che prevede la somministrazione intratracheale di lipopolisaccaridi di origine batterica nel ratto. In prospettiva, il coinvolgimento di competenze di sviluppo farmaceutico, preclinico e clinico potrà consentire una più facile traslazione della nanotecnologia oggetto di studio alla clinica.

35. Preclinical testing in cystic fibrosis of a repurposed molecule targeting HMGB1

Bianchi ME, Musco G, De Leo F

IRCCS Ospedale San Raffaele, Genetic and Cell Biology Division, Chromatin dynamics Unit (FFC#22/2018, New)

Background/Rationale. Although CF is a multisystem disorder, morbidity and mortality are primarily caused by lung pathology comprising neutrophilic inflammation and chronic bacterial airway infection. High mobility group box 1 protein (HMGB1) is a ubiquitous nuclear protein that also acts as a Damage Associated Molecular Pattern (DAMP) and promotes inflammation when released outside the cell. HMGB1



Marco Emilio Bianchi, responsabile del progetto

is significantly elevated in CF sputum, and is a CF biomarker. Patients with high HMGB1 in broncho-alveolar lavage experience a significantly faster decline of lung function. Previous research showed that neutralizing HMGB1 with monoclonal antibodies conferred significant protection against *P. aeruginosa* infection, neutrophil recruitment and lung injury.

Objectives. Since the use of monoclonal antibodies in CF patients is expensive and impractical, we have embarked on a drug discovery project to find new HMGB1 inhibitors. We have identified a promising candidate, already used in drug formulations, which we will call iHMGB1. The single specific aim of this project is to prove that aerosol delivery of iHMGB1 can ameliorate neutrophilic inflammation and lung damage in mice infected with *P. aeruginosa*.

Methods. iHMGB1 will be delivered intra-tracheally to wild type mice acutely or chronically infected with *P. aeruginosa*, and the outcome (inflammatory cells and cytokines in BAL, histology and bacterial load) will be compared to those of the anti-HMGB1 mAb delivered systemically.

Preliminary results. We have proven that iHMGB1 directly binds and inhibits HMGB1 by NMR techniques (waterLOGSY, STD and HSQC) and cell migration experiments. iHMGB1 inhibits the HMGB1 chemotactic activity in the nanomolar range. iHMGB1 is not absorbed across mucosae; delivered by aerosol, it is not toxic to the lung of wt mice.

Conclusions (anticipated). We anticipate that iHMGB1 will be efficacious in reducing lung pathology in wt and CF mice, opening up its possible use as a drug to reduce inflammation and lung damage in CF patients. Its known pharmacological properties should facilitate its approval by regulators.

Potenziale uso per la terapia della Fibrosi Cistica di una molecola che ha come bersaglio HMGB1

Ragioni dello studio. La fibrosi cistica (FC) è una malattia multisistemica, ma la morbilità e la mortalità sono principalmente causate dalla patologia polmonare che consegue all'infezione cronica delle vie aeree e all'infiammazione causata da neutrofili. HMGB1 è una proteina nucleare che quando è rilasciata all'esterno della cellula promuove l'infiammazione. HMGB1 è un biomarcatore di FC. I pazienti con molta HMGB1 nel lavaggio bronco-alveolare vanno incontro a un deterioramento significativamente più rapido della funzione polmonare. Ricerche precedenti hanno mostrato che la neutralizzazione di HMGB1 con anticorpi monoclonali conferisce protezione contro l'infezione da *P. aeruginosa*, l'infiammazione da neutrofili e il danno polmonare.

Obiettivi. L'uso di anticorpi monoclonali per i pazienti FC è costoso e poco pratico. Abbiamo quindi intrapreso la ricerca di nuovi farmaci che inibiscano HMGB1. Abbiamo identificato un candidato promettente, già utilizzato in formulazioni farmaceutiche, che chiameremo iHMGB1. L'obiettivo specifico di questo progetto è dimostrare che la somministrazione di iHMGB1 via aerosol può mitigare le manifestazioni della FC.

Metodi. iHMGB1 verrà somministrato per via intratracheale a topi infettati con *P. aeruginosa*. L'esito (cellule infiammatorie e citochine nel lavaggio bronco-alveolare, istologia e carica batterica) sarà confrontato con quello del monoclonale anti-HMGB1 somministrato per via sistemica.

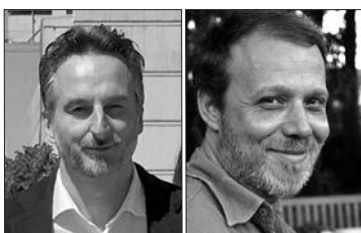
Risultati preliminari. Abbiamo dimostrato che iHMGB1 lega direttamente e inibisce HMGB1, usando tecniche NMR (waterLOGSY, STD e HSQC) ed esperimenti di migrazione cellulare. iHMGB1 inibisce l'attività chemiotattica HMGB1 a concentrazioni nanomolari. iHMGB1 non è assorbito attraverso le mucose; in aerosol non è tossico per i polmoni di topi wt.

Risultati attesi. Ci aspettiamo che iHMGB1 sia efficace nel ridurre la patologia polmonare nei topi selvaggi e FC, e possa essere sviluppato come farmaco per ridurre l'infiammazione e il danno polmonare nei pazienti FC. Le sue proprietà farmacologiche dovrebbero facilitarne l'approvazione da parte delle autorità regolatorie

36. Therapeutic potential of a long-acting lung-specific DNase (DNase2b) for the treatment of Cystic Fibrosis

Pasut G¹, Percudani R²

¹Pharmaceutical and Pharmacological Sciences, University of Padua, ²Dipartimento di Scienze Chimiche, della Vita e della Sostenibilità Ambientale Università di Parma (FFC#9/2018, New)



Gianfranco Pasut, a sinistra, responsabile del progetto, e il partner Riccardo Percudani

Background/Razionale. CF respiratory symptoms can be treated with recombinant human deoxyribonuclease I (rhDNase, Pulmozyme®) thanks to its mucolytic activity. However, rhDNase has important issues: its short residence time in the lungs and non-responders. Interestingly, other human DNases including a lung-specific DNase (DNase2b) have therapeutic potential for CF but so far have not been considered. Favourable properties of these DNases could be enhanced by conjugation with polyethylene glycol (PEG), for a prolonged residence time in the lungs in its active form.

Hypothesis and Objectives. To develop and study a long-acting form of the lung-specific DNase2b to manage the pulmonary symptoms of CF. DNase2b will promote mucus thinning by cleaving the DNA of dead neutrophils. To overcome the present limitations of rhDNase by PEG conjugation, which will prolong the action of DNase2b and prevent its inhibition and degradation.

Essential Methods. Recombinant expression of DNase2b will be obtained using heterologous and homologous systems. A detailed characterization of the function and structure of the protein will be carried out. mTGase enzymatic PEGylation will be performed on DNase2b to increase pharmacological properties. The activity retention and the thinning action on CF patients' mucus will allow the selection of the leading candidate for future development.

Preliminary results. Through *in silico* and *in vitro* analyses we gained insights on expression in human lung cells of

a specific isoform of DNase2b with different catalytic and structural properties with respect to known DNases. Enzymatic PEGylation, based on transglutaminase (mTGase), has been successfully tested with several therapeutic proteins like human growth hormone, interferon alpha and granulocyte colony stimulating factor, obtaining homogenous conjugates with great activity retentions.

Conclusions. We expect to gain insights into the functional role of lung-specific DNase2b and to develop a PEG-DNase2b conjugate with improved pharmacological properties for better treatment of CF pulmonary symptoms and to increase patient survival and compliance.

Studio del potenziale terapeutico di una DNasi polmonare ad azione prolungata per il trattamento della fibrosi cistica

Background / Razionale. I sintomi respiratori CF possono essere trattati con deossiribonucleasi umana ricombinante I (rhDNase, Pulmozyme®) grazie alla sua attività mucolitica. Tuttavia, rhDNase ha problemi importanti: soprattutto il suo breve tempo di permanenza nei polmoni. È interessante notare che altre DNasi umane compresa una DNasi specifica per il polmone (DNase2b) hanno un potenziale terapeutico per la FC ma finora non sono state prese in considerazione. Le proprietà favorevoli di queste DNasi alternative potrebbero essere migliorate mediante coniugazione con polietilenglicole (PEG), per aumentare il tempo di permanenza nei polmoni nella sua forma attiva.

Ipotesi e obiettivi. Sviluppare e studiare una forma a lungo effetto della DNase2b specifica per il polmone per gestire i sintomi polmonari della CF. DNase2b promuoverà la fluidificazione del muco tagliando il DNA dei neutrofili morti. L'idea è di superare le limitazioni della rhDNase attualmente in uso mediante coniugazione con PEG, che prolungherà l'azione di DNase2b e ne impedirà l'inibizione e la degradazione.

Metodi essenziali. L'espressione ricombinante di DNase2b sarà ottenuta utilizzando sistemi eterologhi e omologhi. Sarà effettuata una caratterizzazione dettagliata della funzione e della struttura della proteina. La PEGilazione enzimatica via mTGase verrà eseguita su DNase2b per aumentare le proprietà farmacologiche. La conservazione dell'attività e l'azione fluidificante sul muco dei pazienti CF consentiranno la selezione del candidato principale per lo sviluppo futuro.

Risultati preliminari. Attraverso analisi *in silico* e *in vitro* abbiamo acquisito conoscenze sull'espressione in cellule polmonari umane di una specifica isoforma di DNase2b con differenti proprietà catalitiche e strutturali rispetto alle DNasi note. La PEGilazione enzimatica, basata sulla transglutaminasi (mTGase), è stata testata con successo con diverse proteine terapeutiche come l'ormone della crescita umano, il granulocyte colony stimulating factor e l'interferone alfa, ottenendo coniugati omogenei con mantenimento dell'attività.

Conclusioni. Ci aspettiamo di ottenere informazioni sul ruolo funzionale della DNase2b specifica per il polmone e di sviluppare un coniugato PEG-DNase2b con proprietà farmacologiche migliorate per un migliore trattamento dei sintomi polmonari CF e per aumentare la sopravvivenza e la compliance del paziente.

37. Resolvin D1 for Targeting Chronic Lung Inflammation, Infection, and Damage in Cystic Fibrosis

Recchiuti A^{1,3}, Mari VC^{1,3}, Isopi E^{1,3}, Mattosco D^{1,3}, Lamolinara A^{2,3}, D'Aurora M^{4,3}, Gatta V^{4,3}, Iezzi M^{2,3}, Bragonzi A⁵, Moretti P⁶, Dubordeau M⁷, Codagnone M^{1,3}, Cianci E^{1,3}, Romano M^{1,3}

¹Department of Medical, Oral, and Biotechnology Science, ²Department of Medicine and Aging Science, ³Center on Aging Sciences and Translational Medicine (CeSI-MeT) "G. d'Annunzio" University of Chieti-Pescara, Chieti, Italy, ⁴Department of Psychological, Humanistic and Territorial Sciences, ⁵Infection and Cystic Fibrosis Unit, Division of Immunology, transplantation, and Infectious Diseases, IRCCS San Raffaele Scientific Institute, Milan, Italy; ⁶Centro Regionale Fibrosi Cistica, Ospedale San Salvatore, Atri (TE), ⁶ Ambiotis SAS, Toulouse (FR) (FFC#19/2016, Concluded).



Antonio Recchiuti, al centro, con i collaboratori del progetto

Background and rationale. Non resolving lung inflammation and infections are a main cause of morbidity and mortality in cystic fibrosis (CF). Resolvin (Rv) D1 is an endogenous lipid autacoid that promotes resolution in experimental and human inflammatory diseases. Results from a previous FFC-funded research (FFC#21/2014) demonstrate that RvD1: a) reduces inflammation and *P. aeruginosa* (PA) burden in vivo; b) stimulates microbial clearance by murine and human macrophages; c) protects lungs following persistent *P. aeruginosa* infection. Therefore, determining roles and functions of RvD1 in chronic lung inflammation, infection, and damage is of wide interest for CF.

Hypothesis and Objectives. To test the hypothesis that RvD1 is effective in promoting resolution of inflammation, microbial clearance, and airway tissue regeneration in CF, two specific aims were addressed: 1. investigating if RvD1 limits airway chronic inflammation, *P. aeruginosa* (PA) infection, and damage stimulating tissue repair in preclinical models of CF; 2. establishing if RvD1 regulates select genes that limit inflammation and promote tissue repair by human CF cells.

Essential methods. RvD1 actions were tested in *Cftr*^{-/-} mice chronically infected with a clinical strain of PA by assessing bacterial burden, inflammation, and tissue damage. Direct actions of RvD1 on primary CF airway epithelial cells (CFAEC) and macrophages (MΦ) were established to pinpoint molecular mechanisms activated by RvD1 to reduce inflammation and enhance resolution.

Preliminary results (personal). RvD1 significantly dampened bacterial burden and LPS amounts in lungs. RvD1 also markedly dampened total leukocytes and PMN infiltration and ameliorated histological scores of lung pathology. In addition, RvD1 increased the percentage of phagocytosis of PA by CF mouse and human CF macrophages along with a significant reduction in interleukin-8, -6, and -17. In CFAEC and MΦ from CF volunteers RvD1 regulated genes involved in inflammation and anti-microbial responses.

Spin-off for research and clinical purposes. These results indicate that RvD1 enhances resolution of PA infection and inflammation in CF, thus fostering further studies in preclinical models and clinical trials, as well as spin-off for research applications in a relatively short time (~3-5 years) for exploring RvD1 as a novel therapeutic for CF.

Ruoli e meccanismi della Resolvina D1 per il trattamento dell' infiammazione, dell'infezione cronica e del danno polmonare in fibrosi cistica

Ragioni del progetto. L'infiammazione cronica e le continue infezioni batteriche sono la principale cause di danno ai polmoni che riducono la qualità e l'aspettativa di vita dei pazienti con fibrosi cistica (FC). Nuovi farmaci sono necessari per curare questi aspetti della malattia poiché quelli già disponibili non sono pienamente efficaci. La resolvina (Rv) D1 è una molecola prodotta dal corpo umano che, normalmente, stimola il sistema immunitario a combattere le infezioni e favorisce la risoluzione dell'infiammazione. In un nostro studio finanziato dalla Fondazione Ricerca Fibrosi Cistica (FFC#21/2014) abbiamo dimostrato che, in esperimenti su topi e cellule umane, RvD1 è in grado di favorire l'eliminazione di *Pseudomonas aeruginosa* (PA), ridurre l'infiammazione e proteggere i polmoni dal danno derivante dall'infezione cronica. Continuare a studiare le azioni di RvD1 in un sistema preclinico è, quindi, di estrema importanza.

Ipotesi ed Obiettivi. In questo progetto abbiamo indagato: 1. se RvD1 è in grado di ridurre l'infiammazione polmonare, l'infezione da PA ed il danno alle vie aeree in topi FC infettati; 2. quali sono le azioni di RvD1 su cellule epiteliali e su macrofagi isolati da volontari con CF

Metodi essenziali. Topi privi di CFTR infettati con PA sono stati trattati con RvD1 per misurare il numero di batteri vivi nei polmoni, il numero di globuli bianchi ed il grado di lesione ai polmoni. Cellule epiteliali e macrofagi di volontari con FC sono stati trattati con RvD1 per stabilirne le azioni sulla risposta infiammatoria ed anti-batterica

Risultati preliminari. I risultati di questo progetto indicano che RvD1 - somministrata in vivo in animali con FC sottoposti ad infezione cronica da PA - riduce il numero di batteri, il grado di infiammazione ed il danno polmonare. In cellule derivanti da volontari con FC RvD1 stimola i macrofagi ad eliminare i batteri e riduce le quantità di proteine (citochine e chemochine) implicate nell'infiammazione e nella risposta anti-batterica

Possibili ricadute. Questo studio indica che RvD1 stimola la risoluzione dell'infezione da PA e l'infiammazione in un contesto FC. I risultati ottenuti forniscono le conoscenze necessarie per ulteriori progetti e studi clinici nei quali testare RvD1 quale nuovo farmaco per la FC.

38. Thymosin alpha 1 in cystic fibrosis: from the lung to the gut

Borghi M, Pariano M, Stincardini C, Sforza L, Renga G, Sellitto F, Pessia M, Romani L, Bellet MM

Dipartimento di Medicina Sperimentale, Università degli Studi di Perugia, Perugia (FFC#21/2018, New)



Marina Maria Bellet, al centro, responsabile del progetto, con collaboratori

Background and rationale. The gastrointestinal system is among the earliest organs affected in cystic fibrosis (CF).

Moreover, increased survival outcomes is resulting in a more frequent appearance of gut, pancreas and liver clinical manifestations in adults. Thymosin alpha 1 ($T\alpha 1$) is a naturally occurring polypeptide already used as an immunomodulator in different clinical conditions. We have recently demonstrated that $T\alpha 1$ potentiated immune tolerance in the lungs of CF mice, and it reduced pro-inflammatory pathways by inducing indoleamine 2,3-dioxygenase 1 (IDO1) and promoting autophagy. Moreover, $T\alpha 1$ might have corrector and potentiator activities.

Hypothesis and objectives. Our hypothesis is that the beneficial effects of $T\alpha 1$ observed in the lung might be extended to the gastrointestinal tract. Given the importance of targeting specific anti-inflammatory pathways to both prevent and improve organ damage in CF patients, our objectives are to evaluate whether $T\alpha 1$ treatment, by acting on autophagy via the IDO1-pathway, is able to: reduce inflammation in the gut and restore normal intestinal microbial profile; regulate CFTR activity; restore pancreatic functionality.

Essential methods. The studies will be performed *in vivo* in $Cfr^{F508del}$ mice, and *in vitro* in intestinal and pancreatic mutated cells, by using biochemical and molecular biology techniques to evaluate the effect of $T\alpha 1$ in promoting autophagy and inflammation through IDO1, and functional assays for the assessment of CFTR activity.

Preliminary results. We have already showed that $T\alpha 1$ regulates inflammation in the gut, by activating IDO1, and partially restores CFTR expression and function in the small intestine in $Cfr^{F508del}$ mice. A reduction of inflammation and improved regeneration was also observed in the pancreas of $Cfr^{F508del}$ mice after treatment. Moreover, we are obtaining results showing that $T\alpha 1$ ameliorates glucose tolerance and reduces intestinal inflammation in a model of "leaky gut".

Conclusions. The main purpose of our study is to explore the potential use of $T\alpha 1$ in the treatment of CF, by extending our previous investigations to the evaluation of gastrointestinal tract. We expect to obtain results demonstrating that $T\alpha 1$ ameliorates tissue homeostasis in gut, liver and pancreas, reduces inflammation and microbial dysbiosis, and improves CFTR function. By providing a more complete picture of the effects of $T\alpha 1$ in CF, we aim to provide the basis for the potential use of $T\alpha 1$ in clinical practice.

La Timosina alfa 1 nella fibrosi cistica: dagli studi sul polmone al suo ruolo nell'intestino

Ragioni dello studio. Nella fibrosi cistica (FC) il tratto gastrointestinale rappresenta uno dei primi organi colpiti. Inoltre, l'allungamento della sopravvivenza degli individui con FC, guadagnato grazie alle nuove terapie, ha portato nell'adulto ad una aumentata incidenza di patologie intestinali, epatiche e pancreatiche. Timosina alfa 1 ($T\alpha 1$) è un peptide naturale commercializzato con il nome di ZADAXIN® con molteplici azioni, tra cui quella di modulazione del sistema immunitario e anti-infiammatoria.

Ipotesi e obiettivi. Nei nostri studi precedenti abbiamo dimostrato che il trattamento con $T\alpha 1$ migliora la patologia polmonare nella FC, potenziando l'attività di CFTR e riducendo l'infiammazione mediante una azione diretta sulla proteina IDO1, modulatore di questo processo. L'ipotesi è che gli effetti benefici di $T\alpha 1$ siano estensibili anche alla funzionalità intestinale, epatica e pancreatica. In questo studio pilota ci proponiamo quindi di valutare se il trattamento con $T\alpha 1$ è in grado di ridurre l'infiammazione in questi organi, combattere la disbiosi intestinale ad essa associata e modulare l'attività di CFTR.

Metodi essenziali. Lo studio verrà condotto *in vivo* in topi portatori della mutazione p.Phe508del-CFTR, e *in vitro* in cellule intestinali e pancreatiche con la stessa mutazione, dove verrà valutata l'efficacia del trattamento con $T\alpha 1$ e stu-

diato il meccanismo di azione in questi organi, con particolare interesse verso la proteina IDO1, regolatore centrale del sistema immunitario.

Risultati preliminari. Abbiamo già recentemente dimostrato che $T\alpha 1$ ha un'azione anti-infiammatoria nell'intestino di topi con la mutazione p.Phe508del-CFTR, dove sembra anche migliorare espressione e funzione di CFTR. Lo stesso effetto è stato successivamente osservato nel pancreas. Gli studi in corso inoltre stanno confermando gli effetti anti-infiammatori di $T\alpha 1$ in questi organi in modelli caratterizzati da alterata permeabilità intestinale.

Conclusioni. Da questo studio pilota ci aspettiamo di ottenere dati che dimostrino che $T\alpha 1$ potrebbe migliorare la funzionalità del sistema gastrointestinale in soggetti con CF, e di stabilire quale sia il meccanismo d'azione alla base degli effetti eventualmente osservati. I risultati di questo studio serviranno a definire meglio le potenzialità terapeutiche di $T\alpha 1$ nel trattamento della CF.

39. Evaluation of anti-inflammatory treatments for CF lung disease in murine models of lung infection *in vivo*

Dehecchi MC¹, Guaragna A²

¹Laboratory of Molecular Pathology, University Hospital of Verona, ²Department of Chemical Sciences, University of Napoli Federico II- Napoli (FFC#23/2018, New)



Maria Cristina Dehecchi, responsabile, foto a sx, e Annalisa Guaragna, prima a destra, partner del progetto

Background and rationale. Despite exciting developments, CFTR restoration for all CF people is challenging and may not be sufficiently efficacious in patients with irreversible lung damage. As inflammation contributes to lung damage, research is aimed at finding new anti-inflammatory drugs, to replace corticosteroids or ibuprofen, which possesses many well-known and important side effects in addition to the great predicted benefits.

Hypothesis and objectives. Thanks to previous FFC grants we described two promising molecules: β -sitosterol (BSS) (data already published) that have been widely tested for efficacy and safety in clinical pharmacology, thus stimulating us to a repurposing strategy toward CF lung inflammation. This pilot project will analyse BSS and *L*-miglustat in murine models of lung infection.

Essential methods. BSS is commercially available whereas *L*-miglustat will be synthesized and purified by A. Guaragna (Department of Chemical Sciences, University of Napoli Federico II- Napoli, Italy). BSS and *L*-miglustat will be evaluated in relevant models of airway infection for their effect in reducing the inflammatory response to *P.aeruginosa*. Wild type mice will be treated with BSS or *L*-miglustat by gavage both before acute challenge and after established chronic infection with *P.aeruginosa* and their effect on inflammatory response will

be tested in terms of: i) safety; ii) evaluation of lung inflammation; iii) ability of mice to clear bacteria. Bio-distribution in lung tissue will be also checked. The most effective molecule will be validated in CF mice.

Preliminary results. BSS has anti-inflammatory activity in CF bronchial cells and L enantiomer of miglustat produces an anti-inflammatory effect in mice acutely infected by *P.aeruginosa* without increasing the bacterial load or inducing toxicity. Importantly L-miglustat does not inhibit α -glucosidase (D'Alonzo D, De Fenza M, Porto C et al, *J Med Chem.* 2017;60:9462-9469) thus excluding the undesired side effects on intestinal absorption and diarrhea observed with D enantiomer of miglustat.

Expected results and spin-off. Our pre-clinical investigation in relevant models of airway infection could repurpose these molecules to halt the progression of CF lung disease and provide the proof of concept for planning clinical trials. Because of the detrimental role inflammation plays in CF, supporting the development of new anti-inflammatories is a paramount therapeutic goal to cure all people with CF regardless of their type of mutation.

Studio di trattamenti anti-infiammatori per la patologia polmonare della fibrosi cistica in modelli murini di infezione delle vie aeree

Ragioni del progetto. Malgrado i recenti successi, il trattamento del difetto di base in tutti i pazienti con fibrosi cistica (FC) è critico e può non essere sufficientemente efficace nei pazienti con danno polmonare irreversibile. Poiché il processo infiammatorio contribuisce alla distruzione del tessuto polmonare, è pressante la ricerca di nuovi farmaci anti-infiammatori alternativi a corticosteroidi o ibuprofene, che hanno molti effetti collaterali ampiamente noti.

Ipotesi e obiettivi principali. Grazie ai precedenti finanziamenti da FFC, il nostro gruppo ha già descritto due molecole promettenti per controllare l'eccessiva infiammazione polmonare FC: il β -sitosterolo (BSS) e il miglustat. Considerando che entrambe le molecole sono state ampiamente studiate in farmacologia clinica e che se ne conosce l'efficacia e la sicurezza, una strategia di riposizionamento verso l'infiammazione polmonare FC potrebbe portare alla luce un trattamento efficace per questi pazienti. A questo scopo il nostro progetto pilota intende valutare l'effetto del BSS e dell'enantiomero L- miglustat in modelli murini di infezione polmonare.

Materiali, pazienti, metodi. Il BSS è disponibile in commercio mentre l'enantiomero L del miglustat verrà sintetizzato e purificato presso il laboratorio di A. Guaragna (Dipartimento di Scienze Chimiche, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli). BSS e L-miglustat verranno studiati in modelli murini di infezione polmonare. Topi normali verranno trattati con le molecole in oggetto e poi infettati sia in modo acuto che cronico con *P.aeruginosa*. L'effetto di queste molecole sarà analizzato in termini di: 1) sicurezza; 2) infiammazione polmonare; 3) carica batterica. La molecola più promettente sarà poi testata in topi FC.

Risultati preliminari. BSS ha un effetto anti-infiammatorio in cellule bronchiali FC e l'enantiomero L del miglustat ha un effetto anti-infiammatorio in topi infettati acutamente da *P.aeruginosa*, senza aumentare la carica batterica ed è privo degli effetti gastrointestinali indesiderati, osservati con il D-miglustat, in quanto non inibisce l' α -glucosidasi.

Risultati attesi e possibili ricadute. Attraverso la strategia del riposizionamento di due promettenti molecole con evidente potenziale traslazionale, ci attendiamo di fornire una prova di principio per studi clinici futuri. La valutazione pre-clinica in modelli murini che richiamano la situazione polmonare dei pazienti con FC potrebbe essere il punto di partenza per proporre trattamenti anti-infiam-

matori efficaci e sicuri, finalizzati a contrastare il declino della patologia polmonare nei pazienti FC, indipendentemente dal loro genotipo.

40. Pharmacology and therapeutics of inhaled indoles, as aryl hydrocarbon receptor ligands, in cystic fibrosis

Stincardini C¹, Puccetti P², Borghi M¹, Sforza L¹, Renga G¹, Costantini C¹, Pessia M¹, Ricci M², Giovagnoli S², Romani L¹

¹Department of Experimental Medicine, ²Department of Pharmaceutical Science, University of Perugia, Perugia, Italy (FFC#24/2018, New)



Luigina Romani, responsabile, in alto a sinistra, e i ricercatori che collaborano al progetto

Background and rationale. Chronic lung inflammation and infections contribute to disease progression in CF patients. In this project we propose the study of a novel class of compounds the indoles, to overcome the wide spread antibiotic resistance and the toxicity of anti-inflammatory drugs. Why indoles? Indoles are produced by our own bacteria and act as potential anti-virulence compounds against antibiotic-resistant pathogens and modulate inflammation, thus acting on both the host and its microbes. The indole-3-aldehyde (3-IAld), produced by our *Lactobacilli*, has recently been shown to preserve immune physiology at mucosal surfaces while inducing antimicrobial resistance. Much like probiotics, the so called "postbiotic", i.e. microbial-derived metabolites, 3-IAld, protected mice from respiratory allergy and exerted potent antimicrobial activity against Gram+ and Gram- bacteria.

Hypothesis and objectives. Based on these encouraging preliminary observations, the aim of the present project is the therapeutic exploitation of 3-IAld for tissue immune homeostasis, microbial symbiosis and pathogen resistance in CF. To this purpose, we plan to: i) develop a dry powder formulation of 3-IAld for drug delivery through inhalation; ii) perform murine preclinical studies, *in vitro* and *in vivo*, to define the safety and the immunological and antimicrobial profile of aerosolized 3-IAld in CF.

Essential methods. The project will include murine and human studies consisting of i) development of 3-IAld inhalable dry powder for pulmonary drug delivery and assessment of pharmacokinetics in CF mice; ii) *in vitro* and *in vivo* studies with murine and HBE cells as well as mice with the $\Delta 508$ mutation.

Preliminary results. Our preliminary results suggest that AhR may exert a fine control over CFTR expression, thus providing the rationale for the exploitation of the AhR agonistic activity of 3-IAld in CF. Oral administration of 3-IAld did indeed ameliorate lung and gut pathology in CF mice.

Conclusions. Should the activity of 3-IAld in CF encompass regulation of inflammation and CFTR functioning, this study represents a patentable, proof-of-concept demonstration, that postbiotics, better than probiotics, may have therapeutic utility in CF.

Uso e sviluppo di derivati indolici per via inalatoria quali attivatori del recettore AhR nella fibrosi cistica

Ragioni dello studio. Combattere le infezioni e diminuire l'infiammazione cronica a livello polmonare sono interventi necessari nel paziente con fibrosi cistica. Per questo l'aumento della resistenza agli antibiotici nonché la tossicità legata alla somministrazione cronica dei farmaci anti-infiammatori possono rappresentare un serio problema. Questo progetto vuole portare un contributo nuovo in questa direzione. Infatti, proponiamo uno studio sulle proprietà anti-infiammatorie ed antimicrobiche di un derivato indolico chiamato indolo-3-aldeide (3-IAld). Gli indoli sono sostanze endogene di derivazione microbica di cui sono note le proprietà antimicrobiche, non associate a resistenza, nonché regolatrici della funzionalità mucosale. Da qui il crescente interesse allo studio di tali sostanze, chiamate più generalmente "postbiotici", finalizzato ad un loro possibile utilizzo in ambito terapeutico, quali possibili sostituti di probiotici.

Ipotesi e obiettivi. Avendo 3-IAld già dimostrato effetti benefici in modelli sperimentali di allergia polmonare nonché potenti attività antimicrobiche nei riguardi di diverse specie batteriche, proponiamo in questo progetto di i) sviluppare una formulazione farmaceutica di 3-IAld da somministrare per via inalatoria; ii) condurre una serie di studi preclinici *in vitro* ed *in vivo* volti a saggiarne le proprietà terapeutiche in modelli sperimentali di CF nonché cellule epiteliali derivanti da pazienti con CF.

Metodi essenziali. Utilizzeremo approcci sperimentali sia *in vitro* che *in vivo* in topi CF.

Risultati preliminari. I nostri studi preliminari suggeriscono che il recettore AhR regola l'espressione di CFTR e ciò fornisce le basi razionali per l'uso di 3-IAld in CF. Tanto più che i nostri studi dimostrano altresì che la somministrazione orale di 3-IAld migliora i segni di danno tessutale (polmonare ed intestinale) in topi con CF e ne correggono la disbiosi.

Conclusioni. Dovesse l'efficacia di 3-IAld essere confermata in modelli preclinici, *in vivo* ed *in vitro*, di CF, le possibili ricadute potrebbero essere molteplici e di natura sia traslazionale (possibile ed ovvio sviluppo terapeutico di derivati indolici, possibile determinazione dei livelli di 3-IAld in matrici biologiche quali fattori predittivi di malattia) che culturale (sviluppo di postbiotici quali farmaci "innovativi" grazie alla loro intrinseca capacità di regolare sia l'ospite [infiammazione] che i suoi microbi [virulenza]).

ANTI-INFLAMMATORY AGENTS WITH CFTR RECOVERY ACTION

41. New generation trimethylangelicin (TMA) analogues for selective modulation of defective CFTR or inflammation

Chilin A¹, Gambari R², Lampronti I², Cabrini G³, Dececchi MC⁴

¹Dipartimento di Scienze del Farmaco, Università di Padova, ²Dipartimento di Scienze della vita e biotecnologie, Università di Ferrara, ³Dipartimento di Neuroscienze, Biomedicina e Movimento, Università di Verona, ⁴Laboratory of Molecular Pathology, Department of Pathology and Diagnostics, University Hospital of Verona (FFC#1/2016, concluded)



Adriana Chilin, responsabile del progetto

Background and rationale. TMA (4,6,4'-trimethylangelicin) is a potentiator and corrector of mutated CFTR protein, with anti-inflammatory activity useful for treating CF lung disease. Concerns raised on the potential phototoxicity and mutagenicity of the parent TMA molecule led to design and study new derivatives with one or more of the three biological effects of TMA but excluding the potential safety risks. **Hypothesis and Objectives.** The major objective of the project was to synthesize and test new generation TMA analogues as F508del CFTR correctors and/or F508del CFTR potentiators and/or

inflammatory down- modulators, lacking phototoxicity and mutagenicity. The collected data could have allowed to derive structure-activity relationships aimed at a comprehension of the structural features on the TMA scaffold, required to obtain selective anti-inflammatory or CFTR modulatory properties or both activities. These new findings could improve CF therapy, providing the option of associating an anti-inflammatory effect besides the key activity of rescuing and potentiating CFTR.

Essential methods. The project was realized through the following steps: design and synthesis of new TMA analogues; evaluation of the phototoxicity and mutagenicity; test of the anti-inflammatory activity, test of the effects on CFTR function; derivation of structure-activity relationships.

Results. A small library of about 50 new TMA analogues were synthesized with structural modification in the 4 and 6 positions of the furocoumarin nucleus. Among them, some compounds were identified exhibiting CFTR modulation and/or NF- κ B inhibition, without the side effects of parent TMA. They maintained the potentiation activity of CFTR and significantly rescued CFTR-dependent chloride efflux in several cell models. These analogues mediated CFTR correction by modifying MSD1 and indirectly stabilizing the interface between NBD1 and CL4.

Conclusions. New generation TMA analogues were obtained to overcome the side effects of the parent TMA, maintaining CFTR modulation and/or anti-inflammatory properties. The main structural determinants that drive the biological activities of the parent TMA were determined, thus allowing to find novel candidates with useful features and negligible side effects for pre-clinical studies.

Analoghi di trimetilangelicina (TMA) di nuova generazione come modulatori selettivi di CFTR o di infiammazione

Ragioni dello studio. TMA (4,6,4'-trimetilangelicina) è un potenziatore e correttore della proteina CFTR mutata, con attività antiinfiammatoria utile per fibrosi cistica, attivo a bassissime concentrazioni. Preoccupazioni riguardo la potenzia-

le fototossicità e mutagenicità di TMA hanno dato il via alla ricerca di nuovi analoghi di TMA che presentino una o più delle tre attività e siano privi dei potenziali effetti collaterali.

Ipotesi e obiettivi. L'obiettivo principale di questo progetto è stata la sintesi e lo studio di una nuova generazione di analoghi di TMA come correttori di CFTR, potenziatori CFTR e/o modulatori di infiammazione, ma privi di fototossicità e mutagenicità. Lo scopo era anche di ottenere migliori informazioni sulle caratteristiche strutturali di TMA cruciali per l'azione antiinfiammatoria e/o modulatoria di CFTR. I dati ottenuti potrebbero consentire di migliorare le terapie per la fibrosi cistica, fornendo la possibilità di associare proprietà antiinfiammatorie alle attività chiave di correzione e/o potenziamento di CFTR.

Metodi essenziali. Il progetto è stato realizzato attraverso i seguenti passaggi: 1) progettazione e sintesi di nuovi analoghi di TMA; 2) analisi di fototossicità e mutagenicità; 3) test dell'azione antiinfiammatoria; 4) test degli effetti sulla modulazione di CFTR; 5) definizione di relazioni struttura-attività.

Risultati. È stata preparata una serie di nuovi analoghi di TMA con modifiche strutturali nelle posizioni 4 e 6 del nucleo furocumarinico. Tra questi, sono stati identificati alcuni composti con proprietà di modulazione di CFTR e/o inibizione di NF-κB, ma privi di mutagenicità e fototossicità. Essi presentano attività di potenziamento e correzione di CFTR in diversi modelli cellulari. Il meccanismo dell'azione molecolare coinvolge il legame con il dominio MSD1 stabilizzando indirettamente l'interfaccia tra NBD1 e ICL4.

Conclusioni. È stata ottenuta una nuova generazione di analoghi di TMA per ovviare ai potenziali effetti indesiderati della molecola capostipite, mantenendo caratteristiche di modulazione dell'infiammazione e della funzione di CFTR. Sono stati identificati i principali determinanti strutturali che indirizzano le attività biologiche della TMA, permettendo di trovare nuove molecole con proprietà terapeutiche utili ed effetti collaterali trascurabili, da utilizzare in futuri studi preclinici.

42. Anakinra in cystic fibrosis: from targeting pathogenic inflammation to correcting CFTR defect

Pariano M¹, Puccetti M¹, Oikonomou V¹, Borghi M¹, Villella VR², Stincardini C¹, Sforza L¹, Renga G¹, Romani L¹

¹Dipartimento di Medicina Sperimentale, Università degli Studi di Perugia, ²European Institute for Research in Cystic Fibrosis, Division of Genetics and Cell Biology, San Raffaele Scientific Institute, Milan (FFC#9/2016, Concluded)



Luigina Romani, terza da sinistra, responsabile, con i collaboratori del progetto

Background and rationale. The F508del mutation in the first nucleotide-binding domain, which is the most common mutation among individuals with CF, results in the production of a misfolded protein with residual activity that is degraded by the ubiquitin-proteasome system during biogenesis. Thus, regulator of cellular proteostasis may alter trafficking of F508del-CFTR and favour its plasma membrane targeting and stability.

Hypothesis and objectives. In our last CF project, we have defined mechanisms by which dysregulated inflammasome activity may contribute to the vicious circle perpetuating pathogenic inflammation. Anakinra, a recombinant, non-glycosylated version of human IL-1RA, limited the pathological consequences of microbial colonization in CF through the autophagic/proteasomal degradation system. As this pathway is defective in CF and is associated with failure to target misfolded CFTR for degradation, we have proposed the evaluation of anakinra as a regulator of CFTR protein via proteostasis.

Essential methods. The project included murine and human studies: *in vitro*, to assess the effect of anakinra on expression, cellular localization and functional activity of F508del-CFTR and the molecular mechanisms behind anakinra's rescuing activity in F508del-CFTR-transfected CFBE41o-cells and HBE cells from patients homozygous for the F508del-CFTR mutation and controls; *in vivo*, in Cfr^{F508del} mice to define the pharmacology of anakinra.

Results. The results of our project aimed at elucidating whether anakinra would be capable of promoting CFTR rescuing activity have indicated that anakinra is able to exert CFTR rescuing activity in F508del-CFTR-transfected CFBE41o-cells and HBE cells from CF patients, through both the conventional and unconventional secretion pathways.

Conclusions. Studies are underway to define the possible molecular mechanisms underlying the ability of anakinra to promote both pathways. Ultimately, the ongoing studies on the comparative activity of anakinra alone or combined with correctors and/or potentiators on chloride channel activity are definitely required to validate the repurposing of anakinra as therapeutic agent in the real-life CF.

Anakinra, un farmaco promettente nella fibrosi cistica: da anti-infiammatorio a correttore

Ragioni dello studio. Nel corso dei nostri precedenti studi, volti a capire e colpire i meccanismi infiammatori nocivi, causa di un pericoloso circolo vizioso tra infezione ed infiammazione aerea nella fibrosi cistica (FC), abbiamo notato che anakinra (un potente farmaco anti-infiammatorio, già usato nel trattamento di varie patologie umane e con ottima tollerabilità e scarsa tossicità), era in grado di interferire con i processi di controllo di qualità intracellulari, quali l'autofagia e la degradazione proteasomica ubiquitina-dipendente.

Ipotesi e obiettivi. Essendo questi meccanismi coinvolti nel traffico intracellulare della proteina CFTR, in questo studio abbiamo valutato la capacità di anakinra di modificare il traffico intracellulare e ripristinare la funzionalità della proteina mutata F508del-CFTR.

Metodi essenziali. Lo studio è stato condotto *in vitro* su linee cellulari portatrici del gene F508del-CFTR ed HBE da pazienti con la mutazione F508del-CFTR al fine di valutare la capacità di anakinra di modificare traffico, espressione ed attività funzionale di F508del-CFTR nonché *in vivo* in topi con la stessa mutazione.

Risultati. I dati suggeriscono che anakinra aumenta l'espressione, la funzionalità nonché la localizzazione a livello della membrana plasmatica di F508del-CFTR in linee cellulari e HBE da pazienti con la mutazione F508del-CFTR ed *in vivo* in topi con la mutazione F508del-CFTR. Anakinra sembra agire attraverso due distinti meccanismi di regolazione della proteina CFTR, l'uno che prevede la via di secrezione classica attraverso il Golgi, l'altra attraverso la proteina chiamata GRASP55 che assicura un rapido trasporto in membrana di proteine che, seppur non funzionanti, vengono così sottratte alla degradazione.

Risultati attesi e loro significato. Questi risultati, se confermati da studi in corso volti a determinare la efficacia di anakinra da sola o in associazione con potenziatori, suggeriscono che il riposizionamento di anakinra potrebbe essere strategicamente sfruttato in FC.

PLENARY SESSION 7

LUNG TRANSPLANTATION

43. Extracorporeal photopheresis as induction therapy to prevent acute rejection after lung transplantation in cystic fibrosis patients

Nosotti M¹, Righi I¹, Trabattoni D², Clerici M², Ibba S², Vittore C², Morlacchi L³, Rossetti V³, Torretta L⁴, Mocellin C⁴, Prati L⁴, Lazzari L⁵, Buono G⁵, Blasi F³

¹Thoracic Surgery and Lung Transplant Unit Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milan, Italy (Dipartimento di Fisipatologia Medico Chirurgica e dei Trapianti, Università degli studi di Milano), ²Laboratorio di Immunologia, Dipartimento di scienze biomediche cliniche L. Sacco, ³Pneumology and respiratory medicine Unit, Fondazione IRCCS Cà Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano (Dipartimento di Fisipatologia Medico Chirurgica e dei Trapianti, Università degli studi di Milano), ⁴Trasfusional and Apheresis Unit, Fondazione IRCCS Cà Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano, ⁵Cell Factory Unit of Regenerative Medicine, Fondazione IRCCS Cà Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano



Mario Nosotti, responsabile del progetto

Background and rationale. Acute rejection (AR) is common in the first year after lung transplantation (LTx). AR has usually been reversible with treatment, but it can trigger chronic rejection (CR) that is the leading causes of late morbidity and mortality. Extracorporeal photopheresis (ECP) has emerged as a promising treatment for chronic rejection. Patients affected by cystic fibrosis (CF) are more likely exposed to infections after LTx, and this can lead to episodes of rejection, both acute and chronic.

Hypothesis and objectives. This study aims to verify, in recipients affected with cystic fibrosis, whether the induction therapy with ECP can decrease the rate of AR, in order to impact positively on chronic rejection, that is the main cause of mortality in LTx (primary end points: survival, AR). Moreover, the safety and efficacy of ECP will be evaluated and also the infections rate. The expected results are the reduction of acute rejection episodes in its clinical, histopathologic and humoral manifestations.

Essential methods. This is a pilot study, single center, randomized controlled, single blind, 2 parallel arms: 12 patients treated (ECP and standard therapy) and 12 enrolled in the control group (standard therapy).

An analysis of immune cell functions (in presence/absence of polyclonal or allo-specific stimulus), inflammatory status and vesicles was performed on blood and bronchoalveolar lavage at different time points in the first year after LTx. AR episodes and infections will be recorded clinically, histologically and microbiologically.

Results. Results from immune-biological evaluations are in progress. We have reduced the number of blood samples for each patient in the "control group", thanks to the observation of a substantial stability of the results during the same week. Since 15th of September we have enrolled 4 patients, alive and with no signs of rejection. There was one drop off due to psychological difficulties. One patient of the "control group" underwent sepsis due to pneumonia on 10th postop day.

Conclusions. This study is into enrolling phase. We expect to observe biological and immunological advantages in the treated group, with also the validation of safety and clinical tolerance of this treatment. This results will lead to a new approach to induction therapies in lung transplantation.

A positive result of this pilot study will promote further confirmation trial on national basis with the aim to improve the survival and the quality of life of patients with cystic fibrosis who receive LTx.

Fotoferesi extracorporea come terapia d'induzione per prevenire il rigetto acuto in pazienti affetti da fibrosi cistica e trapiantati di polmone

Ragioni dello studio. La maggioranza dei pazienti sottoposti a trapianto polmonare che va incontro a rigetto non risponde ai trattamenti attuali, per cui si assiste a un progressivo declino della funzione polmonare, con peggioramento della qualità della vita e una maggior suscettibilità alle infezioni, fino al decesso. L'importante terapia immunosoppressiva a cui vengono sottoposti i pazienti trapiantati di polmone crea una situazione favorente lo sviluppo di infezioni polmonari, che a loro volta sono tra le cause principali di rigetto acuto e cronico. La fotoferesi extracorporea (ECP), che è una terapia immunomodulatoria già consolidata per patologie immunomediate, crea un aumento a lungo termine del numero di cellule immunoregolatrici e la riduzione dello stato infiammatorio. L'ECP è trattamento raccomandato di prima linea per il rigetto cronico post-trapianto polmonare.

Ipotesi e obiettivi. L'ipotesi è che l'ECP, utilizzata come terapia di profilassi antirigetto (terapia di induzione) dopo trapianto polmonare, determini tolleranza immunitaria, prevenendo episodi di rigetto acuto e cronico. L'obiettivo di tale studio è di valutare la fattibilità, l'efficacia e la sicurezza della ECP come terapia di induzione per prevenire il rigetto nei pazienti affetti da fibrosi cistica sottoposti a trapianto bipolmonare (obiettivi primari: sopravvivenza, tasso di rigetto). Gli obiettivi secondari sono relativi alla risposta immunologica del ricevente correlata con l'andamento clinico, anatomopatologico e microbiologico.

Metodi essenziali. Studio pilota, non farmacologico, randomizzato in due gruppi: 12 pazienti trattati (terapia standard e ECP) e 12 controlli (terapia standard). Sono analizzate la funzionalità delle cellule immuni, lo stato infiammatorio e di comunicazione intercellulare da sangue periferico (PBMC) e da bronco lavaggio. Sono analizzati parametri clinici, istologici e microbiologici di valutazione del rigetto acuto, iperacuto e cronico con monitoraggio funzionale e istologico del graft e delle infezioni (secondo tempi definiti fino al primo anno post trapianto).

Risultati preliminari. I risultati delle analisi immuno-biologiche sono in fase di elaborazione, i pazienti arruolati dal 15/09/18 (N°4) sono vivi e non presentano rigetto. Un paziente è uscito dallo studio per difficoltà psicologiche legate al trapianto, che non gli hanno permesso di tollerare emotivamente una terapia aggiuntiva. Un paziente del gruppo "controllo" ha avuto un episodio infettivo importante in 10° giornata post trapianto.

Conclusioni. Lo studio si presenta ancora in fase di arruola-

mento iniziale. I risultati attesi sono di rilevare un vantaggio immunologico e biologico dei pazienti trattati con ECP, con la conferma della sicurezza e della buona tolleranza della metodica.

44. Use of multivolume MRI instead of ionizing imaging techniques for surveillance in young patients after lung transplantation for cystic fibrosis

Palleschi A¹, Aliverti A²

¹Fondazione IRCCS Ca' Granda – Ospedale Maggiore Policlinico, Milano, ²Politecnico di Milano, Dip. Elettronica, Informazione e Bioingegneria (FFC#27/2018, New)



Alessandro Palleschi, a sx, responsabile del progetto, e il partner Andrea Aliverti

Background and rationale. Lung transplantation (LTx) is an established therapy for patients with end-stage cystic fibrosis (CF). Post-LTx management comprising monitoring allograft function, regulating immunosuppressive regimen, as well as detecting and treating complications expeditiously is crucial to optimize patient outcome. LTx follow-up required several computed tomography (CT) controls. The radiological risk is disappointing in patients treated with immunosuppressive drugs and with young age. Recently, a new technique based on conventional magnetic resonance (MRI) acquired at different lung volumes (multivolume MRI) has been introduced to investigate regional ventilation, demonstrating sensitivity to ventilation impairment. More recently, these methods was applied to a small group of CF patients.

Hypothesis and objectives. We propose to explore the feasibility of multivolume proton-MRI to detect early changes and different features of structural damage in the follow-up of LTx CF patients and to correlate proton-MR regional variations with classical indicators of acute lung allograft dysfunction.

Essential methods. We plan to enrol 29 CF patients who receive a bilateral LTx at the Thoracic and Lung Transplantation Unit, Ospedale Maggiore Policlinico of Milan. Multi-volume CT scan and pulmonary function tests at 3, 6 and 12 months will be performed according to the surveillance protocol. In addition, the patients will be subjected to a conventional ¹H-MRI of the lung. An innovative algorithm for CT and MR image processing will be develop in order to describe the ventilation distribution in the follow-up of lung-transplanted patients.

Preliminary results. A specific protocol has been submitted to and approved by the Ethical Committee of Ospedale Maggiore Policlinico of Milan. Currently, patient's enrolment is in progress.

Conclusions. The expected result is the definition of a new tool, a radiation-free imaging technique, for surveillance in young patients after LTx for CF, able to provide innovative functional imaging biomarkers useful to early detect acute lung allograft dysfunction. This approach may indeed increase the quality of the diagnostic examination by improv-

ing the survival and the quality of life of patients with CF who receive LTx.

La risonanza magnetica come tecnica di imaging non ionizzante nella sorveglianza dei pazienti con fibrosi cistica sottoposti a trapianto di polmone

Ragioni dello studio. Il trapianto di polmone è una risorsa essenziale per i pazienti affetti da fibrosi cistica (FC) con coinvolgimento polmonare grave. I tassi di sopravvivenza sono incoraggianti ma ancora non soddisfacenti; di fondamentale importanza la sorveglianza clinico-strumentale e il trattamento mirato e tempestivo delle complicanze.

Ipotesi e obiettivi. Il nostro obiettivo è validare l'utilizzo di una tecnologia d'imaging non ionizzante, quale è la risonanza magnetica (RMN) convenzionale, come metodica di sorveglianza non invasiva, ripetibile e oggettiva per la diagnosi pre-clinica e differenziale di complicanze nel follow-up dei giovani pazienti FC sottoposti a trapianto.

Metodi essenziali. Si prevede di includere 29 pazienti FC afferenti al Centro Trapianti di Milano: dopo il trapianto saranno sottoposti al protocollo abituale di sorveglianza a 3, 6 e 12 mesi. A questi tempi, e in occasione di sospetto clinico/funzionale di insorgenza di complicanze, i pazienti eseguono TAC, prove di funzionalità respiratoria standard, vengono sottoposti a fibrobroncoscopia con lavaggio bronco-alveolare e biopsie polmonari trans-bronchiali. Per la finalità dello studio, saranno sottoposti a RMN convenzionale. I dati relativi alle caratteristiche pre-, intra- e post-trapianto verranno registrate su un database dedicato, già in uso nel nostro Centro. Le immagini TAC e RMN verranno rielaborate presso il Politecnico di Milano mediante approccio innovativo per lo studio funzionale e quantitativo del parenchima polmonare. Tali risultati verranno correlati con i classici dati di funzionalità respiratoria e le eventuali modificazioni verranno correlate con l'insorgenza di complicanze, in fase pre-clinica o clinica.

Risultati preliminari. Uno specifico protocollo è stato presentato e approvato dal Comitato etico della Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico. Attualmente, è in corso l'arruolamento dei pazienti.

Conclusioni. La possibilità di introdurre una metodica di sorveglianza non invasiva, ripetibile ed oggettiva nel delicato approccio al paziente sottoposto a trapianto di polmone, rappresenta una possibilità di grande importanza, in particolar modo in pazienti giovani e complessi quali sono i soggetti affetti da FC.

45. Identification of early molecular biomarkers of acute and chronic rejection in cystic fibrosis patients with lung transplant through the application of omics technologies

Rea F¹, Lunardi F¹, Schena FP²

¹Dip. Scienze Cardiologiche, Toraciche e Vascolari, Div. Chirurgia toracica, AOU Padova, ²Schena Foundation, Padova, (FFC#28/2018, New)

Background/Rationale. The first cause of lung failure in CF patients after lung transplantation is the development of chronic lung allograft dysfunction (CLAD) that affects 50% of patients in the first 5 years after lung transplantation. Therefore, these patients have the poorest long-term organ survival.

Objectives. Study's objectives are the identification of early markers of CLAD (BOS and RAS), based on clinical, laboratory, transcriptomics data, in a population of patients who underwent lung transplantation for CF to uncover the molecular pathways behind rejection.



Federico Rea, responsabile del progetto

Essential methods. It is a retrospective analysis of 48 selected patients that underwent LT for CF from 2005 to 2016. For each patient, all clinical, pathological and biohumoral data have been collected at each scheduled follow up time, to identify any type of rejection, particularly patients developing or not CLAD. All TBB samples will be analysed through omics technologies and the correlation between transcripts and rejection will be evaluated by computational analysis.

Preliminary results. From August 2015 a certified biobank has been available at the Pathological Anatomy Unit of the University of Padova. Tissue samples obtained from explanted lungs, as well as several specimens (blood samples, DNA/RNA from bronchoalveolar lavage and transbronchial biopsies) have been stored according to specific guidelines in order to perform omics analyses.

Conclusions. Transplantation represents the final therapy in patients with CF. Rejection, either acute or chronic, represents the most relevant cause of death in transplanted patient and thus affecting long-term survival. Therefore, better knowledge of the molecular pathways in the pathogenesis of rejection and an earlier diagnosis may improve treatment and outcomes in patients with CF undergoing lung transplant. This pilot study would result in a molecular signature to improve early diagnosis of chronic rejection in patients with CF undergoing lung transplantation. Future objectives are the confirmation of crucial biomarkers in a larger study population and the possibility to enable targeted therapy and personalized interventions through systems pharmacology applied to the molecular pathways.

Identificazione di biomarcatori molecolari precoci del rigetto acuto e cronico nei pazienti con fibrosi cistica sottoposti a trapianto polmonare mediante l'uso delle tecnologie omiche

Ragioni dello studio. La principale causa di insufficienza dell'organo trapiantato nei pazienti con fibrosi cistica (FC) sottoposti a trapianto di polmone è rappresentato dal rigetto cronico (CLAD) che interessa circa il 50% dei pazienti nei primi 5 anni dal trapianto. Il suo sviluppo ha un impatto negativo sulla sopravvivenza a lungo termine in questi pazienti.

Ipotesi e obiettivi. Identificazione dei biomarcatori precoci di rigetto cronico del trapianto polmonare, nelle sue varianti clinico-patologiche (BOS e RAS), nei pazienti con FC sottoposti a trapianto di polmone, basata sull'analisi computazionale dei dati clinici, di laboratorio e dei risultati delle analisi omiche.

Metodi essenziali. Questo progetto è basato sull'analisi retrospettiva di 48 pazienti che sono stati sottoposti a trapianto polmonare per CF dal 2005 al 2016. Per ciascun paziente, tutti i dati clinici, patologici e bioumoralmente sono stati raccolti durante il follow-up post-trapianto, per identificare i diversi tipi di rigetto. I campioni di biopsie transbronchiali (TBB) saranno analizzati mediante tecnologie omiche e i diversi pattern molecolari di rigetto saranno comparati tra di loro e con il tessuto polmonare da donatore cadavere. I risultati saranno confermati sugli stessi campioni di TBB mediante tecniche di immunistochimica.

Risultati preliminari. Da agosto 2015 è stata istituita una biobanca certificata presso l'Anatomia Patologica dell'Università di Padova. Campioni di tessuto polmonare, sangue periferico, lavaggio bronco-alveolare e TBB sono già stati raccolti secondo un protocollo ben definito per la trascrittomica.

Conclusioni. Il rigetto rappresenta la più importante causa di mortalità nei pazienti con FC sottoposti a trapianto di polmone, influenzando pertanto la sopravvivenza a lungo termine. Pertanto una miglior conoscenza dei meccanismi molecolari alla base del rigetto e una sua precoce diagnosi permetterebbe di migliorare i trattamenti e conseguentemente la sopravvivenza a lungo termine. Questo approccio scientifico è rivolto a realizzare interventi non solo di Medicina di Precisione ma anche di Terapia Personalizzata. Di conseguenza una migliore terapia mirata del rigetto potrà portare ad una ridotta ospedalizzazione dei pazienti e ad un uso più razionale dei farmaci, permettendo una migliore assistenza ai pazienti con FC che hanno ricevuto un trapianto polmonare.

NEW MOUSE MODELS AND NEW EXPLORATIONS IN CF MICROBIOLOGY

46. Phenotyping new genetically-diverse mouse models mirroring the complexity of the Cystic Fibrosis pathology

Sipione B^{1,2}, Rizzo G^{1,2}, Ferreira ML², De Fino I¹, Sitia G², Bragonzi A¹, Lorè NI^{1,2}

¹Infection and Cystic Fibrosis Unit, San Raffaele Scientific Institute, Milan, Italy, ²Vita-Salute San Raffaele University, Milan, Italy, ³Experimental Hepatology Unit, San Raffaele Scientific Institute, Milan, Italy (FFC#4/2017, In progress)

Background. In addition to the cystic fibrosis (CF) transmembrane conductance regulator (CFTR) gene defect, the severity of pulmonary disease is influenced also to other genetic factors. Several CF mouse models were generated by using redundant genetic backgrounds, whose do not represent the heterogeneity of the human population. Thanks to a previous project (FFC# 11/2015), we generated two new CF mouse models (CC06_CFTR^{tm1kth} and CC037_CFTR^{tm1kth}) carrying the $\Delta F508$ mutation in different genetic backgrounds



Nicola Ivan Lorè, primo a destra, con i ricercatori che collaborano al suo progetto

derived from the Collaborative Cross (CC) mouse population.

Hypothesis and objectives. The hypothesis guiding our proposal is that the mutation of CFTR in murine populations with genetic diversity may cause different pathological alterations not detected so far. The final objective is to characterize

the disease manifestations in the two new CC_CF mouse murine models homozygous for $\Delta F508$ mutation with two different genetic backgrounds.

Methods. The two CC_CF murine lines will be characterized for spontaneous pathology and for susceptibility to *P. aeruginosa* lung infection. In the first year, we dissected disease phenotypes related to spontaneous pathology monitoring survival rate, body weight, performing hematological analysis and multiorgans necropsy.

Results. The two CC_CF murine lines show highly different breeding performance. In particular, the CC037_CFTR^{tm1kth} mice have a higher average of litter size than the CC06_CFTR^{tm1kth} mice. The CC037_CFTR^{tm1kth/-} mice display a significantly lower survival rate post birth in comparison to the congenic Wild Type (WT). By hematological analysis, we found that CC037_CFTR^{tm1kth/-} mice have a significantly higher level of neutrophils than WT. We also performed necropsy in collected organs of the respiratory and digestive system and performed histopathological analysis. Preliminary data suggests that CC037_CFTR^{tm1kth/-} mice display alteration of the epithelial structure in the trachea and in the small intestine. Moreover, the spontaneous phenotypic characterization of CC06_CFTR^{tm1kth} strain is still in progress.

Conclusions. Two new CF mouse models were generated and the characterization is ongoing. These new CF lines will help us to 1) determine the role of genetic backgrounds in the variation of CF disease severity and 2) provides new murine CF mouse models for CF community.

Caratterizzazione di nuovi modelli animali che rispecchiano la complessità della malattia fibrosi cistica

Ragioni dello studio. L'importanza del profilo genetico individuale come determinante della gravità della malattia Fibrosi Cistica (FC) è stata trascurata. Infatti, sono stati sviluppati diversi modelli murini FC, utilizzando profili genetici ridondanti che non rappresentano l'eterogeneità della popolazione umana. Grazie al precedente progetto FFC# 11/2015, abbiamo generato due nuovi modelli murini con FC, sfruttando la popolazione murina chiamata 'Collaborative Cross' (CC), al fine di rappresentare la diversità genetica della popolazione umana.

Ipotesi e obiettivo L'ipotesi di questo progetto è che il difetto del canale CFTR in popolazioni murine con profili genetici differenti possa causare diverse alterazioni patologiche. L'obiettivo di questo progetto è di caratterizzare due nuovi ceppi murini di FC aventi la mutazione F508 (chiamati rispettivamente CC06_CFTR^{tm1kth} e CC037_CFTR^{tm1kth}) dal punto di vista della patologia spontanea e quella indotta da infezioni respiratorie da *P. aeruginosa*.

Metodi. Le due nuove linee murine FC sono state confrontate con le corrispettive linee murine non aventi la malattia FC. In particolare per definire la patologia FC spontanea in questi animali abbiamo valutato il benessere generale a livello nativo nonché effettuato indagini ematiche e biopsie tissutali di varie origini (apparato digerente e respiratorio).

Risultati. La caratterizzazione della malattia nelle due nuove linee murine FC è stata effettuata negli animali denominati CC037_CFTR^{tm1kth}, grazie a delle migliori caratteristiche di crescita e sviluppo di questo ceppo murino rispetto al ceppo CC06_CFTR^{tm1kth}. Gli animali con FC di questo ceppo murino hanno un peggiore stato di salute generale rispetto a quello non aventi la mutazione $\Delta F508$. Inoltre, i topi FC hanno un alto numero di neutrofili presenti a livello circolatorio come evidenziato dalle indagini ematiche. I dati preliminari dell'analisi istologica suggeriscono che i topi CC037_CFTR^{tm1kth} mostrano un'alterazione della struttura epiteliale nella trachea e nell'intestino tenue. Un simile approccio di caratterizzazione è in corso anche per la linea FC CC06_CFTR^{tm1kth}.

Conclusioni. I due nuovi modelli murini per lo studio

della FC sono stati generati e la loro caratterizzazione avrà un impatto su diverse aree di ricerca FC: i) studio della fisiopatologia delle vie respiratorie in soggetti con la mutazione $\Delta F508$ con profili genetici differenti; ii) sviluppare nuovi modelli murini utili per la comunità scientifica FC.

47. Testing the anti-inflammatory effects of matrix metalloprotease inhibitors in *P. aeruginosa*-infected CFTR-knockout mice by in vivo imaging techniques

Boschi F¹, Sandri A², Lleò MM²

¹Department of Computer Science, University of Verona,

²Department of Diagnostics and Public Health, University of Verona (FFC#21/2017, In progress)



Federico Boschi, responsabile, con collaboratrici del progetto

Background. *P. aeruginosa* secreted proteases interfere with key host immune processes and degrade lung tissue. Thus, molecules interfering with bacterial proteases might limit host inflammatory response and lung damage. Modern in vivo imaging tools could allow to assess the anti-inflammatory effects of these molecules in infected CF mice.

Objectives. This pilot project aimed to optimize an in vivo imaging mouse model for monitoring the inflammatory effects of *P. aeruginosa* lung infection and to evaluate the possible anti-inflammatory effects of molecules interfering with protease activity, like broad-spectrum protease inhibitors Ilomastat and Marimastat, by in vivo imaging techniques.

Essential methods. *P. aeruginosa* acute lung infection was established in wild-type and CFTR-knockout C57BL/6 mice expressing luciferase gene under control of bovine IL-8 promoter in the lungs. Transgenic mice were treated with protease inhibitors and lung inflammation was monitored by in vivo bioluminescence imaging. In vitro, effects of protease inhibitors on *P. aeruginosa* growth and viability were evaluated.

Results. Non-invasive lung infection with *P. aeruginosa* PAO1 strain was established in both wild-type and CFTR-knockout mice. The infection induced IL-8-dependent bioluminescence emission associated to lung inflammation, along with low mortality of the animals in the first 48 hours after infection. In mice with ongoing infection and inflammation, intratracheal treatment with 150 μ M Marimastat and Ilomastat reduced the bioluminescence signal in comparison to untreated, infected animals. No adverse effects in mice due to treatment with protease inhibitors were observed. In vitro, the same dose of Ilomastat and Marimastat did not affect *P. aeruginosa* growth and viability.

Conclusions. Preliminary results of this study show that protease inhibition has beneficial effects in reducing lung inflammation in mice and indicate Ilomastat and Marimastat as potential candidate molecules for the treatment of *P. aeruginosa* infection.

Studio degli effetti anti-infiammatori dell'inibizione delle proteasi in topi FC con infezione da *P. aeruginosa* tramite tecniche di imaging in vivo

Ragioni dello studio. Le proteasi, enzimi secreti da *Pseudomonas aeruginosa*, interferiscono con processi chiave dell'immunità e degradano il tessuto polmonare. Farmaci dotati di azione inibente le proteasi, già in uso o valutati per altri scopi clinici, potrebbero quindi limitare la risposta infiammatoria e il danno polmonare.

Obiettivi. Il progetto ha lo scopo di ottimizzare un modello animale per monitorare l'infiammazione polmonare causata da *P. aeruginosa* tramite tecniche di imaging e di utilizzarlo per valutare i possibili effetti anti-infiammatori di farmaci che interferiscono con le proteasi batteriche.

Metodi. Topi sani e CF sono stati infettati con *P. aeruginosa* e trattati con farmaci che inibiscono l'attività delle proteasi, come Ilomastat e Marimastat. L'infiammazione a livello polmonare è stata monitorata tramite un modello murino transgenico che permette l'osservazione e misurazione della bioluminescenza emessa dai topi in corrispondenza di questo processo. *In vitro*, sono stati valutati gli effetti degli inibitori di proteasi sulla crescita di *P. aeruginosa*.

Risultati. La metodica di infezione polmonare non invasiva è stata ottimizzata per indurre un'infiammazione misurabile tramite *imaging in vivo* e allo stesso tempo ottenere una bassa mortalità degli animali, per permettere di monitorare gli effetti delle molecole d'interesse. In presenza di infezione e infiammazione polmonare, nei topi trattati con Marimastat e Ilomastat abbiamo osservato una riduzione della bioluminescenza associata all'infiammazione rispetto ai topi che non hanno ricevuto il trattamento. Non sono stati osservati effetti avversi associati al trattamento con gli inibitori di proteasi. *In vitro*, le stesse molecole non hanno avuto effetti inibitori sulla crescita di *P. aeruginosa*.

Conclusioni. I risultati preliminari di questo studio mostrano che l'inibizione delle proteasi ha effetti benefici nel ridurre l'infiammazione polmonare nei topi e indicano Ilomastat e Marimastat come potenziali molecole candidate per il trattamento dell'infezione causata da *P. aeruginosa*.

48. A longitudinal metagenomic analysis to uncover microbial signatures of lung disease: unraveling host-microbial community interactions in humans and animal models

Bevino A¹, Mengoni A², Segata N³

¹Department for Sustainability of Production and Territorial Systems, ENEA, Italian National Agency for New Technologies, Energy and Sustainable Economic Development, Casaccia Research Center, Rome, Italy, ²Department of Biology, University of Florence, Florence, Italy, ³Centre of Integrative Biology, University of Trento, Trento, Italy (FFC#19/2017, In progress)

Background and rationale. Patients with cystic fibrosis (CF) can experience periodic episodes of acute pulmonary exacerbation, which are associated with disease progression, a poor health-related quality of life and poor survival. Though changes in the CF microbiota composition around the time of exacerbations have been described, the analysis of taxonomic assessment of CF lung microbiome and its functional potential (i.e. which genes and pathways are present) have not been investigated yet. In addition, no data are present on animal models, which are crucial to complement human data and delineate mechanisms of microbiome dynamics and also assist in the development of new therapies to treat patients with CF.

Hypothesis and objectives. The general aim of this pro-



Annamaria Bevino, responsabile del progetto, con i partner di ricerca, Alessandro Mengoni, a sinistra, e Nicola Segata, a destra

posal is to provide a more in-depth understanding of the lung microbiome in humans and animal models. The specific aims are: **understand and describe the taxonomic and functional gene dynamics of the lung microbiome of CF patients over time; investigate the influence of external factors such as antibiotic therapy and respiratory exacerbation; monitor the dynamics of the lung microbiome in wild type and CF mice, in the naïve status and after chronic infection with *Pseudomonas aeruginosa*.**

Essential methods. Twenty-two subjects with CF, with a severe/moderate pulmonary disease, were followed over a 15-month period. Functional and taxonomic features of bacterial airway microbiome of CF patients were inferred from shotgun metagenomic data obtained from sputum samples. Also, male *Cfr^{tm1UNC}TgN(FABPCFTR)* and their WT congenic mice were sacrificed at seven days post-infection to track changes of the lung microbiome during chronic infection.

Preliminary results. The first step was to define the variability of CF airway microbiota over time, during clinical changes, and with antibiotic treatment. Microbial strain-level population structure from metagenomes revealed a constant strain-level signature of a subject's microbiome over time, suggesting the substantial longitudinal strain retention within the same microbial community. Time and exacerbation events impacted the microbiota dynamic from both a functional and a taxonomical perspective though the subject effect was highly relevant. Indeed, each subject reported a specific composition of genes, pathways, and taxa with the latter ones reporting the highest variation across not only from patient to patient but even across the different time points of the same subject.

Conclusions. In conclusion, the lung microbiome of CF patients showed an extraordinary resilience of the main CF pathogens with patient-specific colonization even at strain-level. Genes associated to metabolic pathways (including antibiotic-resistance genes) were less variable but highly patient-specific suggesting the need for future development of personalized therapeutic approaches based on patient-specific airways microbiome. The possibility to analyze the microbiome dynamics in CF airways will permit to discover novel biomarkers involved in the pulmonary disease dynamics and can give us a set of tools to unlock the potential of microbiome-based personalized medicine in major disease areas including CF. In particular, animal studies will also assist in the development of microbiome manipulation of lung microbiome aimed to restore "healthy" microbial communities.

Un'analisi metagenomica longitudinale per scoprire le forme microbiche della malattia polmonare: verso la comprensione della complessità delle interazioni ospite-microbiota negli esseri umani e in modelli animali

Ragioni dello studio. I pazienti affetti da fibrosi cistica (FC) sperimentano episodi periodici di esacerbazione polmonare acuta, che sono associati alla progressione della malattia, a una cattiva qualità della vita e ad una scarsa sopravvivenza. Sebbene siano stati descritti cambiamenti nella composizione delle comunità batteriche nelle vie aeree durante le esacerbazioni, l'analisi dell'intero corredo genetico microbico (microbioma) e la loro relazione con lo stato di malattia polmonare del paziente non sono stati ancora investigati. Per comprendere a pieno le relazioni funzionali tra microbioma polmonare e malattia polmonare sono inoltre cruciali i modelli animali, da relazionare con i dati del microbioma umano, e quindi permettere di sviluppare nuove terapie per il trattamento di pazienti con FC.

Ipotesi e obiettivi. L'obiettivo principale di questo progetto è la comprensione più approfondita della dinamica del microbioma polmonare umano e nei modelli animali. Gli obiettivi specifici di questa proposta sono: analizzare la composizione del microbioma e delle sue modifiche in relazione all'avanzamento della malattia nel corso dello studio longitudinale; valutare l'influenza dello stato di esacerbazione e trattamento antimicrobico; monitorare la dinamica del microbioma polmonare nei topi FC con e senza infezione cronica da *Pseudomonas aeruginosa*.

Metodi essenziali. Ventidue soggetti con FC, con funzionalità respiratoria moderata-severa, sono stati seguiti nel corso di 15 mesi. I campioni di espettorato sono stati analizzati mediante sequenziamento massivo per l'analisi delle caratteristiche funzionali e tassonomiche del microbioma delle vie aeree. Infine, topi Cfrtm1UNCTgN (FABPCFTR) e wild type congenici sono stati sacrificati a sette giorni dall'infezione con *Pseudomonas aeruginosa* per le successive analisi dei cambiamenti del microbioma polmonare durante l'infezione cronica.

Risultati preliminari. In questo primo anno di attività abbiamo definito la variazione del microbiota delle vie aeree dei pazienti con CF nel tempo, durante i periodi di stabilità clinica, con l'avvenimento di esacerbazioni polmonari e con il trattamento antibiotico. È stata osservata una complessa e diversa distribuzione tassonomica, sia negli espettorati provenienti dallo stesso paziente nel corso dello studio sia tra i campioni di espettorato dei diversi pazienti esaminati. I batteri patogeni del tratto respiratorio FC hanno dimostrato di avere un'elevata capacità di resilienza al trattamento antibiotico. Gli eventi di esacerbazione e il tempo hanno influenzato la dinamica del microbioma polmonare a livello funzionale e tassonomico. In effetti, ogni soggetto ha riportato una composizione specifica di geni, vie metaboliche e gruppi tassonomici.

Conclusioni. Abbiamo osservato un elevato grado di resilienza del microbioma polmonare delle vie aeree e una colonizzazione paziente-specifica fino al livello di ceppo. I geni associati a vie metaboliche microbiche (inclusi i geni codificanti i sistemi di antibiotico-resistenza) si sono rivelati specifici per il paziente; da qui la necessità di sviluppare in futuro approcci terapeutici personalizzati basati sul microbioma delle vie aeree del paziente. Lo studio della composizione del microbioma polmonare murino permetterà in questo senso di porre le basi per lo sviluppo di nuovi approcci basati sulla manipolazione del microbioma polmonare ai fini del ripristino di una comunità microbica "stabile e sicura".



Cristina Cigana, responsabile del progetto

Background and rationale. The development and clinical use of CFTR-modulators is just beginning. Currently, the criteria for recommendations to guide their use primarily include genetic mutations of CFTR. These drugs will potentially improve outcomes in individuals with CF. However, their use is associated with marked variability in the response to treatment. Recently, CFTR-modulators have been shown to possess *in vitro* CFTR-independent activities, including an anti-bacterial profile (Reznikov LR, Abou Alaiwa MH, Dohrn CL, et al. *J Cyst Fibros.* 2014;13(5):515-9).

Hypothesis and objectives. We aim to define whether, how and to what extent CFTR-modulators have an antibacterial effect - alone or in combination with standard treatments - and/or impact on host response/defence during chronic pneumonia.

Essential methods. A bio-bank of longitudinal isolates recovered from CF patients will be *in vitro* tested for susceptibility to CFTR-modulators alone or in combination with antibiotics commonly used in the CF clinics. Next, CFTR-modulators will be intraperitoneally administered in mouse models of chronic *P. aeruginosa* and *S. aureus* lung infection to study their anti-bacterial and off-target immunomodulatory activities. Alone or in combination with antibiotics, the impact of CFTR-modulators on the murine health status, the incidence and severity of chronic infection, immune responses, and tissue damage will be evaluated.

Preliminary results. Recently, we modelled chronic lung infection by *P. aeruginosa* and *S. aureus* in mice. These mouse models respond to treatment with gold standard antibiotics and represent powerful tools to investigate CFTR-modulator off-target activities. Importantly, we found that ivacaftor reduced *P. aeruginosa* burden and leukocytes recruitment in the mouse model of chronic *P. aeruginosa* lung infection. *In vitro*, ivacaftor showed antimicrobial activity against *S. aureus* and *P. aeruginosa*.

Conclusions. We expect to define anti-bacterial effects and uncover other off-target activities of CFTR-modulators in mouse models of chronic lung infection. Results obtained during this project will be instrumental in implementing guidelines and providing specific recommendations for the use of CFTR-modulators, alone or in combination with other therapies, in CF patients chronically infected by *P. aeruginosa* and *S. aureus*. This may ultimately improve the health status of patients with CF.

Effetti non CFTR-dipendenti dei modulatori di CFTR in modelli preclinici di infezione polmonare

Ragioni dello studio. Recentemente, farmaci modulatori della proteina CFTR sono stati introdotti in clinica ed i criteri per il loro utilizzo includono principalmente il tipo di mutazioni del CFTR. Sebbene queste nuove terapie abbiano un enorme potenziale di migliorare lo stato di salute nei soggetti con FC, la risposta clinica è marcatamente variabile. A questo riguardo, recenti dati sperimentali suggeriscono che i modulatori del

49. Off-target effects of CFTR-modulators in preclinical infection models

Melessike M, Alcalà-Franco B, Bragonzi A, Cigana C
Infections and Cystic Fibrosis Unit, Division of Immunology, Transplantation and Infectious Diseases, San Raffaele Scientific Institute (FFC#15/2018, New)

CFTR possiedono anche attività indipendenti dal CFTR.

Ipotesi e obiettivi. Il nostro obiettivo è definire se i modulatori del CFTR abbiano un effetto antibatterico, da soli o in combinazione con antibiotici standard, o un impatto sulle difese dell'ospite, indipendente dall'attività di correzione del CFTR, durante l'infezione polmonare cronica.

Metodi essenziali. Una biobanca di ceppi batterici rilevanti in FC verrà testata *in vitro*, per indagare se siano suscettibili ai modulatori del CFTR (ivacaftor, lumacaftor, tezaftor), da soli o in combinazione con gli antibiotici più frequentemente usati in FC. Successivamente, i modulatori di CFTR saranno testati in modelli murini di infezione cronica polmonare, per studiare la loro attività antibatterica e i potenziali effetti sulle difese dell'ospite. Verrà valutato l'impatto dei modulatori di CFTR, da soli o in combinazione con antibiotici, sullo stato generale di salute, sull'incidenza e sulla gravità dell'infezione cronica, sulla risposta immunitaria e sul danno del tessuto polmonare.

Risultati preliminari. Recentemente abbiamo generato dei modelli di infezione cronica polmonare con patogeni rilevanti in FC, in particolare *P. aeruginosa* e *S. aureus*. Questi modelli rispondono al trattamento con antibiotici standard e rappresentano strumenti essenziali per studiare la patogenesi della FC e testare trattamenti terapeutici. In particolare, nel modello di infezione cronica da *P. aeruginosa*, abbiamo osservato che ivacaftor riduce la carica batterica e l'infiammazione. *In vitro*, ivacaftor ha mostrato un'attività antimicrobica nei confronti di *S. aureus* e *P. aeruginosa*.

Conclusioni. Nel corso di questo progetto, prevediamo di definire gli effetti anti-batterici e di scoprire altre potenzialità dei modulatori indipendenti dall'attività di correzione della proteina CFTR. L'intento finale è quello di trasferire in modo ottimale i risultati in ambito clinico, migliorando le linee guida per l'uso dei modulatori del CFTR e generando raccomandazioni per le combinazioni con antibiotici.

PLENARY SESSION 8 ANTIMICROBIAL PEPTIDES

50. Development of inhalable particles for optimal delivery of a potent antimicrobial molecule in *P. aeruginosa* infected lungs

Pini A¹, d'Angelo Ivana², Quercini L¹

¹Dipartimento di Biotecnologia Medica, Università di Siena,

²Dipartimento di Scienze e Tecnologie Ambientali, Biologiche e Farmaceutiche, Di.S.T.A.Bi.F., Seconda Università di Napoli (FFC#17/2016, Concluded)



Alessandro Pini, secondo da destra, responsabile del progetto e Ivana d'Angelo, partner

Background and rationale. The antimicrobial peptide M33 is a molecule currently in preclinical development for the set up of a new antibiotic for lung infections in Cystic Fibrosis (CF) patients. In parallel to the preclinical development of the molecule as a free drug, we are developing and characterizing optimized drug delivery systems to enhance its effectiveness. Here we designed and developed polymeric nanoparticles (NPs) for the peptide delivery to the lung, in order to achieve an optimized activity of M33 to the pulmonary infection sites. This work was done in collaboration between two research groups from Siena and Caserta.

Hypothesis and objectives. The Siena group was dedicated to the molecule production test *in vitro* and possible animal experiments. The Caserta Unit was dedicated to the selection and characterization of the drug delivery formulations encapsulating M33.

Essential Methods. The M33 peptide was produced according to the manufacturing procedures developed in the past, and encapsulated in different polymeric NP formulations, in order to achieve an optimized peptide formulation able to

improve the M33 activity. The developed M33-loaded NP formulations were tested *in vitro* for their efficacy and toxicity.

Results. During the project several lots of PLGA-based nanoparticles (NPs) containing M33 were produced. The obtained delivery systems showed optimized size, zeta potential, *in vitro* aerosolization properties and peptide encapsulation and *in vitro* release. The obtained formulations were tested for antimicrobial activity by MIC assays against *P. aeruginosa*, and for toxicity against eukaryotic cells. No significant toxicity was revealed.

In parallel, an animal model of lung infection with *P. aeruginosa* was set up using a Penn Century device for nebulization and an aerosol machine specifically constructed for animal exposure to encapsulated M33.

Conclusions. In order to improve M33 delivery we set up a novel NP preparations based on PLGA and containing the peptide M33. The most important results regarded the strong decrease of toxicity with respect of the non-encapsulated peptide. Experiments *in vitro* were set-up for the measurement of M33.

Sviluppo di particelle inalabili per la somministrazione ottimale di una potente molecola antimicrobica nelle infezioni polmonari dovute a *Pseudomonas aeruginosa*

Ragioni dello studio. Il peptide antimicrobico M33 è una molecola attualmente in fase di sviluppo preclinico per la messa a punto di un nuovo farmaco antibiotico per la cura delle infezioni riscontrate nei pazienti di Fibrosi Cistica (CF). Parallelamente allo sviluppo della molecola nella sua forma libera, si stanno studiando sistemi di somministrazione più adatti per potenziare la sua efficacia. Lo sviluppo e l'impiego di sistemi per la veicolazione polmonare del peptide, in grado di potenziarne l'attività e permettere di raggiungere i siti di infezione polmonari, è l'obiettivo di questo progetto.

Ipotesi e obiettivi. Il lavoro è stato svolto in collaborazione tra due gruppi di ricerca di Siena e Caserta. Il gruppo di Siena si è occupato della produzione della molecola brevettata dall'Università di Siena. Il gruppo di Caserta si è dedicato allo sviluppo ed alla caratterizzazione di nuovi sistemi per la veicolazione polmonare di M33.

Metodi essenziali. Il peptide M33 è stato prodotto secondo le procedure di manifattura messe a punto in passato e incapsulato in nanoparticelle (NPs) polimeriche al fine di ottenere un rilascio ottimizzato della molecola al sito di in-

fezione. I sistemi sviluppati caricati con il peptide M33 sono stati testati per la loro efficacia e tossicità.

Risultati. Sono state prodotte NPs a base di polimeri biocompatibili, in differenti formulazioni, contenenti M33. Le NPs sviluppate presentano proprietà ottimizzate per la veicolazione polmonare (i.e. dimensioni, polidispersità e potenziale zeta) e ottima efficienza d'incapsulazione e cinetica di rilascio del peptide. Test di antimicrobicità e di tossicità hanno rivelato promettenti risultati da approfondire in futuro.

Conclusioni. M33 si è dimostrato in passato un ottimo candidato allo sviluppo di un nuovo antibiotico per infezioni polmonari. Al fine di ottenere una formulazione ottimizzata per la somministrazione polmonare, aumentare la persistenza in situ e superare le barriere imposte dalla via di somministrazione, M33 è stato incapsulato in NPs a base di polimeri biocompatibili. Promettenti risultati di sviluppo sono al vaglio degli operatori scientifici per ottenere un modello di farmaco nel prossimo futuro.

51. Frog skin-derived peptides for treatment of *Pseudomonas aeruginosa* lung infection and bronchial epithelial repair: advanced *in vitro* and *in vivo* characterization and development of polymeric nanoparticles for lung delivery

Mangoni ML¹, Casciaro B¹, d'Angelo I², Zhang X³, Cappiello F¹, Loffredo M¹, Di PY³, Ungaro F⁴

¹Laboratory affiliated to Pasteur Italia-Fondazione Cenci Bolognetti, Department of Biochemical Sciences, Sapienza University of Rome, ²Di.S.T.A.Bi.F., University of Campania "Luigi Vanvitelli", Caserta, Italy, ³Department of Environmental and Occupational Health, University of Pittsburgh, Pittsburgh, PA, USA, ⁴Department of Pharmacy, University of Naples Federico II (FFC#15/2017, Concluded)



Marialuisa Mangoni, a sinistra, e Loretta Ferrera, partner del progetto

Background and rationale. *Pseudomonas aeruginosa* is the most predominant pulmonary pathogen in cystic fibrosis (CF). It is quite difficult to eradicate, mainly due to its resistance to most available antibiotics and ability to form biofilms. We identified a peptide from frog skin (21 amino acids), Esc(1-21), which rapidly kills *P. aeruginosa* with a membrane-perturbing activity that prevents bacteria from developing resistance. Recently, we designed a diastereomer of Esc(1-21), more stable and less cytotoxic than the wild-type peptide; more efficient in stimulating migration of bronchial cells and presumably in promoting recovery of the bronchial epithelium integrity. This is a relevant feature considering the defective airway epithelial wound repair in CF sufferers. Yet, the diastereomer was more efficient in reducing lung bacterial burden in mouse models of *P. aeruginosa* lung infection. However, conceiving AMPs for local delivery to the lungs, adequate airway delivery strategies are needed to promote their transport to the infection site.

Hypothesis and objectives. Main objectives of the Project were (i) an in-depth study of the re-epithelialization activity of these peptides and (ii) the development of new effective and economically feasible polymeric nanoparticles (NPs) loaded with each peptide to assist its diffusion through the bronchial mucus and to allow local treatment of *P. aeruginosa* lung infection.

Essential methods. A multidisciplinary approach combining biochemical, microbiological techniques and preclinical testing in mouse models to explore the efficacy and safety profile of the selected peptides and peptide-loaded NPs.

Results. Preclinical data in a murine model of *P. aeruginosa* lung infection have provided the first evidence of the success of poly lactic-co-glycolic NPs as valuable nanocarriers to assist the delivery of antimicrobial peptides in the conductive airways as well as to boost up their antimicrobial effect. Furthermore, we have observed that the re-epithelialization of the bronchial epithelium by these peptides involves transactivation of epidermal growth factor receptor.

Conclusions. On the basis of our findings, it can be concluded that the diastereomer represents the best candidate for the development of inhalable nanoformulations for controlled delivery of the peptide at CF lungs prolonging its therapeutic efficacy with minimal side-effects. These NPs could be further developed into dry powders for inhalation allowing a much easier and faster administration as compared to nebulized liquid formulations or intravenous injection.

Peptidi da pelle di rana per il trattamento di infezioni polmonari da *Pseudomonas aeruginosa* e riepitelizzazione della mucosa bronchiale: caratterizzazione *in vitro* ed *in vivo* e sviluppo di nanoparticelle polimeriche per la loro veicolazione a livello polmonare.

Ragioni dello studio. *Pseudomonas aeruginosa* è l'agente patogeno predominante nei polmoni di pazienti con fibrosi cistica (FC). E' molto difficile da debellare a motivo della sua acquisita resistenza agli antibiotici correnti e perché in grado di formare biofilm. Finora abbiamo identificato un peptide da pelle di rana di 21 amminoacidi, Esc(1-21), che rapidamente uccide *Pseudomonas* con un'azione membranolitica che limita lo sviluppo di resistenza. Recentemente, abbiamo disegnato un suo analogo (diastereomero) più stabile e meno citotossico; più efficace nello stimolare la migrazione di cellule bronchiali e presumibilmente nel ripristinare l'integrità dell'epitelio bronchiale. Tale aspetto è fondamentale per il mantenimento delle funzioni respiratorie soprattutto in pazienti FC, in cui i meccanismi di riepitelizzazione della mucosa bronchiale sono compromessi. Inoltre, il diastereomero è risultato più efficace nel ridurre la carica batterica in modelli murini di infezione polmonare acuta da *P. aeruginosa*. Tuttavia, lo sviluppo di adeguate forme farmaceutiche per inalazione è cruciale al fine di favorire il raggiungimento del bersaglio terapeutico a livello polmonare.

Ipotesi e Obiettivi. Principale scopo del progetto è stato quello di (i) approfondire la nostra conoscenza sull'attività riepitelizzante di tali peptidi e di (ii) sviluppare nuove formulazioni economicamente realizzabili a base di nanoparticelle polimeriche (NPs) contenenti il peptide, per assistere il trasporto attraverso il muco bronchiale e, quindi, consentire il trattamento delle infezioni polmonari da *P. aeruginosa*, in seguito a somministrazione per via inalatoria.

Materiali essenziali. Impiego di un approccio multidisciplinare coinvolgente tecniche biochimiche, microbiologiche e test preclinici in modelli murini per esplorare il profilo di efficacia e tollerabilità delle NPs contenenti il peptide

Risultati. NPs utili alla veicolazione polmonare dei peptidi antimicrobici di interesse sono state sviluppate con successo. Dati preclinici in un modello murino di infezio-

ne polmonare da *P. aeruginosa* hanno dimostrato che le NPs possono potenziare l'azione antimicrobica dei peptidi veicolati. È stato inoltre osservato come l'effetto di riepitelizzazione dell'epitelio bronchiale da parte di tali peptidi coinvolga una trans-attivazione del recettore del fattore di crescita dell'epidermide.

Conclusioni. Sulla base dei risultati ottenuti si può concludere che il diastereomero rappresenta un candidato migliore per lo sviluppo di nanoformulazioni inalabili volte ad ottimizzare la veicolazione del peptide in polmoni FC e permetterne un rilascio controllato nel tempo e prolungarne l'efficacia terapeutica, limitando gli effetti indesiderati. In prospettiva, tali NPs potranno essere prodotte in forma di polveri inalabili per una più facile e veloce somministrazione rispetto ai comuni aerosol liquidi o all'iniezione endovena.

52. Pre-clinical effectiveness of three human cryptic anti-biofilm peptides (GVF27, HVA36 and IMY47): efficacy against lung pathogens and studies in animals

Bosso A¹, Gaglione R², Siepi ML¹, Cafaro V¹, Notomista E¹, Arciello A², Pizzo E¹

¹Dipartimento di Biologia, Università di Napoli "Federico II"; ²Dipartimento di Scienze Chimiche, Università di Napoli "Federico II" (FFC#16/2017, Concluded)



Elio Pizzo, primo a destra, con i ricercatori che collaborano al progetto

Background and Rationale. Microbial biofilms are the underlying cause of persistent infections in Cystic Fibrosis lungs. The formation and maintenance of biofilms depends critically on the presence of bacteria-to-bacteria interconnecting extracellular substances that serve as a biofilm matrix. Biofilms display a high resistance to killing by most antimicrobial compounds and this high level of resistance depends on multiple factors associated with adaptive changes in gene expression accompanying the biofilm growth state and the inherent properties of biofilm structures that act as physical barrier to antibiotic penetration. For this reason new drugs, alternative to conventional antibiotics, are needed to combat specifically biofilm forming pathogens. At this regard, Host Defence Peptides (HDPs), are a valuable attractive both for their selective toxicity and multi-immunomodulatory properties. During FFC project #20/2014 we have identified¹ and studied several new human cryptic HDPs never analysed so far. Some of these molecules have interesting features²⁻⁴ and for this reason we have deepened their study in the perspective as new potential CF therapeutics.

Hypothesis and Objectives. The aim of our pilot project FFC project #16/2017, was to characterize three very promising peptides (GVF27, HVA36 and IMY47) for their antimicrobial and anti-biofilm properties, alone or by combination therapy approaches, as well as analyse their possible biocompatibility on cultured epithelial cells and in vivo on murine models.

Essential Methods. The three peptides have been extensively characterized for their activities, alone or in combination with antibiotics, on a broad spectrum of CF clinical isolates. We have also evaluated their anti-biofilm properties (by static and co-culture experiments), their affinity for endotoxins (e.g. LPS) by CD analysis, their immunomodulatory properties (immunoenzymatic assays) on LPS induced murine macrophages and bronchial epithelial cells and their toxicity in vivo on mice by CFaCore facility.

Results. All three cryptic peptides show significant antimicrobial activities (with MIC ranging from 2 to 10 mM) on CF clinical isolates, good affinity for LPS (HVA36 and GVF27) and LTA (GVF27) endotoxins, and significant antibiofilm properties (GVF27 and HVA36). Nevertheless IMY 47 is the only non-toxic when administered in vivo (by aerosol treatments and also by cutaneous injections) and moreover it presents in its sequence a cryptic potent anti-biofilm peptide (IMY25) that we have successfully produced and in vitro characterized. Starting from these observations, our future efforts will be dedicated to explore their therapeutic potentialities in cell-based and pre-clinical models of CF.

Conclusions. The development of novel therapies represents a priority to relieve life conditions of CF patients. Our studies point to potential use of novel anti-biofilm drugs of human origin, alone or combined with antibiotics, could crucially improve the treatment to eradicate bacterial lung invasion.

Analisi preclinica di tre peptidi antibiofilm di origine umana (GVF27, HVA36 e IMY47): efficacia contro patogeni polmonari e studi in vivo su modelli animali

Ragioni dello Studio. I biofilm microbici sono la causa alla base delle infezioni persistenti nei polmoni dei pazienti affetti da fibrosi cistica. La formazione e il mantenimento dei biofilm dipende in modo critico dalla presenza di sostanze extracellulari che interconnettono i batteri. I biofilm presentano un'elevata resistenza verso la maggior parte dei composti antimicrobici e questo alto livello di resistenza dipende da molteplici fattori associati ai cambiamenti adattativi nell'espressione genica che accompagnano lo stato di crescita del biofilm e le proprietà intrinseche delle strutture del biofilm, che fungono da barriera fisica alla penetrazione dell'antibiotico. Per questo motivo sono necessari nuovi farmaci, alternativi agli antibiotici convenzionali, per combattere specificamente i patogeni in grado di formare biofilm. A tal proposito i peptidi di difesa dell'ospite (HDP) rappresentano una alternativa interessante sia per la loro tossicità selettiva sia per le loro molteplici proprietà immuno-modulatorie. Nell'ambito del progetto FFC#20/2014 abbiamo identificato e studiato diversi nuovi HDP umani. Alcune di queste molecole hanno caratteristiche interessanti e per questo motivo abbiamo approfondito il loro studio nella prospettiva di nuove possibili terapie FC, nel progetto pilota FFC#16/2017.

Ipotesi e Obiettivi. Lo scopo di questo progetto pilota era quello di caratterizzare tre peptidi molto promettenti (GVF27, HVA36 e IMY47) per le loro proprietà antimicrobiche e anti-biofilm, da soli o in combinazione con antibiotici, nonché analizzare la loro possibile biocompatibilità su cellule epiteliali in coltura e in vivo su modelli murini.

Metodi essenziali. I tre peptidi sono stati ampiamente caratterizzati per le loro attività, da soli o in combinazione con antibiotici, su un ampio spettro di isolati clinici FC. Abbiamo anche valutato le loro proprietà anti-biofilm (mediante esperimenti in condizioni statiche e in flusso continuo), la loro affinità per le endotossine (es. LPS) mediante analisi CD, le loro proprietà immunomodulatorie (saggi immunoenzimatici) su macrofagi murini e cellule epiteliali bronchiali umane indotte da LPS e la loro tossicità (GVF27 e IMY47) in vivo mediante il servizio FFC CFaCore.

Risultati. Tutti e tre i peptidi criptici mostrano significative attività antimicrobiche (con MIC che vanno da 2 a 10 μM) sugli isolati clinici CF, buona affinità per le endotossine LPS (HVA36 e GVF27) e LTA (GVF27) e significative proprietà antibiofilm (GVF27 e HVA36). Tuttavia IMY47 è l'unico non tossico quando somministrato *in vivo* (mediante trattamenti aerosol e anche da iniezioni sottocutanee) e inoltre presenta nella sua sequenza un potente peptide anti-biofilm (IMY25) criptico che abbiamo prodotto con successo e caratterizzato *in vitro*. Partendo da queste osservazioni, i nostri sforzi futuri saranno dedicati a esplorare le loro potenzialità terapeutiche in modelli cellulari e pre-clinici di FC.

Conclusioni. Lo sviluppo di nuove terapie rappresenta una priorità per alleviare le condizioni di vita dei pazienti FC. I nostri studi puntano all'uso potenziale di nuovi farmaci anti-biofilm di origine umana, utilizzabili da soli o in combinazione con antibiotici, che potrebbero migliorare in modo cruciale il trattamento terapeutico per sradicare l'invasione batterica dai polmoni.

53. *In vitro* and *in vivo* efficacy of an antimicrobial and antibiofilm designed peptidomimetic against CF lung pathogens

Notomista E, Pizzo E

Università degli Studi di Napoli Federico II, Dip. di Biologia (FFC#18/2018, New)



Eugenio Notomista, secondo a destra, responsabile, con Elio Pizzo, partner, primo a destra, e collaboratori del progetto

Background and Rationale. Pathogenic bacteria easily develop resistance to conventional antibiotics, moreover the formation of biofilm further increases resistance. This urges the development of new antimicrobials for the treatment of biofilm-associated chronic infections. Antimicrobial peptides (AMPs), active on both actively dividing and resting cells, very rarely induce the onset of resistant strains. Moreover, they often show antibiofilm and anti-inflammatory activities. Unfortunately, AMPs are very sensitive to host and bacterial proteases thus showing too short half life *in vivo*. A possible solution is to develop antimicrobial peptidomimetics structurally and functionally similar to AMPs but resistant to proteases.

Hypothesis and objectives. The main aim of this project is to confirm the efficacy *in vitro* and *in vivo* of P13#1, an antimicrobial peptidomimetic (a peptoid) designed to mimic cathelicidins, natural AMPs with antimicrobial, antibiofilm and anti-inflammatory activity.

Preliminary results. P13#1 is the most active of several antimicrobial peptoids designed in our laboratory. It has MIC = 2 μM on GBS BC105 and 25 μM on *S. aureus* Newman. P13#1 also inhibits GBS biofilm formation at doses lower than the MIC and, at 0.5 μM , enhances 4-6 times the antibiofilm activity of spectinomycin. In the air pouch model, P13#1 protected mice from *S. aureus* Newman infection with

efficacy similar to ampicillin and gentamycin and reduced inflammation. The efficacy of P13#1 on *P. aeruginosa* has not been tested yet, but the peptoids that preceded it were active on CF strains of *P. aeruginosa*.

Essential methods. As P13#1 has already shown its efficacy against *S. aureus* *in vitro*, its efficacy (alone and in combination with antibiotics) will be assayed in a mouse model of *S. aureus* lung infection. Preliminarily, toxicity and biodistribution will be assessed. Efficacy will be evaluated *in vitro* against other *S. aureus* and *P. aeruginosa* strains from CF patients. Anti-inflammatory and LPS-neutralizing activity will be studied. Depending on the positive outcome of this phase the efficacy *in vivo* will be determined also in mice infected with *P. aeruginosa*.

Expected results and their significance. P13#1 is an innovative antimicrobial agent mimicking natural AMPs with antimicrobial, antibiofilm and anti-inflammatory activity. Therefore it could be used in CF lung disease to potentiate the activity of conventional antibiotics thus allowing to reduce their therapeutic doses and to delay the onset of resistant strains.

Efficacia *in vitro* e *in vivo* di un peptidomimetic antimicrobico e antibiofilm contro patogeni polmonari rilevanti nella fibrosi cistica

Ragioni dello studio. I batteri patogeni sviluppano facilmente resistenza agli antibiotici, inoltre la formazione di biofilm ne aumenta ulteriormente la resistenza. Pertanto è urgente lo sviluppo di nuovi antimicrobici per il trattamento delle infezioni croniche associate alla formazione di biofilm. I peptidi antimicrobici (AMP) raramente inducono la comparsa di ceppi resistenti e spesso mostrano attività antinfiammatoria ed antibiofilm. Sfortunatamente, gli AMP sono molto sensibili alle proteasi e questa sensibilità determina un'emivita *in vivo* troppo breve, riducendone le potenzialità farmacologiche. Una possibile soluzione è lo sviluppo di peptidomimetici antimicrobici strutturalmente e funzionalmente simili agli AMP ma resistenti alle proteasi.

Ipotesi e obiettivo. L'obiettivo principale di questo progetto è quello di confermare l'efficacia *in vitro* e *in vivo* di P13#1, un peptidomimetic antimicrobico (un peptoid) progettato per imitare le catelicidine, AMP naturali con attività antimicrobica, antibiofilm e antinfiammatoria.

Risultati preliminari. P13#1 è il più attivo di una serie di peptoidi antimicrobici progettati nel nostro laboratorio. Ha mostrato MIC di 2 μM su streptococchi di gruppo B (GBS) e 25 μM su *Staphylococcus aureus* Newman. A dosi inferiori alla MIC P13#1 inibisce la formazione del biofilm di GBS e aumenta l'attività antibiofilm della spectinomycin. In un modello murino di infezione cutanea da *S. aureus*, P13#1 ha mostrato un'efficacia simile ad ampicillina e gentamicina ed ha ridotto l'infiammazione. L'efficacia di P13#1 su *P. aeruginosa* non è stata ancora valutata ma i peptoidi che lo hanno preceduto erano attivi sui ceppi CF di questo patogeno.

Metodi. Poiché P13#1 ha già dimostrato efficacia contro *S. aureus*, verrà impiegato in un modello murino di infezione polmonare da *S. aureus*. Allo stesso tempo verrà valutata l'efficacia *in vitro* su ceppi clinici CF sia di *S. aureus* che di *P. aeruginosa* e l'attività antinfiammatoria e la capacità di neutralizzare i lipopolisaccaridi. Se P13#1 si dimostrerà attivo anche su *P. aeruginosa*, l'efficacia *in vivo* sarà determinata anche utilizzando questo patogeno.

Risultati attesi e loro significato. P13#1 è un agente antimicrobico innovativo che imita gli AMP naturali con attività antimicrobica, antibiofilm e antinfiammatoria. Pertanto potrebbe essere usato nella terapia della malattia polmonare da fibrosi cistica per potenziare l'attività degli antibiotici convenzionali permettendo così di ridurre le dosi terapeutiche e di ritardare l'insorgenza di ceppi resistenti.

NON-TUBERCOLOUS MYCOBACTERIA AND ASPERGILLUS IN CF

54. Identification of new efflux pumps inhibitors able to contrast nontuberculous mycobacterial infections in cystic fibrosis patients

Cannalire R¹, Felicetti T¹, Astolfi A¹, Barreca ML¹, Manfroni G¹, Schoubben AM¹, Cecchetti V¹, Viveiros M², Sabatini S¹

¹Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Università di Perugia, ²Unidade de Microbiologia Medica, Global Health and Tropical Medicine, GHTM, Instituto de Higiene e Medicina Tropical, IHMT, Universidade NOVA de Lisboa, UNL, Lisboa, Portugal (FFC#17/2017, Concluded)



Stefano Sabatini, terzo da sinistra, con i ricercatori che collaborano al progetto

Background and rationale. Non-tuberculous mycobacteria (NTM) are very difficult to eradicate pathogens and in cystic fibrosis (CF) patients are often associated to serious chronic infections (about 10%). *M. avium* causes almost half of the infections and rapidly develops resistance due to the overexpression of efflux pumps (EPs) able to extrude from the cell antimycobacterial agents such as macrolides. Therefore, inhibiting EPs is a promising strategy to contrast these infections, restoring the sensitivity of mycobacteria to ineffective drugs and preventing the microorganism from developing specific resistance mechanisms.

Hypothesis and objectives. The main aim of the project was the development of *M. avium* EP inhibitors (EPIs) able to synergize the activity of antibacterial agents that are now obsolete and thus open the way to a new anti-infective strategy that can improve the lifestyle of CF patients.

Essential methods. In this project, by exploiting a multidisciplinary approach including drug-design, chemical synthesis and biological evaluations, we performed the chemical optimization of compounds with a 3-phenylquinolone scaffold previously identified by us as *M. avium* EPIs. The compounds designed and synthesized have been preliminarily tested against *M. smegmatis* to evaluate EPI activity and on human cells (macrophages) to determine toxicity. The best compounds in terms of toxicity/activity ratio have been advanced against *M. avium*.

Results. Our studies have led to the identification of some new molecules with a high inhibitory potency of EPs and one of these in particular is able to enhance the activity of antibiotics such as clarithromycin, which is a drug of choice for the NTM infections treatment, and ciprofloxacin against *M. avium*, at lower concentrations than those toxic to macrophages.

Conclusions. Considering the field of NTMs EPIs, this compound has the best toxicity/activity profile ever shown and can represent a new starting point for further optimization aimed at identifying preclinical candidates.

Identificazione di nuovi inibitori delle pompe di efflusso in grado di contrastare le infezioni di micobatteri non-tubercolari in pazienti con fibrosi cistica

Ragioni dello studio. I micobatteri non-tubercolari (NTM) sono patogeni molto difficili da debellare e nei pazienti con fibrosi cistica (FC) sono spesso associati a serie infezioni croniche (circa 10%). *M. avium* causa quasi la metà delle infezioni e sviluppa rapidamente resistenza a causa della sovraespressione di pompe di efflusso (EP) in grado di estrarre dalla cellula agenti antimicobatterici come i macrolidi. Pertanto, inibire le EP è una promettente strategia per contrastare tali infezioni, ripristinando la sensibilità dei micobatteri a farmaci ormai inefficaci e impedendo al microorganismo di sviluppare meccanismi di resistenza specifici.

Ipotesi e obiettivi. Lo scopo principale del progetto è stato lo sviluppo di inibitori delle EP (EPI) di *M. avium* in grado di sinergizzare l'attività di antibatterici ormai obsoleti e quindi aprire la strada verso una nuova strategia anti-infeziva che possa migliorare lo stile di vita dei pazienti con FC.

Metodi essenziali. In questo progetto, sfruttando un approccio multidisciplinare comprendente il drug-design, la sintesi chimica e le valutazioni biologiche, abbiamo eseguito l'ottimizzazione chimica di composti a struttura 3-fenilchinolonica precedentemente da noi identificati come EPI di *M. avium*. I composti disegnati e sintetizzati sono stati testati preliminarmente contro *M. smegmatis* per valutare l'attività EPI e su cellule umane (macrofagi) per determinare la tossicità. I migliori composti in termini di bilancio fra tossicità e attività sono stati avanzati in studi contro *M. avium*.

Risultati. I nostri studi hanno portato all'identificazione di alcune nuove molecole dotate di elevata potenza inibitoria delle EP e una di queste in particolare in grado di potenziare l'attività di antibatterici quali claritromicina, uno dei farmaci d'elezione nel trattamento di infezioni da NTM, e ciprofloxacina contro *M. avium*, a concentrazioni inferiori a quelle tossiche per i macrofagi.

Conclusioni. Considerando il panorama degli EPI dei NTM, questo composto possiede il miglior profilo tossicità/attività mai mostrato e può rappresentare un nuovo punto di partenza per un'ulteriore ottimizzazione volta ad individuare candidati preclinici.

55. Establishment of animal model to investigate pathogenesis of infection by Mycobacterium abscessus complex members in cystic fibrosis patients

Riva C¹, Gona F¹, Rossi M¹, Cigana C², Bragonzi A², Cirillo DM¹, Tortoli E¹

¹Emerging Bacterial Pathogens Unit, IRCCS San Raffaele Scientific Institute, Milano, Italy, ²Infections and Cystic Fibrosis Unit, IRCCS San Raffaele Scientific Institute, Milano, Italy (FFC#20/2017, Concluded)

Background and rationale. *M. abscessus* (MA) is one of the most frequently isolated non tuberculous mycobacteria (NTM) in patients with cystic fibrosis (CF). Despite the reports on increasing prevalence of MA, including multidrug resistant strains, its pathogenic role is still controversial, due to the limitations of the available cellular and animal models used to study MA infection.

Hypothesis and objectives. Our hypothesis is that strains of MA isolated from patients with deteriorated lung function-



Enrico Tortoli, secondo da sinistra, responsabile, con i ricercatori del progetto

ality may differ in pathogenicity from the ones isolated from asymptomatic patients. For this reason we investigated the pathogenicity of the MA subspecies (subs) to identify the patients who could benefit from antimicrobial treatment.

Methods. MA subs reference strains (MA abscessus, MA bolletii and MA massiliense) and isolates from CF patients were used to establish chronic infection, using the agar beads method, in WT and CF mice up to six months. Pulmonary mice lesions were monitored by magnetic resonance imaging (MRI) and at different time points mice lungs were processed for microbiological analysis, inflammatory response and histological evaluation.

Results. Using different reference and clinical strains of MA subs we were able to establish a long-term (up to 3 months) chronic lung infection in WT and CF mice with a stable bacterial load ($\sim 1 \times 10^5$ CFU). After 6 months of MA infection the lung was still characterized by a granulomatous response with aggregation of lymphocytes and macrophages despite, at this time point, some animals had cleared the lung infection. The persistence of lung lesions was also confirmed by the quantification of the infectious foci made possible with MRI. The inflammatory response in bronchoalveolar lavage fluid was not statistically different from the one of control mice while in total lung the level of cytokines/chemokines (TNF- α , IFN- γ , GM-CSF, IL-1 β and KC) was sustained during the all course of MA infection.

Conclusions. We could therefore establish, for the first time, a model of chronic MA lung infection with minimal systemic involvement in immune-competent mice. The availability of this murine model and the longitudinal MRI monitoring of mice will hopefully allow to identify the MA isolates responsible for severe disease and to investigate in vivo the impact of novel therapeutic protocols.

Messa a punto di un modello animale per lo studio della patogenesi dell'infezione da membri del *Mycobacterium abscessus* complex in pazienti con fibrosi cistica

Ragioni dello studio. *M. abscessus* (MA) è fra i micobatteri non tubercolari più frequentemente isolati da pazienti affetti da fibrosi cistica (FC). Nonostante l'aumento della prevalenza di MA e l'elevata multiresistenza, il ruolo patogenico rimane ancora da chiarire a causa dei limiti dei modelli animali utilizzati finora per lo studio dell'infezione da MA.

Ipotesi e obiettivi. La nostra ipotesi è che la patogenicità di ceppi di MA isolati da pazienti con funzionalità polmonare compromessa possa differire da quella dei ceppi isolati da pazienti asintomatici. Abbiamo quindi messo a punto un modello murino di infezione polmonare cronica per studiare la patogenicità dei diversi ceppi di MA e per identificare i pazienti che potrebbero beneficiare del trattamento antibiotico.

Metodi. Ceppi di riferimento di MA (MA abscessus, MA bolletii and MA massiliense) e ceppi clinici provenienti da

pazienti affetti da FC sono stati utilizzati per infettare cronicamente, fino a 6 mesi, topi WT e topi FC. Le lesioni polmonari degli animali sono state monitorate con la risonanza magnetica e i polmoni sono stati processati per la conta batterica, la risposta infiammatoria e l'analisi istopatologica.

Risultati. Utilizzando sia ceppi clinici che di riferimento di MA, siamo stati in grado di stabilire infezione polmonare cronica, con una carica batterica stabile ($\sim 1 \times 10^5$ CFU) fino a 3 mesi, in topi FC e WT. Dopo 6 mesi di infezione il parenchima polmonare risultava ancora caratterizzato dalla presenza di flogosi granulomatosa ricca di linfociti e macrofagi nonostante che, a questo time point, molti animali avessero eradicato l'infezione. La persistenza delle lesioni polmonari è confermata anche dalla quantificazione dei loci infiammatori resa possibile dall'impiego della risonanza magnetica. La risposta infiammatoria a livello bronchiale non è risultata differire, in maniera statisticamente significativa da quella degli animali utilizzati come controllo mentre le analisi sul polmone totale hanno rivelato alti livelli di citochine e chemochine (TNF- α , IFN- γ , GM-CSF, IL-1 β and KC) durante tutto il corso dell'infezione.

Conclusioni. Grazie alla disponibilità, per la prima volta, di un modello murino di infezione cronica da MA, sarà possibile, con l'aiuto della risonanza magnetica, individuare precocemente i ceppi responsabili di malattia severa e di valutare in vivo nuovi protocolli di trattamento dell'infezione da MA.

56. Preclinical evaluation of liposomes carrying bioactive lipids as an immune therapeutic tool against in vivo infection with *Mycobacterium abscessus*

Riva C¹, Poerio N², Gona F¹, Rossi M¹, Tortoli E¹, Fraziano M², Cirillo DM¹

¹Emerging Bacterial Pathogens Unit, IRCCS San Raffaele Scientific Institute, Milano, Italy, ²Department of Biology, University of Rome "Tor Vergata", Rome, Italy (FFC#16/2018, New)



Daniela Maria Cirillo, responsabile del progetto

Background and rationale. *M. abscessus* (MA) is an emerging multidrug resistance (MDR) non-tuberculous mycobacterium (NTM) often associated with a dramatic decline in lung function and even death in cystic fibrosis (CF) patients. Development of new therapeutic tools against MA, less toxic than in use antimicrobial drugs, is a priority. Liposomes carrying bioactive lipids have been recently demonstrated able to enhance bactericidal innate immunity against multidrug resistant (MDR) pulmonary infections.

Hypothesis and objectives. The main goal of the present study is to assess the therapeutic effect of different liposome formulations on MA pulmonary disease progression. The mu-

rine model of long-term chronic MA lung infection, recently established in our laboratory, will be used to identify the best liposome formulation able to control MA chronic infection. In addition we will evaluate the synergistic effect of the selected liposome with antibiotics used for MA pulmonary disease.

Material and methods. WT mice chronically infected with MA abscessus will be treated with different liposomes carrying bioactive lipids. Then antibiotics (clarithromycin and amikacin) in combination with the selected liposome will be validated in WT and CF mice chronically infected with MA. At different time points, mice lungs, liver and spleen will be processed for microbiological analysis. Inflammatory response and histological analysis will be evaluated in total lungs.

Preliminary results. We have demonstrated that MA reference and clinical strains were able to persist in the lung of WT and CF mice up to 90 days with a stable bacterial load where it forms organized granulomas, enriched of macrophages and lymphocytes, closely mimicking the damage observed in humans. Furthermore Fraziano et al demonstrated that liposomes carrying bioactive lipids increased the activity of CF macrophages and they had an antimicrobial effect on *M. tuberculosis* (MTB), both *in vitro* and in a mouse model of tuberculosis (TB) *in vivo*.

Expected results and spin-off. We expect to identify a combined treatment that may enhance innate antibacterial response against MA infection and to increase the killing capacity of macrophages with CF mutations. Liposomes delivering bioactive lipid could represent a novel immunotherapeutic strategy to treat pulmonary infection by drug-resistant MA in CF patients.

Studio preclinico *in vivo* di un approccio immunoterapico basato su liposomi bioattivi per il controllo dell'infezione causata da *Mycobacterium abscessus*

Ragioni dello studio. *M. abscessus* (MA) è un patogeno emergente multi-resistente che colpisce pazienti affetti da fibrosi cistica (FC) ed è spesso associato a un drammatico declino delle funzioni polmonari. Lo sviluppo di nuovi approcci terapeutici, meno tossici dei farmaci antimicrobici, sono estremamente urgenti per combattere l'infezione da MA. Recentemente sono stati sviluppati dei liposomi contenenti lipidi bioattivi che hanno la capacità di potenziare l'attività batterica dell'immunità innata, contro le infezioni polmonari date da patogeni multi-resistenti.

Ipotesi e obiettivi. Il principale obiettivo di questo studio sarà quello di valutare l'effetto terapeutico di differenti formulazioni di liposomi sulla progressione della malattia polmonare indotta da MA. Il modello murino di infezione polmonare cronica da MA verrà utilizzato per identificare la migliore formulazione di liposomi contro l'infezione da MA e per valutare l'effetto sinergico del liposoma selezionato con gli antibiotici comunemente utilizzati per la malattia polmonare causata da MA.

Metodi essenziali. Topi WT verranno infettati cronicamente con MA e saranno trattati con liposomi contenenti diversi lipidi bioattivi. Il liposoma più promettente verrà selezionato per essere testato in combinazione con antibiotici (claritromicina e amikacina). A diversi "time point" valuteremo la carica batterica nel polmone, nel fegato e nella milza murina. Inoltre a livello polmonare analizzeremo la risposta infiammatoria e eseguiremo l'analisi istologica.

Risultati preliminari. Abbiamo dimostrato che ceppi clinici e di riferimento di MA sono in grado di persistere nel polmone di topi WT e CF fino a 90 giorni con una carica batterica stabile formando granulomi caratterizzati dalla presenza di macrofagi e linfociti, riproducendo il danno polmonare osservato nell'uomo. Inoltre Fraziano et al. hanno recentemente dimostrato che i liposomi hanno la capacità di aumentare

l'attività dei macrofagi e hanno un effetto antimicrobico sul batterio *M. tuberculosis* (MTB), sia *in vitro* che in un modello murino di tubercolosi *in vivo*.

Conclusioni. Ci aspettiamo di identificare un trattamento combinato che sia in grado di aumentare l'attività antimicrobica dell'immunità innata e di aumentare la capacità di killing dei macrofagi FC. Questi liposomi potrebbero rappresentare una nuova strategia immunoterapica per trattare l'infezione polmonare causata da MA multi-resistenti nei pazienti affetti da FC.

57. New weapons against *Mycobacterium abscessus* and other nontuberculous mycobacteria

Degiacomi G¹, Sammartino JC¹, Chiarelli LR¹, Makarov V², Pasca MR¹

¹Dipartimento di Biologia e Biotecnologie "Lazzaro Spallanzani", Pavia, ²Federal Research Center "Fundamentals of Biotechnology" of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia (FFC#19/2018, New)



Maria Rosalia Pasca, in basso a sinistra, con i ricercatori che collaborano al progetto

Background and rationale. Nontuberculous mycobacteria (NTM) are recently emerging as important pathogens in cystic fibrosis (CF) lung disease worldwide. The estimated NTM prevalence in CF is approximately 9%; unfortunately, this number is growing. *Mycobacterium avium* complex and *Mycobacterium abscessus* complex include the NTM species most commonly identified in CF; *Mycobacterium abscessus* is the most spread species in Europe. Moreover, recent studies revealed the possibility of a direct person-to-person *M. abscessus* transmission. *M. abscessus* therapy is more complex, long and challenging than the treatment of other NTM because of the high level of drug resistance. Standard of care results in 18–24 months of treatment: a macrolide is given with parenteral antibiotics, e.g. an aminoglycoside and either cefoxitin, imipenem or tigecycline. The *M. abscessus* treatment is further complicated by the diffusion of macrolide resistance. In these cases, the surgical resection of infected lung tissue could be beneficial in selected patients. Additionally, unsuccessful *M. abscessus* eradication is considered a contraindication for lung transplantation, being associated with treatment failure and increased mortality.

Hypothesis and objectives. Owing to the poor treatment outcomes and lengthy treatment duration, there is an urgent need to develop more effective drugs, in particular against *M. abscessus*. Consequently, the main goals of our project are the following: 1. Screening of a library of 500 compounds synthesized by Dr. V. Makarov, our external collaborator, against *M. abscessus* growth. 2. Evaluation of the sensitivity of other NTM species and clinical isolates to selected compounds. 3. Furthermore, Dr. Makarov is synthesizing new classes of compounds, hoping to find novel molecules active against *M.*

abscessus. 4. Characterization of the mechanism of action/resistance of the active compounds.

Essential methods. Taking advantage of our experience and of the already established collaborations in the tuberculosis field, we would like to move our expertise in the new challenging NTM research.

Preliminary results. The screening of the compounds against *M. abscessus* growth is in progress.

Conclusions. The characterization of the compounds active against *M. abscessus* growth will give us information about their mechanism of action/resistance. In the future, these compounds will be tested *in vivo* in order to find more effective weapons against *M. abscessus* and other NTM.

Nuove armi contro *Mycobacterium abscessus* e altri micobatteri non tubercolari

Ragioni dello studio. Recentemente i Micobatteri non tubercolari (NTM) stanno emergendo in tutto il mondo come importanti patogeni fra i pazienti affetti da fibrosi cistica (FC). L'incidenza stimata di infezioni da NTM è di circa il 9% nei pazienti con FC; sfortunatamente, questo numero è in crescita. *Mycobacterium abscessus* è la specie più diffusa in Europa. Inoltre, studi recenti hanno rivelato la possibilità di una trasmissione diretta, da persona a persona, di *M. abscessus*. La terapia contro *M. abscessus* dura circa 18-24 mesi ed è più complessa e lunga rispetto al trattamento degli altri NTM a causa dell'alto livello di resistenza ai farmaci. In caso di resistenza ai macrolidi, potrebbe essere utile la resezione chirurgica del tessuto polmonare infetto in pazienti selezionati. Inoltre, il fallimento del trattamento antibiotico contro *M. abscessus* è considerato una controindicazione per il trapianto di polmone, essendo associato ad aumento della mortalità.

Ipotesi e obiettivi. A causa degli scarsi risultati della terapia e della lunga durata del trattamento, bisogna urgentemente sviluppare farmaci più efficaci, in particolare contro *M. abscessus*. Gli obiettivi principali del nostro progetto sono dunque i seguenti: 1. Screening di una libreria di 500 composti sintetizzati dal Dr. V. Makarov, un nostro collaboratore, per la loro capacità d'inibire la crescita di *M. abscessus*. 2. Valutazione della sensibilità di altre specie di NTM e di isolati clinici ai composti selezionati. 3. Inoltre, il Dr. Makarov sta sintetizzando nuove classi di composti al fine di trovare nuove molecole attive contro *M. abscessus*. 4. Caratterizzazione del meccanismo di azione/resistenza degli eventuali composti attivi.

Metodi essenziali. Approfondendo della nostra esperienza e delle collaborazioni già consolidate nel campo della tubercolosi, vorremmo trasferire le nostre conoscenze in questa nuova ricerca contro gli NTM.

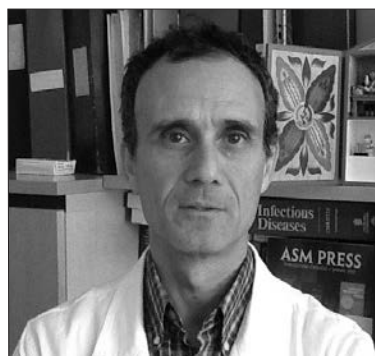
Risultati preliminari. È in corso lo screening dei composti contro la crescita di *M. abscessus*.

Conclusioni. La caratterizzazione dei composti attivi contro *M. abscessus* ci fornirà informazioni sul loro meccanismo di azione/resistenza. In futuro, questi composti saranno testati *in vivo* per trovare armi più efficaci contro *M. abscessus* e altri NTM.

58. *Aspergillus* pulmonary disease in cystic fibrosis (CF) patients: multicentre perspective observational study based on new diagnostic tests to evaluate the prognostic value on the CF disease

Bartoloni A¹, Viscoli C², Cariani L³, Fiscarelli EV⁴
¹Unità Infezione e Malattie Tropicali, Azienda Ospedaliero-Universitaria Careggi, Firenze ²Div. Malattie Infettive, Università di Genova, Ospedale San Martino, Genova ³Lab.

Analisi, Microbiologia FC, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano ⁴Lab. Microbiologia FC, Ospedale Bambino Gesù, Roma (FFC#26/2018, New)



Alessandro Bartoloni, responsabile del progetto

Background and rationale. *Aspergillus* spp may be isolated from respiratory samples in cystic fibrosis (CF) patients without signs or symptoms, but the benefit of antifungal therapy is debated. The differential diagnosis is complicated by the difficulty to discern between the potential symptoms of *Aspergillus* infection and of those CF complications. Recently, Baxter et al proposed a new classification of aspergillosis in CF patients, based on the results of real-time PCR and galactomannan (GM) test in sputum, combined with serological tests.

Objectives. The objective of the study is to determine the clinical impact of *Aspergillus* spp infection in CF patients, with the aim of investigating the role of diagnostic tests and of defining the diagnostic and therapeutic approach to the *Aspergillus* infection.

Essential methods. We will enroll CF patients, referred to 4 Italian Cystic Fibrosis Center (Florence, Genoa, Milan, Rome). We will enroll CF patients 18 years old with available pulmonary imaging and we will collect demographic and clinical data from medical records. The enrolled patients will perform a sputum sample for microbiological culture, GM and *Aspergillus* RT-PCR, and a blood test for detection of total and specific IgE and specific IgG. The patients will be classified according to the results of the tests and they will be evaluated for the prescription of antifungal therapy. Every six months, enrolled patients will perform clinical control, lung function tests, sputum culture and GM. The enrolling time is of 6 months and the follow up time of 18 months.

Preliminary results. The usefulness of recently proposed Baxter's classification, the use of sputum GM and the benefit of antifungal therapy are a topic of debate between the clinicians and in our knowledge, prospective studies on adult CF patients are not available.

Conclusions. The project could provide new insights into the role of *Aspergillus* in the progression of CF lung disease and the role in lung function decline. To our knowledge, no prospective studies on CF patients are available. In this perspective, Laboratory should be able to perform specific tests, such as *Aspergillus* RT-PCR and GM test on sputum. Applying the new classification through the implementation of new microbiological tests, we will allow to evaluate the natural history of different manifestations of *Aspergillus* disease and the effects of antifungal therapy on the clinical outcome and the lung function.

Malattia polmonare da *Aspergillus* nei pazienti affetti da fibrosi cistica (FC): studio multicentrico osservazionale prospettico basato sull'utilizzo di nuovi test diagnostici per valutare il ruolo prognostico sulla malattia polmonare dei pazienti con FC

Ragioni dello studio. *Aspergillus* è un fungo, al quale risuliamo frequentemente esposti nella vita quotidiana e che talvolta è responsabile di malattia. Può essere isolato dai campioni respiratori di pazienti affetti da fibrosi cistica, in assenza di una sintomatologia associata, per cui è dibattuta l'effettiva necessità di un trattamento. I sintomi non specifici, ma spesso simili ai sintomi di una riacutizzazione polmonare, e l'assenza di test diagnostici, che garantiscano una diagnosi di certezza, rendono complicata l'individuazione di soggetti che potrebbero beneficiare di un trattamento antifungino.

Obiettivi principali. Utilizzare la combinazione di test diagnostici, al fine di aumentare la sensibilità, per individuare pazienti con infezione da *Aspergillus* che potrebbero giovare di un trattamento antifungino.

Metodi essenziali. Saranno arruolati pazienti con fibrosi cistica di età superiore a 18 anni, afferenti a 4 Centri italiani di Riferimento per la Fibrosi Cistica (Firenze, Genova, Milano, Roma). Per ogni paziente verrà richiesto un campione di espettorato, sul quale verranno eseguiti esami microbiologici

ci, biomolecolari (real-time-PCR per *Aspergillus*) e sierologici (galattomannano), e un esame ematico per la ricerca di anticorpi specifici per *Aspergillus*. In base al risultato di tali test, verrà stabilita la necessità di un trattamento antifungino. I pazienti arruolati saranno valutati ogni 6 mesi con test di funzionalità respiratoria, esame dell'espettorato e esami sierologici.

Risultati attesi. Comprendere il ruolo di *Aspergillus* nella progressione della malattia polmonare dei pazienti affetti da fibrosi cistica. L'utilizzo di test combinati tra loro permetterà di classificare i pazienti in base alle recenti evidenze di letteratura e di stabilire la necessità di un trattamento. Il monitoraggio permetterà di valutare l'efficacia della terapia e di individuare evoluzioni della malattia da *Aspergillus*.

Conclusioni. Un accurato inquadramento della malattia da *Aspergillus* permetterà non solo di limitare le eventuali riacutizzazioni causate da *Aspergillus*, ma anche di individuare in fase pre-trapianto i soggetti necessitanti di un trattamento, con un possibile miglioramento del decorso della malattia.

PLENARY SESSION 9

CORRECTIVE APPROACHES FOR NON-F508del-CFTR MUTATIONS AND GENE-CELL THERAPY

59. *SpliceFix: fixing splicing defects in the CFTR gene through CRISPR/Cas9 technology*

Maule G¹, Casini A¹, Montagna C¹, Arosio D², Debyser Z³, Carlon M³, Petris G¹, Cereseto A¹

¹Centre for Integrative Biology (CIBIO), University of Trento, Italy, ²Institute of Biophysics, National Research Council and Bruno Kessler Foundation, Trento, Italy, ³Laboratory for Molecular Virology and Gene Therapy, Department of Pharmaceutical and Pharmacological Sciences, KU Leuven, Belgium (FFC#1/2017, In progress)



Anna Cereseto, responsabile del progetto

Background/Rationale. A significant number of mutations (~13%) alter the correct splicing of the CFTR gene, causing the production of aberrant mRNA transcripts and non-functional protein channels. The 3242-26A>G is a point mutation that creates a new acceptor splice site causing the abnormal inclusion of 25 nucleotides within exon 20. The resulting mRNA contains a frameshift in CFTR, producing a premature termination codon and consequent expression of a truncated non-functional CFTR protein. With this project we will investigate an efficient genome editing approach to permanently correct this splicing defect.

Hypothesis and Objectives. The development of precise and efficient targeted nucleases has highly accelerated the progress of gene correction for genetic diseases, including

Cystic Fibrosis (CF). In contrast to classical gene addition strategies, correction of the mutated CFTR by genome editing holds the promise to restore physiological levels of CFTR expression and function. We developed a genome editing strategy to repair 3272-26A>G (c.3140-26A>G) mutation through the exploitation of RNA guided nucleases (SpCas9 or AsCas12a). CFTR splicing models have been studied to design and develop a safe CRISPR/Cas dedicated approach aimed at restoring the correct CFTR gene expression. The technology was adapted to viral vectors and applied to model organoids derived from patient's primary cells.

Essential methods. Minigene constructs and cellular models were used to optimize the genome editing approach. We evaluated two approaches to edit intron 19 to repair the splicing defect, based on deletion by two gRNAs or using only one gRNA, using SpCas9 or AsCas12a. To test the efficacy of the genome editing method we used a novel Chloride sensor to finely measure CFTR activity. The correction of the splicing defect was genetically and functionally evaluated in organoids derived from patient compound heterozygous for the 3272-26A>G splicing mutation.

Results. We generated a minigene-construct to efficiently model the 3272-26A>G CFTR splicing defect. The analyses performed with the minigene models, either transiently or stably transfected in HEK293 cells and Caco-2 cells, revealed that the AsCas12a in combination with a selected guide RNA is a highly efficient and precise technique to repair the splicing defect.

Conclusions. Our results demonstrate that AsCas12a in combination with a single sgRNA efficiently rescue endogenous CFTR function in patient's intestinal organoids, which are recognised as a highly valuable preclinical model to predict ex vivo any success of a therapeutic treatment in human patients. Our results provide an important milestone towards the development of a successful gene therapy clinical approach for the treatment of splicing defects in Cystic Fibrosis.

SpliceFix: riparare difetti di splicing del gene CFTR tramite tecnologia CRISPR/Cas9

Razionale. Un elevato numero di mutazioni (~13%) altera lo splicing del gene CFTR, causando la formazione di trascritti mRNA non corretti e, di conseguenza, una proteina

non funzionale. La mutazione 3242-26A>G è una alterazione puntiforme che introduce un nuovo sito accettore di splicing, che causa l'inclusione di 25 nucleotidi provenienti dall'introne nel trascritto maturo. L'mRNA aberrante prodotto è caratterizzato da un frameshift che causa la formazione di un codone di stop prematuro e la produzione di una proteina tronca non funzionale. In questo progetto abbiamo messo a punto un approccio efficace di editing genomico in grado di modificare e correggere stabilmente tale difetto di splicing.

Ipotesi e Obiettivi. Lo sviluppo di nucleasi efficaci e specifiche per la modifica del DNA ha significativamente accelerato i progressi negli approcci di terapia genica per numerose malattie genetiche, compresa la Fibrosi Cistica. Diversamente dai sistemi tradizionali, modificare la sequenza mutata del gene *CFTR* mediante i nuovi strumenti di terapia genica consentirebbe di ripristinare i livelli fisiologici di espressione e la corretta funzionalità della proteina endogena. Nel nostro lavoro abbiamo sviluppato una strategia di riparo della mutazione 3272-26A>G (c.3140-26A>G) attraverso l'utilizzo delle nucleasi SpCas9 e AsCas12a, a partire dallo sviluppo di modelli di splicing dedicati. La tecnologia ottenuta è stata adattata all'utilizzo di vettori virali e applicata a modelli di organoide derivanti da cellule primarie di paziente.

Metodi. Minigeni di *CFTR* e modelli cellulari sono stati utilizzati per la validazione dell'approccio di correzione genica basato su CRISPR-Cas. In particolare, abbiamo sviluppato e verificato due approcci per editare l'introne 19 e correggere il difetto di splicing, basati sull'utilizzo di due guide a RNA per fare una delezione o una singola guida, sia per Cas9 che AsCas12a. Per saggiare l'efficacia della strategia abbiamo utilizzato un nuovo sensore del cloro al fine di misurare l'attività del CFTR. L'efficacia di correzione della mutazione è stata successivamente verificata in organoidi derivati da pazienti portatori della mutazione 3272-26A>G, valutando sia la correzione del trascritto di mRNA che la funzionalità della proteina CFTR.

Risultati. Al fine di ottenere un modello della mutazione abbiamo generato un costrutto (minigene) contenente il difetto di splicing 3272-26A>G, capace di modellare il difetto di splicing. L'analisi condotta sul minigene modello, sia trasfettato in transiente che stabilmente integrato in cellule HEK293 e in cellule CaCo-2, ha evidenziato che AsCas12a combinata al gRNA selezionato rappresenta un sistema efficiente per riparare il difetto di splicing.

Conclusioni. La strategia proposta per la correzione della mutazione di splicing 3272-26A>G, basata su AsCas12a, si è dimostrata essere efficace nel recupero della funzionalità di CFTR endogeno negli organoidi intestinali di paziente, che rappresentano un valido modello preclinico *ex vivo*. I risultati ottenuti forniscono una base importante per lo sviluppo futuro di un approccio clinico di terapia genica per il trattamento dei difetti di splicing che causano la Fibrosi Cistica.

60. Optimization of a new lead promoting the readthrough of nonsense mutations for the CFTR rescue in human CF cells

Lentini L¹, Melfi R¹, Baldassano S¹, Tutone M², Di Leonardo A¹, Pace A², Pibiri I²

¹Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche Chimiche e Farmaceutiche, Sez. Biologia Cellulare, Università degli Studi di Palermo, ²Dip. di Scienze e Tecnologie Biologiche Chimiche e Farmaceutiche, Sez. Chimica, Università degli Studi di Palermo (FFC#3/2017, In progress)

Background/Rationale. Cystic Fibrosis (CF) patients with nonsense (ns) mutations in the *CFTR* gene have a more severe form of the disease. A potential treatment is to promote trans-



Laura Lentini, responsabile, terza da destra, con Ivana Pibiri, quarta da destra, partner, e collaboratori di progetto

lational readthrough of premature termination codons (PTCs) by Translational Read-Through-Inducing Drugs (TRIDs).

Hypothesis and objectives. By computational and biological screening we identified, new small molecules showing high readthrough activity. Our intent was to optimize the lead molecule by QSAR study and to synthesize a small library of compounds as suggested by the computational study to evaluate the *CFTR* expression and functionality after treatments in CF model systems and the activity of new lead molecules, in cells expressing a nonsense-*CFTR*-mRNA (ns *CFTR*).

Essential Methods. QSAR carried out on the basis of our previous results (FFC#1/2014), was performed to achieve the lead optimization and to synthesize a small library of analogs to be tested. The project was aimed to assay the *CFTR* functionality after treatment with NV2445 molecule and its analogs in cells harboring the most frequent nonsense (ns) mutations of the *CFTR* gene. FRT cells engineered with a vector expressing ns*CFTR* were grown in the air-liquid culture system to reproduce *in vitro* the epithelial organization. *CFTR* expression was evaluated by Real time RT PCR and Western blot analysis. After treatments with NV2445, the channel functionality was measured by the EYFP quenching assay and Ussing chamber.

Results. We synthesized a small library of analogues of the NV2445 molecule and tested them by FLuc assay and in different biological models. These new compounds showed high read-through capacity and *CFTR* rescue.

Conclusions. Identification of molecules displaying read-through activity. Understanding their mechanism of action for PTC's readthrough.

Ottimizzazione di una nuova molecola per il superamento delle mutazioni di stop e il recupero della proteina CFTR in cellule umane FC

Ragioni dello studio. Le mutazioni nonsense (anche note come mutazioni stop) rappresentano circa il 10% delle mutazioni che interessano il gene *CFTR*. Pazienti affetti da fibrosi cistica che presentano questo tipo di mutazioni hanno una forma più grave della malattia. Spesso tali mutazioni si trovano anche associate alla classica $\Delta F508$. Un trattamento potenziale di questa alterazione genetica è quello di promuovere la translazione dei codoni di terminazione prematuri (PTCs) mediante uso di farmaci oggi noti come TRIDs (Translational Read-Through-Inducing Drugs).

Ipotesi e obiettivi. L'obiettivo di questo studio è quello di ottimizzare una nuova molecola individuata da noi in un precedente progetto FFC e valutare la funzionalità del canale CFTR dopo il trattamento con essa e i suoi analoghi in sistemi modello cellulari di fibrosi cistica.

Metodi essenziali. Abbiamo prodotto tre delle più diffuse mutazioni di stop che interessano il gene *CFTR* e ingegnerizzato cellule con costruzioni del gene mutato. Su tali sistemi modello e su cellule derivate da pazienti affetti da FC verrà va-

lutata la presenza e la funzionalità del canale dopo trattamento con i nostri farmaci. Inoltre, mediante dinamica molecolare e docking Stiamo cercando di individuare il bersaglio biologico di tali farmaci al fine di migliorarne la performance.

Risultati Mediante lo studio di relazioni quantitative struttura-attività QSAR, sulla base di dati preliminari, ci ha consentito di realizzare l'ottimizzazione della nostra nuova molecola NV2445 e sintetizzare una piccola libreria di analoghi da testare. Cellule contenenti un gene CFTR mutato sono state utilizzate come sistema modello in vitro per lo studio della funzionalità del canale. Tale attività è stata analizzata mediante saggi specifici e tramite la misura delle correnti del cloro.

Infine per completare lo studio, saranno condotti nel secondo anno di progetto dei test pre-clinici in vitro ed in vivo (Zebrafish) per stabilire il profilo di sicurezza del set di molecole sintetizzate.

Risultati attesi. Confidiamo sul fatto che i nostri studi porteranno alla convalida di una molecola con attività readthrough (superamento) per il recupero della funzione di CFTR. L'approccio preclinico rivelerà precocemente gli eventuali effetti tossici associati alla molecola in vivo.

Conclusioni. I risultati principali di questo progetto saranno quelli di ottenere una molecola con una buona attività di readthrough dei codoni di stop prematuri i quali rappresentano la seconda causa di mutazione nella fibrosi cistica.

61. Investigating CRISPR-CAS13b as a tool for the RNA editing of CFTR mRNA with premature stop codons

Melfi R, Cancemi P, Di Leonardo A

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche Chimiche e Farmaceutiche Università di Palermo, Italy (FFC#5 2018, New)



Aldo Di Leonardo, responsabile, con collaboratrici del progetto

Background and rationale. Around 13% of CF patients in Europe have been reported to be compound heterozygous or homozygous for a nonsense mutation in the CFTR gene that codes for transcripts with premature termination codons (PTCs) responsible for truncated CFTR protein. A potential treatment for these patients is to restore the full-length protein. CRISPR (Classes of Regularly Interspaced Palindromic Repeats) and Cas (Crispr-Associated) nuclease systems represent valuable tools for DNA/RNA based therapies for personalized medicine. Among these tools the novel system: REPAIRv2 (RNA Editing for Programmable A to I Replacement v2) seems potentially useful to restore the full-length protein by editing the mRNA harbouring a PTC. In the REPAIRv2 system the fusion of dCas13b to the adenosine deaminase domain (DD) of the ADAR2 enzyme is believed to achieve precise A to I editing, thus allowing correction of PTCs.

Hypothesis and objectives. With this project we aim to

set up the innovative REPAIRv2 system to edit in vitro the stop mutation (G>A transitions) in the H2BGFP reporter gene and then to apply this new molecular tool to edit CFTR transcripts with the PTC (UGA).

Essential methods. Specific spacer sequences needed to target the REPAIRv2 system to the Adenosine in the PTC will be cloned into the PspCas13b vector carrying the guide RNA, recognised by dCas13b, then this construct will be transfected with the plasmid dCAS13b/ADAR2_{DD} in cells expressing the mutant transcripts. Initially, the REPAIRv2 system will be used to edit the Adenosine of a PTC (UGA) in the H2BGFP mRNA and successful full-length H2BGFP will be revealed by fluorescence microscopy. The same mRNA editing approach will be then used in FRT cells engineered with a vector expressing the CFTR mRNA with PTC. Edited CFTR mRNA and protein expression will be evaluated by biomolecular techniques. The successful CFTR transcript editing will be estimated by the EYFP quenching assay in FRT cells.

Preliminary results. We have introduced stop codons in the H2BGFP reporter gene and in the CFTR cDNA by site directed mutagenesis, and cloned them in plasmids to transfect mammalian cells. Also, specific spacer sequences have been designed and synthesized to edit the transcripts with PTC.

Conclusions. By using the REPAIRv2 system we expect to edit mRNAs with PTCs that will be normally translated by ribosomes as full-length proteins. Thus, REPAIRv2 could be exploited for new therapies for Cystic Fibrosis recovering the protein functionality.

Correzione di mutazioni stop del gene CFTR mediante modifica (editing) dell'RNA messaggero

Ragioni dello studio. Le mutazioni nonsense (stop) nel gene CFTR causano la traduzione di una proteina tronca non funzionale. Un potenziale trattamento per questi pazienti è il ripristino della proteina intera. Poiché la sintesi di farmaci in grado di correggere questo difetto è ancora in fase di sviluppo, è necessario esplorare nuovi approcci sperimentali. Il sistema di 'editing' REPAIRv2 può essere un prezioso strumento da utilizzare in medicina personalizzata per la correzione di mutazioni stop. REPAIRv2, sviluppato a partire dal sistema CRISPR/CAS, potenzialmente consente di correggere mutazioni G>A sull'RNA messaggero indirizzando, in maniera specifica, tramite la proteina dCAS13b, l'enzima ADAR2 sulla Adenosina che deaminata ad Inosina è riconosciuta come guanosina dal ribosoma. L'editing dell'RNA messaggero, modificando un codone nonsense in un codone senso, consente la traduzione di una proteina integra.

Ipotesi e obiettivi. Correzione tramite "RNA editing" di un codone di stop nell'mRNA di H2BGFP opal. Introduzione della mutazione W1282X nel cDNA di CFTR. Correzione mediante "RNA editing" delle mutazioni G542X e W1282X sul cDNA di CFTR in vitro.

Metodi essenziali. Sequenze 'spacer' specifiche per il targeting di REPAIRv2 sugli mRNA H2BGFP e CFTR con mutazioni stop saranno disegnate e clonate in un apposito vettore che codificherà l'RNA guida. La mutazione W1282X sarà introdotta nel cDNA di CFTR mediante mutagenesi sito specifica. I plasmidi codificanti l'RNA guida e dCas13b/ADAR2 saranno trasfettati in cellule che esprimono i cDNA mutati. L'espressione di mRNA e proteine integre sarà valutata mediante tecniche biomolecolari. La funzionalità delle proteine tradotte dagli mRNA sottoposti ad editing sarà valutata mediante microscopia a fluorescenza e saggi di "EYFP fluorescence"

Risultati preliminari. Introduzione di codoni stop nel gene reporter H2BGFP e nel cDNA del gene CFTR via mutagenesi sito diretta. Clonaggio in plasmidi e introduzione mediante trasfezione in sistemi cellulari modello. Disegno e sintesi di sequenze 'spacer' per il successivo editing degli mRNA mutati.

Conclusioni. Mediante l'utilizzo del sistema REPAIRv2 ci prefiggiamo di saggiare in vitro la modifica (*editing*) degli RNA messaggeri (H2BGFP e CFTR) con mutazioni stop e il recupero della loro funzionalità.nell'ottica di un potenziale approccio per la correzione genetica di mutazioni stop in pazienti FC.

62. Dissecting the potency of human Mesoangioblasts to differentiate into CFTR-expressing epithelial cells: a step forward to an innovative cell-based therapy for Cystic Fibrosis disease

Messina G¹, Pedemonte N²

¹Dipartimento di Bioscienze, Università degli Studi di Milano,
²Istituto G. Gaslini, U.O.C. Genetica Medica, Genova (FFC#5/2017, Concluded)



Graziella Messina, al centro in basso, responsabile, con i ricercatori del laboratorio

Background. Since the CFTR gene was cloned in 1989, several strategies for correction of CF lung disease have been explored. Among these, cell-based approaches are under investigation. Endogenous lung stem and progenitor cells have been studied although their contribution in the amelioration of chronic lung diseases is still debated. Stem cell-based approaches to treat CF have not achieved the efficiencies of delivery and engraftment needed for therapy. The reasons rely on the low cell engraftment in the lungs after systemic administration and on the small percentage of differentiated cells in airway epithelia and in the even less percentage of CFTR expression.

Hypothesis and objectives. During our recent works on a class of mouse progenitor cell derived from vessel, named mesoangioblasts (mMABs), we observed that mMABs, when systemically transplanted in healthy and CF mice distributed throughout lung, trachea and intestinal epithelium over-time. The aim of this project was to evaluate for the first time the potency of human mesoangioblast to correct the CFTR defect. The whole study can be considered a crucial step to definitively develop a cell-based therapy for patients affected by CF.

Essential methods. Different populations of human MABs (hMABs) have been tested for the expression of CFTR. hMABs have been co-cultured with human bronchiolar epithelial cells from CF patients bearing severe mutations of CFTR to

evaluate their ability to differentiate into epithelium and to express a functional CFTR (by Ussing chamber), thus mimicking the in vivo environment.

Results. We observed that hMABs already in vitro express, although at low levels, both the immature and mature forms of CFTR. Notably, this expression corresponds, in ex vivo Ussing chamber by co-cultures of hMABs with CF bronchiolar epithelial cells, to a functional CFTR channel.

Conclusions. This project represents a major advance over any other cell-based therapeutic strategy for CF. This first study on human MABs demonstrates their ability to express functional CFTR, rescuing chloride ions transport in CF epithelia and possibly differentiating into epithelial like cells. The results obtained from this proposal will definitively make these cells eligible for a clinical translation in human CF patients as a cell based therapy.

Caratterizzazione dei Mesoangioblasti umani per una nuova terapia cellulare della Fibrosi Cistica

Ragioni dello studio. La Fibrosi Cistica (FC) è una malattia genetica causata da diverse mutazioni nel gene CFTR. Sebbene numerosi progressi terapeutici abbiano migliorato l'aspettativa di vita dei pazienti affetti da FC, purtroppo ad oggi il trapianto polmonare rimane l'unica opzione risolutiva. Le terapie cellulari e geniche stanno emergendo come nuovo potenziale approccio curativo per diverse malattie genetiche, anche se la loro efficacia nella FC non è ancora stata dimostrata. I mesoangioblasti (MAB) sono progenitori cellulari adulti associati ai vasi che hanno dimostrato negli ultimi anni un importante potenziale terapeutico nella cura di una severa patologia genetica muscolare come la Distrofia Muscolare.

Ipotesi e obiettivi. Abbiamo dimostrato, in precedenti studi eseguiti su modelli murini di FC, il potenziale dei MAB murini per una terapia cellulare della FC. Partendo da questi risultati, l'obiettivo di questo progetto è stato quello di caratterizzare i mesoangioblasti umani in termini di espressione e attività funzionale del canale CFTR, fornendo così tutti gli elementi necessari per traslare questo innovativo approccio terapeutico ai pazienti affetti da FC.

Metodi essenziali. Diverse popolazioni di MAB umani sono state studiate per valutare l'espressione proteica e funzionale del canale CFTR per western blot e in sistemi di co-cultura con cellule bronchiali di pazienti affetti da FC. L'attività del CFTR dei MAB nell'epitelio FC è stata valutata tramite saggi elettrofisiologici (Ussing Chamber).

Risultati. Abbiamo osservato che i MABs umani esprimono, già in coltura in vitro, sia la forma immatura che quella matura del CFTR, per quanto a livelli molto bassi. Tuttavia, quando in co-cultura con cellule bronchiali BE di pazienti FC, in saggi di Ussing Chamber, sono in grado di esprimere un canale funzionale, contribuendo al recupero funzionale dell'attività del canale stesso.

Conclusioni. Abbiamo osservato che i mesoangioblasti umani esprimono il canale CFTR sia in vitro che in un sistema di co-cultura con le bronchiali umani di pazienti FC dimostrando un'attività endogena del canale. Alla luce del buon engraftment della controparte murina già osservato in vivo, questi risultati sui MABs umani rappresentano un importante passo verso lo sviluppo di un approccio sempre più traslazione in pazienti FC.

IN VIVO, EX VIVO AND IN VITRO PREDICTIVE TESTS AND MODELS TO EVALUATE THE CFTR FUNCTION

63. Implementation of a new imaged-controlled sweat test for in vivo quantification of CFTR function: value for diagnosis and efficacy of new therapies

Leal T¹, Ceri S², Thao NK³

¹Louvain Centre for Toxicology and Applied Pharmacology, UC Louvain, Belgium, ²Dipartimento di Elettronica, Informazione e Bioingegneria, Università di Milano, ³Necker-Enfants Malades Hospital, AP-HP Laboratory of General Biochemistry, Paris (FFC#5/2016, Concluded)



Teresinha Leal, responsabile del progetto

Background and rationale. A new generation β -adrenergic-dependent sweat secretory test based on imaging of droplets of sweat formed at the surface of the skin (bubble test) was developed in Stanford (California).

Hypothesis and objectives. The main goal of the project was to build a cross-university network (Verona, Brussels and Paris) allowing spreading the bubble test out. The main goal of the Verona CF center was to implement the test in Europe. The main goal of the Brussels center was to develop a non-invasive version of the test, without intradermal injections. That of the Paris center was to make comparisons with the Toronto's evaporimetry version of the β -sweat secretory test for which the center has acquired a vast experience.

Essential methods. Adapting and updating setup and materials of the bubble test method previously described and following a well-established protocol for the evaporimetry method.

Results. The Verona center has recently published data confirming the approximately linear readout of CFTR function obtained in tests performed in three groups (CF subjects, CF carriers and non-CF controls, $n = 22$ in each group). Results showed that all groups were clearly discriminated, with sensitivity and specificity ranging from 82% to 100%. The Verona group recently reported data on a new Optical Sweat Rate Beta Adrenergic (OSRBA) test for measuring sweat rates in individual human sweat glands based on a multilinear regression model. It showed that the volume of sweat secretory glands discriminated between CFTR genotypes and allowed quantifying efficacy of pharmacological treatments with CFTR modulators; i.e. lumacaftor/ivacaftor (Orkambi) or PTC 124 (Ataluren). The Brussels center had success in the development of a non-invasive version of the test by iontophoresis of the pharmacological agents used, which is particularly challenging for those triggering the β -adrenergic phase of the test. Interim results obtained from 10 patients with CF, 29 healthy subjects and 1 CF carrier confirmed the good discriminative power of the test. Approval by the Ethics committee to conduct the com-

parative trial was obtained in the Paris center and solutions for injections are managed by the local institutional Pharmacy.

Conclusions. We have confirmed during this project that, either under intradermal injections or iontophoresis, the sweat droplet (bubble) test is able to fully discriminate between CF, non-CF and healthy subjects. Further comparative studies between measurements of bubble volumes and of water evaporated during sweat are ongoing.

Sviluppo di un nuovo test del sudore per la quantificazione in vivo della funzione CFTR: valore per diagnosi ed efficacia di nuove terapie

Ragioni dello studio. Recentemente, in California, è stato sviluppato un test del sudore basato sulla componente secretiva beta-adrenergica misurabile attraverso l'imaging di goccioline di sudore formate sulla superficie della cute. Il centro di Verona CF è stato il primo ad implementarlo in Europa.

Ipotesi e obiettivi. Con l'obiettivo di costruire una rete multicentrica che permetta di diffonderlo, è stata creata una collaborazione con Bruxelles e Parigi.

Metodi essenziali. Il contributo del primo gruppo consisteva nello sviluppare una versione non invasiva del test, senza iniezioni intradermiche, quello del secondo nel confronto con la versione evaporimetrica di Toronto del test sudorazione β -adrenergica.

Risultati. Il centro di Verona ha recentemente pubblicato dati che confermano la lettura approssimativamente lineare della funzione CFTR ottenuta in test eseguiti in tre gruppi (soggetti CF, portatori CF e controlli non CF, $n=22$ in ciascun gruppo). I risultati hanno mostrato che tutti i gruppi erano chiaramente discriminati, con sensibilità e specificità che andavano dall'82% al 100%. Il gruppo di Verona ha recentemente riportato i dati sul nuovo test per immagini di sudorazione beta adrenergica normalizzata per la misurazione del sudore in singole ghiandole sudoripare umane basato su un modello di regressione multilineare. Ha dimostrato che il flusso di secrezione del sudore ha discriminato tra i genotipi CFTR e ha permesso di quantificare l'efficacia dei trattamenti farmacologici con i modulatori CFTR; cioè lumacaftor/ivacaftor (Orkambi) o PTC-124 (Ataluren). Il centro di Bruxelles ha avuto successo nello sviluppo di una versione non invasiva del test mediante iontoforesi degli agenti farmacologici utilizzati, che è particolarmente difficile per quelli che attivano la fase β -adrenergica del test. I risultati intermedi ottenuti da 10 pazienti FC (29 soggetti sani e 1 portatore sano) hanno confermato il buon potere discriminante del test. L'approvazione da parte del comitato etico per condurre lo studio comparativo è stata ottenuta nel centro di Parigi e le soluzioni per le iniezioni sono gestite dalla farmacia istituzionale locale.

Conclusioni. Abbiamo confermato con questo progetto che, sia con iniezioni intradermiche o con iontoforesi, il test delle goccioline di sudore (bolle) è in grado di discriminare completamente tra FC, non FC e soggetti sani. Sono in corso ulteriori studi comparativi tra le misurazioni del volume delle bolle e dell'acqua evaporata durante il sudore.

64. A novel Full Thickness Cystic Fibrosis model on a microfluidic chip to study pathogenic mechanisms and evaluate therapeutic strategies

Netti P¹, di Bernardo D²

¹Centro per Biomateriali avanzati per la Sanità - CRIB, Istituto Italiano di Tecnologia, Napoli, ²Centro di Ricerca



Paolo Netti, primo a destra, e i ricercatori che collaborano al progetto

Background and rationale. Heterogeneity associated to cystic fibrosis (CF) hinders the choice of appropriate treatments. To study pathogenic mechanisms underlying CF and drug efficacy, *in vitro* models have been developed. Although these models are useful, they do not recapitulate the crosstalk between epithelial cells and the connective tissue, which has important consequences on the differentiation and function of the epithelium.

Hypothesis and objectives. The project aims to build up a normal and cystic fibrosis full thickness airway tissue model (NA-FT and CF-FT). Moreover, we plan to design a microchip for tissue culture, differentiation and drug administration via systemic or aerosol administration.

Essential methods. Normal and cystic fibrosis connective airway tissues (NA-CAT and CF-CAT) were produced by using a bottom up approach starting from the assembly of micro-tissues (NA- μ TPs and CF- μ TPs). In order to build up the full thickness airway (FT), normal and cystic fibrosis epithelial cells were seeded on the top of the NA-CAT and CF-CAT and induced to differentiate. μ TPs, CAT and FT tissues were characterized by histological, immunofluorescence and SEM analysis. The microfluidic chip for tissue culture was designed in Autocad and fabricated using a micromilling machine.

Results. Normal and cystic fibrosis lung fibroblasts (NHLF and DHLF) adhered on the micro-scaffold, proliferated and produced elements of the extracellular matrix. NHLF proliferated slower and NA- μ TPs were smaller than CF- μ TPs. The collagen fraction was patient-specific in NA- μ TPs and higher in CF- μ TPs than NA- μ TPs, using cells coming from patients having similar age. The μ TPs were assembled to obtain the CAT and epithelial cells formed a differentiated epithelium rich in cilia and mucus on it. Epithelial cells penetrated the matrix and formed glandular-like structures demonstrating the activation of the epithelium-stroma crosstalk. Fluid-dynamic conditions into the chip were established with a computational analysis. The optimal flow rate was 0,5 ml/min allowing an higher oxygen and nutrients supply under flow than static condition.

Conclusions. Primary lung cells can reproduce a FT tissue model through our tissue engineering approach. The morphological characterization highlighted differences between the normal and cystic fibrosis model that will be further investigated. Moreover, the fabricated microfluidic chip will be a promising platform for dynamic tissue culture and drug administration.

Un nuovo modello di fibrosi cistica in chip microfluidico per lo studio dei meccanismi patogenetici e la valutazione di strategie terapeutiche

Ragioni dello studio. L'eterogeneità associata alla fibrosi

cistica (CF) ostacola la scoperta di appropriate terapie. Al fine di studiare i meccanismi patogenetici della CF e l'efficacia di farmaci, sono stati sviluppati modelli *in vitro*. Sebbene questi modelli siano utili, essi non ricapitolano il crosstalk tra l'epitelio e il connettivo, che ha importanti conseguenze sul differenziamento e sulla funzione dell'epitelio.

Ipotesi e obiettivi. Il progetto mira alla realizzazione di un modello respiratorio completo normale e CF (NA-FT e CF-FT) e alla progettazione di un chip microfluidico per la coltura/differenziamento del tessuto e la somministrazione di farmaci per via sistemica o aerosol.

Metodi principali. I tessuti connettivi respiratori normali e affetti da CF (NA-CAT and CF-CAT) sono stati prodotti usando un approccio *bottom up*, che prevede l'assemblaggio di microtessuti (NA- μ TPs and CF- μ TPs). Al fine di realizzare il modello completo (FT), cellule epiteliali normali e affette da CF sono state seminate sulla superficie del NA-CAT e CF-CAT e differenziate. I μ TPs, il CAT e i modelli FT sono stati caratterizzati tramite analisi istologiche, immunofluorescenza e SEM. Il chip microfluidico per la coltura del tessuto è stato disegnato in Autocad e fabbricato usando una microfresatrice.

Risultati. I fibroblasti normali e affetti da CF (NHLF and DHLF) hanno aderito alla superficie dei *microscaffold*, proliferato e prodotto elementi della matrice extracellulare. NHLF hanno proliferato più lentamente dei DHLF e NA- μ TPs e sono risultati più piccoli dei CF- μ TPs. La frazione di collagene è risultata paziente-specifica nei NA- μ TPs e, usando cellule provenienti da paziente di età simile, è risultata maggiore nei CF- μ TPs rispetto ai NA- μ TPs. I μ TPs sono stati assemblati per ottenere il CAT e le cellule epiteliali hanno formato un epitelio differenziato ricco di ciglia e muco. Le cellule epiteliali sono migrate nella matrice e hanno formato strutture simil-ghiandolari dimostrando l'attivazione del crosstalk tra epitelio e stroma. Le condizioni fluido dinamiche nel chip sono state stabilite con un'analisi computazionale. La portata ottimale, tale da consentire un maggiore apporto di ossigeno e nutrienti in condizioni dinamiche piuttosto che statiche, è risultata essere 0,5 ml/min.

Conclusioni. Attraverso il nostro approccio, le cellule primarie polmonari sono in grado di riprodurre il modello completo respiratorio. La caratterizzazione morfologica ha evidenziato differenze tra il modello normale e CF, che saranno ulteriormente approfondite. Inoltre, il microchip fabbricato risulta essere una piattaforma promettente per la coltura dinamica del tessuto e la somministrazione di farmaci.

65. Establishment of Conditionally Reprogrammed Airway Epithelial Stem Cell cultures from nasal epithelia of Cystic Fibrosis patients: exploring response to CFTR-modulating drugs for correlation with genetic profile (theratyping) and restoring CFTR function through gene editing approaches

Eramo A¹, Lucarelli M²

¹Dip. Oncologia e Medicina Molecolare, Istituto Superiore di Sanità, ²Dip. Biotecnologie Cellulari e Ematologia, La Sapienza, Roma (FFC#12/2018, New)

Background. More than 2000 different mutations of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene have been described, opening the way to the development of mutation-specific personalized therapies, currently under both preclinical investigation and clinical use. The most frequent mutations are deeply investigated and have access to approved targeted treatments, while CFTR function and relation with clinical status remain poorly understood for the large



Foto a sx: Adriana Eramo, al centro, responsabile del progetto.
Foto a dx: Marco Lucarelli, partner, con collaboratrici

group of "orphan" mutations. Indeed, also F508del mutation is not fully targeted by current personalized therapy. Various cellular models for drug testing and gene therapy approaches have been used so far, although with still unsatisfactory results, due to the limited availability of patient tissue. Moreover, clinical trials are difficult to be performed particularly for the rare genetic variants, due to limited patient availability.

Hypothesis and objectives. We propose: to *in vitro* expand airway epithelial stem cells (AESC), from nasal epithelia of cystic fibrosis (CF) patients with different mutated genotypes, through the "culture reprogramming condition" (CRC) methodology; to validate CF-CRC cultures for phenotype, function and CFTR gene defect; to exploit both CF-CRC cells and CF-CRC-derived organoids to test their pharmacological response to clinical therapeutics (also in combination) and to predict drug response for different CF genetic variants (theratyping); to assess the efficacy of a gene editing approach combining Small Fragment Homologous Replacement (SFHR) and CRISPR/Cas9 methodologies to restore wild type-CFTR gene sequence.

Material, patients, methods. We will establish AESC cultures from nasal brushing of CF patients with different genotypes, using the CRC methodology (CF-CRC). CF-CRC cultures will be validated for airway stem cell phenotype and properties. Response to CFTR targeting drugs will be assessed in both AESC cells and organoids, through functional assays and correlated to CFTR genetic profile with the aim to predict the patient response. The specific CFTR defects will be replaced with wild type sequence in CF-CRC through a combination of SFHR and Crispr/Cas9 gene editing approaches.

Expected results and spin-off. The possibility to obtain large amounts of AESC from patients' (CF-CRC) upper airways, represents a powerful tool toward the introduction of more effective patient-specific therapeutic options as well as to predict response to specific therapies for patients with rare mutations. The possibility to test cell response, virtually from each CF patient, to pharmacologic and genetic approaches may be of great translational impact, in the direction of theratyping and gene therapy, also with particular relevance for patients with rare CF variants.

Generazione di colture di cellule staminali delle vie aeree condizionalmente riprogrammate dall'epitelio nasale di pazienti con Fibrosi Cistica: valutazione della risposta a farmaci modulatori del CFTR, correlazione con il profilo genetico (theratyping) e ripristino della funzione del CFTR mediante approcci di modificazione genica.

Ragioni del progetto. Più di 2000 mutazioni del gene regolatore della conduttanza transmembrana della Fibrosi Cistica (CFTR) sono state identificate, aprendo la via allo

sviluppo di terapie personalizzate mutazione-specifiche, correntemente in corso di sperimentazione pre-clinica o già in uso clinico. Tuttavia, solo per una piccola parte esistono efficaci terapie personalizzate. Le mutazioni più frequenti sono ampiamente studiate e i pazienti hanno accesso a terapie mirate approvate. Tuttavia, un'ampia frazione di mutazioni rare rimangono inesplorate. Inoltre, le terapie personalizzate volte alla correzione del difetto della mutazione F508del, non sono così efficaci quanto quelle per la correzione delle mutazioni di *gating*, necessitando di notevoli miglioramenti. Vari modelli sperimentali per test farmacologici e per terapia genica sono stati considerati, sebbene con risultati insoddisfacenti a causa della limitata disponibilità di tessuto di pazienti. Inoltre, studi clinici per le varianti genetiche rare risultano di difficile sviluppo a causa del limitato numero di pazienti disponibili.

Obiettivi principali. Proponiamo di: espandere cellule staminali delle vie respiratorie (AESC) dall'epitelio nasale di pazienti con diverse varianti genetiche di fibrosi cistica (FC), mediante la metodologia di condizioni di coltura riprogrammanti (CRC); validare le colture FC-CRC per fenotipo, funzione e profilo genetico; utilizzare cellule FC-CRC e organoidi da esse derivati per valutare la loro risposta a farmaci di uso clinico (anche in combinazione) e predire la risposta delle diverse varianti genetiche a terapie mirate (theratyping); riparare il gene mutato mediante approcci di "gene editing".

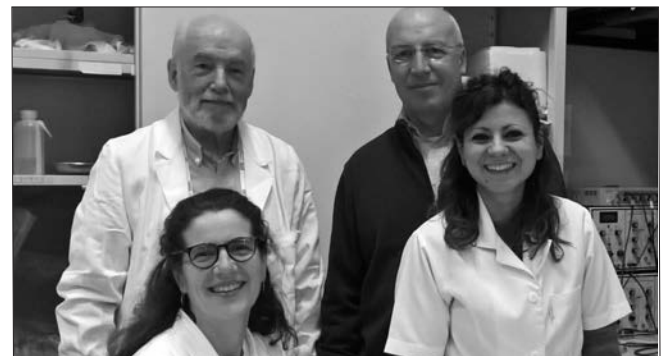
Disegno dello studio, materiali, pazienti, metodi. Genereremo colture a lungo termine di AESC da brushing nasale di pazienti con FC, usando la metodologia CRC. Le AESC (FC-CRC) saranno validate per il loro fenotipo e proprietà funzionali. La risposta farmacologica di agenti terapeutici di uso clinico sarà valutata sia nelle cellule FC-CRC che in organoidi da esse derivati mediante saggi di valutazione della funzione di CFTR e correlata al profilo genetico dei pazienti. I difetti genici di CFTR saranno riparati mediante una combinazione di 2 approcci di *gene editing* (SFHR e CRISPR- CAS9)

Risultati attesi e Possibili ricadute. La possibilità di ottenere grandi quantità di AESC (FC-CRC) dalle vie aeree di pazienti, rappresenta un potente strumento per l'introduzione di opzioni terapeutiche paziente-specifiche più efficaci, come anche per predire la risposta a terapie mirate per pazienti con mutazioni rare. La possibilità di testare la risposta cellulare ad approcci farmacologici e genetici potrebbe essere di grande impatto traslazionale per il theratyping e la terapia genica, anche con particolare rilevanza per pazienti di FC con genotipi rari.

66. Human intestinal organoids for detecting CFTR rescue molecules in human plasma samples

Melotti P

Centro FC, AOUI Verona (FFC#7/2016, Concluded)



Paola Melotti, in basso a sinistra, con collaboratori del progetto

Background and rationale: Active drugs on certain mutations of the CFTR gene are now available for CF therapy. Many drugs in the circulation can be inactivated by plasma proteins regulated by various nutritional, infectious, and inflammatory conditions. This exposes to variability of response to the same drug among different patients.

Hypotheses and objectives: To investigate the variability of response among CF patients, the levels of active circulating plasma drug of patients undergoing treatment were assessed, which can be detected by the swelling of human intestinal organoids, structures derived from rectal mucosa, available in the laboratory for long periods.

Essential methods: Active drugs were analyzed on specific CFTR gene mutations in the plasma of CF patients during therapy, in particular Ivacaftor / Lumacaftor (VX-770 / VX-809, Orkambi). With the known dose of drug added to the human plasma laboratory of non-CF volunteers, the method was set up. The swelling effect on the organoids is compared with the plasma effect of CF patients during treatment.

Results: Patients with circulating levels of Ivacaftor / Lumacaftor have been identified as effective in inducing the swelling of the organoids. In these conditions the clinical recovery was not identifiable with spirometry because the pulmonary function was either too compromised or almost normal; chlorine in the sweat expressing CFTR function had changed differently in individual patients during treatment without normalizing.

Conclusions: This study found in plasma of CF patients in therapy with Ivacaftor / Lumacaftor the presence of effective drug in correcting the function of CFTR defective in CF organoids homozygous for the F508del mutation.

Personalized medicine becomes possible with this model of organoids, even more considering that the plasma could be tested in organoids derived from rectal biopsies of the same patient (obtained with a non-disturbing, painless procedure). The organoids are thus used completely for the development of new drugs, prediction of clinical response, monitoring of therapies established in individual patients, diagnosis of atypical forms and greater understanding of the consequences of different mutations of the CFTR gene.

Organoidi intestinali umani per identificare il recupero di CFTR da molecole attive su mutazioni di CFTR in campioni di plasma umano

Ragioni dello studio. Sono ormai disponibili per terapia della FC farmaci attivi su determinate mutazioni del gene CFTR. Molti farmaci in circolo possono essere inattivati da proteine del plasma regolate da varie condizioni nutrizionali, infettive, infiammatorie. Ciò espone a variabilità di risposta allo stesso farmaco tra pazienti diversi.

Ipotesi e obiettivi: Per indagare la variabilità di risposta tra i pazienti FC si sono valutati i livelli di farmaco attivo circolante nel plasma di pazienti in trattamento che possono essere rilevato dal rigonfiamento di organoidi intestinali umani, strutture che derivano da mucosa rettale, disponibili in laboratorio per lunghi periodi.

Metodi essenziali. Sono stati analizzati farmaci attivi su specifiche mutazioni del gene CFTR presenti nel plasma di pazienti FC durante la terapia, in particolare Ivacaftor/Lumacaftor (Orkambi). Con dosi note di farmaco aggiunte in laboratorio a plasma umano di volontari non-CF si è allestito il metodo. L'effetto rigonfiante sugli organoidi viene confrontato con quello del plasma di pazienti FC in corso di trattamento.

Risultati. Si sono identificati pazienti con livelli circolanti di Ivacaftor/Lumacaftor efficaci nell'indurre rigonfiamento degli organoidi. In tali condizioni il recupero clinico non era identificabile con spirometria in quanto la funzione polmonare era o troppo compromessa o quasi normale; il cloro nel

sudore che esprime la funzione CFTR era cambiato in maniera diversa nei singoli pazienti durante il trattamento senza normalizzarsi.

Conclusioni: Questo studio ha rilevato in plasma di pazienti FC in terapia con Ivacaftor/Lumacaftor la presenza di farmaco efficace nel correggere la funzione di CFTR difettosa in organoidi FC omozigoti per la mutazione F508del. La personalizzazione delle cure diventa possibile con questo modello di organoidi, ancor più considerando che il plasma potrebbe essere testato in organoidi derivati da biopsie rettali dello stesso paziente (ottenute con procedura poco disturbante, non dolorosa). Gli organoidi vengono così utilizzati completamente per sviluppo di nuovi farmaci, previsione della risposta clinica, monitoraggio delle terapie instaurate nei singoli pazienti, diagnosi di forme atipiche e maggior comprensione delle conseguenze di diverse mutazioni del gene CFTR.

67. Testing intestinal organoids for the prediction of response to CFTR potentiators and correctors used in clinics

Sorio C

Università degli Studi di Verona, Dipartimento di Medicina (FFC#13/2018, New)



Claudio Sorio, responsabile del progetto

Background. Drugs targeting specific CFTR mutations entered the clinic, however the amount of rescued CFTR function is still limited and variable responses to these therapies are recorded in CF patients due to still undefined mechanisms of action. Therefore, prediction of individual drug responses in CF is challenging. The challenge is mainly based on very limited availability of primary cell models for screening of compounds able to restore the function of defective CFTR. This capability would pave the way to clinical efficacy, pre-selection of patients /drugs, identification of drug-responsive subgroups and drug registration. Organoids are a new research tool with remarkable basic and translational potential. Human intestinal organoids could be useful for assessing the efficacy of new therapies, and provide personalized therapies for CF subjects; moreover they represent a permanent sample for checking CFTR activity.

Hypothesis and objectives. We aim at developing a personalized medicine approach in CF patients by collecting, expanding, storing and analyzing human intestinal organoids.

Material, patients, methods. Crypts will be isolated and cultured from human intestinal biopsies following established protocols already set in the laboratory. We will measure CFTR activity by forskolin induced swelling (FIS) assay. Established functional tests (Gibson-Cooke and FEV1 tests) will be recorded before the treatment and at indicated times after treatment. Patients with indication of treatment with Ivacaftor and Orkambi will be tested.

Expected results and spin-off. We expect to measure variable swelling rates in CF organoids that are expected to correlate with the outcome of other established laboratory and clinical parameters mentioned. Development of new drugs must proceed side-by-side with increasingly sensitive and precise predictive and monitoring biomarkers in order to provide the best possible selection of treatment for the individual patients. Organoid cultures and FIS assay might provide robust tools to facilitate CFTR functional studies, diagnosis, new drugs development and individualized therapy.

Analisi di organoidi intestinali per la predizione della risposta a potenziatori e correttori di CFTR utilizzati in clinica

Ragioni del progetto. I farmaci che sono indirizzati a specifiche mutazioni di CFTR ormai sono entrati nella pratica clinica, tuttavia, la quantità di CFTR con una funzionalità recuperata è ancora limitata e le risposte variabili a queste terapie registrate nei pazienti CF sono dovute a meccanismi di azione ancora indefiniti. Pertanto, la previsione delle risposte individuali ai farmaci nella FC è una sfida. La sfida è principalmente basata sulla disponibilità molto limitata di modelli di cellule primarie per lo screening di composti in grado di ripristinare la funzione di CFTR difettoso. Questa possibilità aprirebbe la strada all'efficacia clinica, alla preselezione di pazienti/farmaci, all'identificazione di sottogruppi reattivi ai farmaci e alla rapida registrazione di nuovi farmaci. Gli organoidi rappresentano un nuovo strumento di ricerca con un notevole potenziale di base e traslazionale. Organoidi intestinali umani potrebbero essere utili per definire l'efficacia di nuove terapie e fornire terapie personalizzate per soggetti CF; inoltre la criopreservazione permette di avere un campione sempre disponibile per valutare l'attività di CFTR.

Obiettivi principali. Il nostro scopo è quello di sviluppare un approccio medico personalizzato in pazienti FC mediante la raccolta, l'espansione, la conservazione ed analisi di organoidi intestinali umani.

Materiale, pazienti, metodi. Le cripte saranno isolate e coltivate da biopsie intestinali umane seguendo protocolli già messi a punto in laboratorio. Misureremo l'attività di CFTR mediante il test del rigonfiamento indotto dalla forskolina (FIS- *Forskolin Induced Swelling*). I test funzionali stabiliti (test Gibson-Cooke e FEV1) verranno registrati prima del trattamento e nei momenti indicati dopo il trattamento. Verranno analizzati pazienti con indicazione al trattamento con Ivacaftor e Orkambi.

Disegno dello studio. Organoidi derivati da biopsie rettali di pazienti candidati a trattamento con Ivacaftor e Orkambi verranno sottoposti, dopo incubazione con detti farmaci, a analisi FIS per valutare la capacità predittiva sulla risposta alla terapia da parte di questo saggio. I risultati verranno incrociati con i dati clinici raccolti negli stessi pazienti.

Possibili ricadute. Ci aspettiamo di misurare l'entità del rigonfiamento variabile in organoidi FC che dovrebbero correlarsi con il risultato di altri parametri di laboratorio e clinici menzionati. Lo sviluppo di nuovi farmaci deve procedere di pari passo con biomarcatori predittivi e di monitoraggio sempre più sensibili e precisi, al fine di fornire la migliore selezione possibile di trattamento per i singoli pazienti. Le colture di organoidi e il saggio FIS potrebbero fornire strumenti robusti per facilitare gli studi funzionali su CFTR, la diagnosi, lo sviluppo di nuovi farmaci, per arrivare ad una terapia personalizzata.

68. Intestinal organoids for assessment and pharmacological correction of abnormalities in fluid transport and anion currents in patients affected by pancreatitis

Frulloni L¹, Lucidi V², de Jonge H³

¹University of Verona, Dep. of Medicine, Gastroenterology Unit, ²Dipartimento Pediatrie Specialistiche, Ospedale Bambino Gesù, Roma, ³Dept. of Gastroenterology & Hepatology, Erasmus University Medical Center (FFC#6/2018, New)



Luca Frulloni, responsabile del progetto

Background. Unfortunately none of the outcome parameters currently monitored for diagnosis and in the clinical trials so far provides direct information on HCO₃⁻ and mucin secretion in CFTR expressing epithelia. Several pancreatitis patients in our population carry at least one CFTR mutation but the role of CFTR function for their disease and treatment is still unclear.

Hypothesis and objectives. CFTR mutations detected in patients affected by pancreatitis are supposed to be involved in ion transport defects, in particular bicarbonate transport that are clinically relevant and potential targets of CFTR modulators. Mutations of genes other than CFTR might have additional effects contributing to the clinical manifestations. Therefore this study will focus on 1) measuring CFTR function at a single patient level in intestinal biopsies, organoids, sweat glands; 2) ion channel genetic defects related to pancreatic function; 3) novel CFTR modulator drugs, known to restore chloride transport in CF in a mutation-specific manner, and potentially capable of restoring the transport of other ions, including bicarbonate.

Material, patients, methods. Small size rectal biopsies obtained by a painless procedure (no blood loss) from patients with pancreatitis with at least one CFTR mutation will be utilized for generating so called organoids ("mini-guts") from the intestinal stem cells present in the biopsies. These organoids can be expanded indefinitely in culture and are an inexhaustible source of epithelial cells for diagnostics and drug-testing on a personalized basis. They are also ideal models for measuring the bicarbonate transport defect in individual patients and the ability of CFTR modulators to repair this defect. A new sweat test will be utilized for measuring CFTR residual function possibly associated with CFTR mutations detected in patients affected by pancreatitis.

Expected results and spin-offs. Our study may facilitate future preclinical testing of novel CFTR repair molecules for their ability to restore bicarbonate transport in individual patients, using organoids stored for personalized medicine. Considering the known similarities between CFTR-dependent bicarbonate transport in intestine and lungs, the results of our study may also have a prognostic value for the occurrence and drug treatment of CF lung disease.

Organoidi intestinali per la valutazione e la correzione farmacologica di anomalie nel trasporto di fluidi e correnti anioniche in pazienti affetti da pancreatite

Basi dello studio. Sfortunatamente nessuno degli effetti

attualmente monitorati per la diagnosi e negli studi clinici fornisce informazioni dirette sulla secrezione di HCO₃ e mucina nell'epitelio che esprime CFTR. Diversi pazienti con pancreatite nella nostra popolazione hanno almeno una mutazione CFTR, ma il ruolo della funzione CFTR per la loro malattia e il trattamento non sono ancora chiari.

Ipotesi e obiettivi. La rilevanza delle mutazioni CFTR individuate nei pazienti affetti da pancreatite dovrebbe coinvolgere il trasporto degli ioni, non solo cloruro, potenziale bersaglio clinicamente rilevante dei modulatori CFTR. Le mutazioni di geni diversi da CFTR potrebbero avere effetti aggiuntivi rilevanti per le manifestazioni cliniche. Pertanto, questo studio si concentrerà su: 1) misurazione in singoli pazienti della funzione CFTR in biopsie intestinali, organoidi, ghiandole sudoripare; 2) difetti genetici dei canali ionici correlati alla funzione pancreatica; 3) nuovi farmaci modulatori di CFTR, noti per ripristinare il trasporto del cloruro nella FC in modo specifico per la mutazione, potenzialmente in grado di ripristinare il trasporto di altri ioni.

Materiali, pazienti, metodi. Piccole biopsie rettali ottenute con una procedura indolore e nessuna perdita di sangue

da pazienti con pancreatite con almeno una mutazione CFTR sarà utilizzata per generare cosiddetti organoidi ("intestini in miniatura") dalle cellule staminali intestinali presenti nelle biopsie. Questi organoidi possono essere coltivati indefinitamente in coltura e sono una fonte inesauribile di cellule epiteliali per diagnostica e test di farmaci su base personalizzata. Sono anche modelli ideali per misurare il difetto di trasporto del bicarbonato nei singoli pazienti e la capacità dei modulatori CFTR di riparare questo difetto. Un nuovo test del sudore verrà utilizzato per misurare la funzione residua CFTR eventualmente associata a mutazioni CFTR rilevate in pazienti affetti da pancreatite.

Risultati attesi. Il nostro studio potrebbe facilitare futuri test preclinici di nuove molecole di riparazione CFTR per la loro capacità di ripristinare il trasporto di bicarbonato in singoli pazienti, utilizzando organoidi conservati per la medicina personalizzata. Considerando le note somiglianze tra il trasporto di bicarbonato CFTR-dipendente nell'intestino e nei polmoni, i risultati del nostro studio possono anche avere un valore prognostico per l'insorgenza e il trattamento farmacologico della malattia polmonare FC.

APPENDICES

Appendix 1

Publications and congress communications from the studies funded by Italian CF Research Foundation (2010-2018)

Pubblicazioni e comunicazioni congressuali dagli studi finanziati dalla Fondazione Ricerca FC dal 2010 al 2018

1. CFTR PATHOPHYSIOLOGY AND THERAPY OF THE BASIC DEFECT

Fisiopatologia CFTR e terapie del difetto di base

- FFC Project#5/2010 **"The search of HSP70/HSC70 complex inhibitors useful to correct the $\Delta F508$ -CFTR"** Mauro Mazzei (Dip. Scienze Farmaceutiche, Università di Genova), Paola Fossa (Dip. Scienze Farmaceutiche, Università di Genova), Maria Caterina Turco (Dip. Scienze Farmaceutiche, Università di Salerno)

Publications

- Cichero E. et al. "Scouting new molecular targets for CFTR therapy: the HSC70/BAG-1 complex. A computational study" *MedChemRes*, February 2012
- Basile A. et al. "Matrine modulates HSC70 levels and rescue $\Delta F508$ -CFTR" *J Cell Physiol*. 2012 Sep;227(9):3317-23
- Nieddu E. et al. " $F508del$ -CFTR rescue: a matter of cell stress response" *Curr Pharm Des*. 2013;19(19):3476-96
- FFC Project#6/2010 **"Novel biomarkers for evaluation of efficacy of new therapies in cystic fibrosis"** Paola Melotti (Centro Regionale Fibrosi Cistica, OCM Verona), Claudio Sorio (Dip. Patologia, Sez. Patologia Generale, Università di Verona)

Publications

- Sorio C. et al. "Defective CFTR expression and function are detectable in blood monocytes: development of a new blood test for cystic fibrosis" *PLoS One*, 2011; 6(7): e22212. Published online 2011 July 21
- Rizzo R. et al. "HLA-G expression and regulation during *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis patients" *Future Microbiology* 2016;11(3):363-73. doi: 10.2217/fmb.15.143.

Abstracts

- Sorio C. et al., "Defective CFTR expression and function are detectable in blood monocytes: development of a new blood test for cystic fibrosis" 2011 ECFC Basic Science Conference 30 March – 2 April 2011, Tirrenia, Pisa, Italy
- Rizzo R. et al., "Ruolo della molecola HLA-G come marcatore dello stato infiammatorio nella CF", VII Meeting Nazionale SIFC, Latina, 14-15 Aprile 2011
- Sorio C. et al. "Impaired CFTR function in mild CF associated with the S977F/T5TG12 complex allele" NACFC 2012, Orlando, USA
- Rizzo R. et al. "Relevance of HLA-G in CF" NACFC 2012, Orlando, USA
- Tridello G. et al. "Search for appropriate outcomes of nasal potential difference measurement for diagnosis" NACFC 2013, Salt Lake City, Utah, USA

- FFC Project#7/2010 **"Structural features of the intracellular domains of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator"** Oscar Moran (Istituto di Biofisica CNR, Genova)

Publications

- Galeno L. et al. "Small-angle X-ray scattering study of the ATP modulation of the structural features of the nucleotide binding domains of the CFTR in solution" *Eur Biophys J*. 2011, 40:811-824.
- Galfrè E. et al. "A potentiator induces conformational changes on the recombinant CFTR nucleotide binding domains in solution" *Cell Mol Life Sci*. 2012 Nov;69(21):3701-13
- Marasini C. et al. "Thermodynamic study of the native and phosphorylated regulatory domain of the CFTR", 2012, *Biochem Biophys Res Commun*. 423:549-552.
- Marasini C. et al. "A SAXS-based ensemble model of the native and phosphorylated regulatory domain of the CFTR", 2012, *Cell*

Mol Life Sci. Oct 4. [Epub ahead of print]

Abstracts

- Galeno L. et al. "Structural Features of the Nucleotide Binding Domains of the CFTR in Solution" XX Congresso Nazionale SIBPA 11-14 settembre 2010, Arcidoso
- Galeno L. et al. "Structural Features of the Nucleotide Binding Domains of the CFTR in Solution" At XV school of Pure and applied Biophysics, Venezia, 24-28 January 2011
- Galeno L. et al. "Structural Features of the Nucleotide Binding Domains of the CFTR in Solution" ECFS- Basic Sciences 30 March- 2 April 2011, Tirrenia (Abstract, Poster and Oral Presentation)
- Moran O. "Model of the cAMP Activation of Chloride Transport by CFTR Channel and the Mechanism of Potentiators" ECFS- Basic Sciences 30 March- 2 April 2011, Tirrenia (Abstract, Poster and oral presentation)
- Marasini C. et al. "Direct visualization of CFTR conformation by atomic force microscopy" ECFS- Basic Sciences 30 March- 2 April 2011, Tirrenia (Poster)
- Moran O. "ATP-Dependent Conformational Changes of the NBD" The 34th European CF conference, Symposium CFTR Structure, Function and Therapy 8-11 June 2011, Hamburg (Oral Presentation)
- Galeno L. "Structural features of the intracellular domains of the Cystic Fibrosis transmembrane Conductance Regulator" Scuola di Dottorato in Bioscienze e Biotecnologie, Biochimica e Biofisica, Università di Padova, November 2011 (Abstract, Oral presentation)
- Marasini C. et al. "Conformational study of an intrinsic disordered protein by molecular dynamics" Giornata Ligure di Bioinformatica, Rete Ligure di Bioinformatica, 16 Dicembre 2011, Genova (Poster)
- Moran O. "On the structure of the regulatory domain of the CFTR" ECFS Basic Science Conference, 28 March - 1 April 2012. Sainte Maxime (Abstract, Oral Presentation)
- Marasini C. "Conformational and structural study of an intrinsic disordered protein" HERCULES - Higher European Research Course for Users of Large Experimental Systems. February 26- March 27 2012, Grenoble, Paris and Villigen (Poster)
- Marasini C. et al. "Structural study of R domain of CFTR: an intrinsically unstructured protein" Open mind 2012, Bioingegneria, Università di Genova, 13 September 2012. (Oral Presentation)
- Galeno L. "Regulatory domain: structural characterization of an intrinsic disordered protein" Scuola di Dottorato in Bioscienze e Biotecnologie, Biochimica e Biofisica, Università di Padova, June 2012 (Poster)
- Marasini C. et al. "Structural study of R domain of CFTR: an intrinsically unstructured protein" XXI Congresso Nazionale della Società Italiana di Biofisica Pura ed Applicata SIBPA, September 17-20 2012, Ferrara (Abstract and Oral presentation)
- Marasini C. et al. "Thermodynamical and structural changes in two functional states of regulatory domain of CFTR" The 11th Croatian School of Biophysics, Biomacromolecular Complexes and Assemblies, October 1-10, 2012 Primošten (Abstract, Poster and Oral presentation)
- Moran O. "SAXS study of the ATP-modulation of the structural features of the nucleotide binding domains of the CFTR in solution. At Area della Ricerca di Palermo, CNR, Palermo 11 May 2011
- Moran O. "On the molecular structure of the intracellular domains of the CFTR" At Faculté de Médecine Paris - Descartes, Site Necker, Paris, 23 January 2012

PhD Thesis

- Marasini C. "Structural study of CFTR intrinsically disorder domain by computational and experimental approaches" Università degli Studi di Genova, Tesi di Dottorato di Ricerca in Bioingegneria, 25° ciclo, aprile 2013

- FFC Project#8/2010 **“Decrease apical infection of CFTR by Pseudomonas aeruginosa infection: role of NHERF1 phosphorylation”** Anna Tamanini (Laboratorio Patologia Molecolare, Laboratorio Analisi Cliniche ed Ematologiche, OCM Verona), Stephan Reshkin (Dip. Fisiologia Generale ed Ambientale, Università di Bari)

Abstracts

- Tamanini A. et al. “Decreased apical expression of CFTR by Pseudomonas Aeruginosa infection in respiratory cells: role of NHERF1 phosphorylation” 2011 ECFC Basic Science Conference 30 March – 2 April 2011, Tirrenia, Pisa, Italy
- Rubino R. et al. “Pseudomonas aeruginosa reduces the expression of CFTR in airways via post translational modification of NHERF1” New frontiers in basic science of cystic fibrosis, Malta, ECFS Conference, 26-29 March 2014
- FFC Project#2/2011 **“PTC124 derivatives as a novel approach to improve the readthrough of premature stop codons in the CFTR gene”** Aldo Di Leonardo (Dip. Scienze e Biotecnologie Molecolari e Biomolecolari, Università di Palermo)

Publications

- Lentini L. et al. “Towards a rationale for the PTC124 (Ataluren) promoted readthrough of premature stop codons: a computational approach and GFP-reporter cell-based assay” Mol Pharm. 2014 Mar 3;11(3):653-64. doi: 10.1021/mp400230s. Epub 2014 Feb 7.

Abstracts

- Lentini L. et al. “Ptc124 derivatives as a novel approach to improve the readthrough of premature amber and ochre stop codons” 86° CONGRESSO SIBS. Palermo 24 - 25 Ottobre
- Lentini L. et al. “Azione readthrough di derivati del ptc124 su sistemi modello cellulari e in cellule di epitelio bronchiale-fc ib3.1 (cfr Df508/w1282x)” XIX Congresso Italiano della Fibrosi Cistica, IX Congresso Nazionale della Società Italiana per lo Studio della Fibrosi Cistica, 13-16 Novembre 2013, Hotel Città del Mare, Terrasini (PA)
- Gallucci G. et al. “Valutazione dell’azione readthrough della molecola PTC124 su sistemi modello cellulari contenenti mutazioni non senso e in cellule di epitelio bronchiale IB3.1 (F508del-W1282X) derivate da pazienti affetti da fibrosi cistica” Convegno “Biotecnologie: ricerca di base, interdisciplinare e traslazionale in ambito biomedico” Area della Ricerca del CNR di Palermo 27-28 Giugno 2013
- Lentini L. et al. “PTC124 derivatives as a novel approach to improve the readthrough of premature amber and ochre stop codons” Convegno SIBS 2013, Palermo

- FFC Project#3/2011 **“Subverted signalling by protein kinase CK2 in ΔF508 CFTR expressing cells. Functional aspects and prospects in therapy”** Lorenzo Pinna (Dip. Chimica Biologica, Università di Padova)

Publications

- Tosoni K. et al. “CFTR mutations altering CFTR fragmentation” Biochem J. 2012 Oct 15. [Epub ahead of print]
- Venerando A. et al. “Detection of Phospho-Sites Generated by Protein Kinase CK2 in CFTR: Mechanistic Aspects of Thr1471 Phosphorylation” PLoS One. 2013 Sep 18;8(9):e74232.
- Cesaro L. et al. “Phosphorylation of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) serine-511 by the combined action of tyrosine kinases and CK2. The implication of tyrosine-512 and phenylalanine-508” AminoAcids, 2013 Dec;45(6):1423-9

- FFC Project#4/2011 **“Role of spatial cAMP/PKA compartmentalization and activity in regulating CFTR function”** Stephan Reshkin (Dip. Fisiologia generale ed ambientale, Università di Bari)

Publications

- Monterisi S. et al. “Local modulation of Cystic Fibrosis Conductance Regulator: cytoskeleton and compartmentalized cAMP signalling” Br J Pharmacol. 2012 Oct 16

Abstracts

- Abbattiscianni AC et al. “Spatial cAMP/PKA compartmentalization and activity in primary airway cells” ECFS Basic Science Conference, 20-24 March 2013, Malaga, Spain

- FFC Project#1/2012 **“The read-through approach for the treatment of cystic fibrosis caused by premature termination codons”** Monica Borgatti (Dipartimento Biochimica e Biologia Molecolare Università di Ferrara), Nicola Altamura (Istituto Biomembrane e Bioenergetica, CNR, Bari), Alberto Bresciani (IRBM, Science Park, Roma)

Publications

- Altamura N. et al. “Tobramycin is a suppressor of premature termination codons” J Cyst Fibros. 2013 Mar 26
- Marzaro G. et al. “Psoralen derivatives as inhibitors of NF-κB/DNA

interaction: synthesis, molecular modeling, 3D-QSAR and biological evaluation” J Med Chem. 2013 Feb 17.

- Fabbri E. et al. “Expression of microRNA-93 and Interleukin-8 during Pseudomonas aeruginosa-Mediated Induction of Proinflammatory Responses” American Journal of Respiratory Cell And Molecular Biology 2014, Vol X, pp 1-11
- Altamura E. et al. “Chemical-Induced Read-Through at Premature Termination Codons Determined by a Rapid Dual-Fluorescence System Based on *S. cerevisiae*” PLoS ONE 2016 Apr 27;11(4):e0154260. doi: 10.1371

Posters

- Borgatti M. et al. “Biological evaluation of psoralen derivatives as inhibitors of NF- B/DNA interaction: molecular modeling, 3D-QSAR, EMSA assays and inhibition of IL-8 gene expression” 18th World Congress on Advances in Oncology and 16th International Symposium on Molecular Medicine, 10-12 Ottobre, 2013, Creta, Grecia.

- FFC Project#2/2012 **“Development of novel strategies to correct the chloride transport defect in cystic fibrosis”** Galiotta J. Luis (Lab. Genetica Molecolare, Ist. “G. Gaslini”, Genova), Enrico Millo (Centre of Excellence for Biomedical Research, Università di Genova)

Publications

- Sondo E. et al. “Non-canonical translation start sites in the TMEM16A chloride channel” Biochim Biophys Acta. 2013 Aug 28. pii: S0005-2736 (13)00287-3. doi:10.1016/j.bbmem. 2013.08.010. [Epub ahead of print]
- Scudieri P. et al. “Association of TMEM16A chloride channel overexpression with airway goblet cell metaplasia” Journal of Physiology 2012; 590:6141-6155
- Scudieri P. et al. “TMEM16A-TMEM16B chimaeras to investigate the structure-function relationship of calcium-activated chloride channels” Journal of Biological Chemistry 2013 Jun 15;452(3):443-55
- Carbone A. et al. “Correction of defective CFTR/ENaC function and tightness of cystic fibrosis airway epithelium by amniotic mesenchymal stromal (stem) cells” J. Cell. Mol. Med. 2014 Jun 3. doi: 10.1111/jcmm.12303.
- Sondo E. et al. “The TMEM16A chloride channel as an alternative therapeutic target in cystic fibrosis” International Journal of Biochemistry & Cell Biology 2014; 52: 73–76
- Pedemonte N. et al. “Structure and functions of TMEM 16 Proteins (Anoctamins)” Physiol Rev, 2014 Apr;94(2):419-59
- Pesce E. et al. “Synthesis and structure-activity relationship of aminoarylthiazole derivatives as correctors of the chloride transport defect in cystic fibrosis” Eur J Med Chem. 2015 Jun 24;99:14-35
- Caci E. et al. “Upregulation of TMEM16A Protein in Bronchial Epithelial Cells by Bacterial Pyocyanin” PLoS One. 2015 Jun 29;10(6):e0131775

Abstracts

- Scudieri P. et al. “Constitutive activation of the Ca²⁺-activated chloride channel TMEM16A” 12th ECFS Basic Science Conference – 25-28 Marzo 2015, Algarve, Portugal
- Pesce E. et al. “Aminoarylthiazoles as correctors and potentiators for mutant CFTR” 1st Italian CF Young Investigator Meeting, January 16th - 17th 2015, Rome, Italy
- Carbone A. et al. “Amniotic mesenchymal stem cells can correct the defective CFTR/ENaC function and tightness of CF airway epithelial cells upon coculture: involvement of gap junctions” 1st Italian CF Young Investigator Meeting, January 16th - 17th 2015, Rome, Italy
- Pesce E. et al. “Strategies to correct the chloride transport defect in cystic fibrosis” New frontiers in basic science of cystic fibrosis, Malta, ECFS Conference, 26-29 March 2014
- Bellotti M. et al. “Development of small molecules to correct the defective chloride transport in cystic fibrosis” ECFC Basic Science, Pisa, 2016
- Pesce E, Bellotti M, Sondo E et al.. “Aminoarylthiazoles as correctors and potentiators for mutant CFTR” 1th Italian CF Young Investigators Meeting, January 16th-17th 2015, Rome
- Galiotta LJV, Pedemonte N, Bertozzi F et al.. “Pharmacological modulation of ion transport in CF: CFTR and beyond” ECFC Basic Science Conference 2018, 21 -24 March 2018, Loutraki Korinthias, Greece

- FFC Project#3/2012 **“Study of the pathogenetic and therapeutic role of the Epithelial Na⁺ channel (ENaC) in CF and CF-like disease”** Marco Lucarelli (Dip. Biotecnologie cellulari ed Ematologia, Università “La Sapienza”, Roma), Cristina Bombieri (Dip. Scienze della Vita e della Riproduzione, Università di Verona), Massimo Conese (Dip. Scienze Biomediche, Università di Foggia)

Abstracts

- Lucarelli M et al. "Espressione e metilazione dei geni ENaC" Congresso Società Italiana di Biochimica Clinica (SIBIOC), Roma 5-8 ottobre 2010.
- Lucarelli M. et al. "Expression and DNA methylation of ENaC genes" European Cystic Fibrosis Conference (ECFC), Valencia 16-19 June 2010
- Castellani S. et al. "Study of the role of ENaC in cystic fibrosis: Expression of ENaC subunits as an investigation tool of the interaction between CFTR and ENaC and therapeutic approaches by epigenetic manipulation and activity reduction" 1st Italian CF Young Investigators Meeting, January 16th - 17th 2015, Rome, Italy
- FFC Project#4/2012 **"The molecular structure and the folding of the whole Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR)"** Oscar Moran (Istituto di Biofisica CNR, Genova)

Publications

- Baroni D, Zegarra-Moran O, Moran O. "Functional and pharmacological induced structural changes of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in the membrane solved using SAXS" Cell and Molecular Life Sciences 2014 Oct 2
- Baroni D. et al. "Direct interaction of a CFTR potentiator and a CFTR corrector with phospholipid bilayers" European Biophysics Journal 26 Apr 2014
- Moran O. et al. "On the structural organization of the intracellular domains of CFTR" Int J Biochem Cell Biol. 2014 Jul;52:7-14

Abstracts

- Pollock NL. et al. "Purification and biophysical analysis of DF508 and G551D CFTR" NACFC 2013, Salt Lake City, Utah, USA
- Pollock NL. et al. "From heterologous expression to homogeneous samples: large-scale production of a human ABC transporter for structural studies" In: Role of multidrug resistance proteins in pharmacokinetics and toxicology, 3-7th September 2013 (Masuria, Poland)
- Belmonte L. et al. "Molecular dynamics analysis of the normal and mutated cystic fibrosis transmembrane regulator: nucleotide-binding domain interactions" CCII Congresso della Società Italiana di Biofisica Pura ed Applicata, 21-24 Settembre 2014 (Palermo, Italia).
- FFC Project#5/2012 **"Modulation of post-translational modification and quality control system as a novel therapeutic strategy for Cystic Fibrosis"** Nicoletta Pedemonte (Lab. Genetica Molecolare, Ist. G. Gaslini, Genova)

Publications

- Tomati V. et al. "Genetic Inhibition Of The Ubiquitin Ligase Rnf5 Attenuates Phenotypes Associated To F508del Cystic Fibrosis Mutation" Sci Rep. 2015 Jul 17;5:12138
- Sondo E, Falchi F, Caci M et al.. "Pharmacological Inhibition of the Ubiquitin Ligase RNF5 Rescues F508del-CFTR in Cystic Fibrosis Airway Epithelia" Cell Chemical Biology 2018 Apr 26. pii: S2451-9456(18)30124-7
- FFC Project #1/2013 **"Mechanism of action of trimethylangelicin in rescuing F508del CFTR functional expression"** Valeria Casavola (Dip. di Bioscienze, Biotecnologie e Biofarmaceutica, Università di Bari)

Publications

- Rubino R, Bezzeri V, Favia M et al. "Pseudomonas aeruginosa reduces the expression of CFTR via post-translational modification of NHERF1" Pflugers Arch 2014 Mar 5
- Favia M. et al. "Trimethylangelicin promotes the functional rescue of mutant F508del CFTR protein in cystic fibrosis airway cells" Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2014;May 9
- Abbattiscianni AC. et al. "Correctors of mutant CFTR enhance subcortical cAMP/PKA signaling via ezrin phosphorylation and cytoskeleton organization" J Cell Sci, 2016 Jan 28
- Laselva O. et al. "The investigational Cystic Fibrosis drug Trimethylangelicin directly modulates CFTR by stabilizing the first membrane-spanning domain" Biochemical Pharmacology 2016 Sep 8. pii: S0006-2952(16)30265-9

Abstracts

- Abbattiscianni AC. et al. "Role of small molecule F508del CFTR correctors on the cAMP/PKA/ezrin compartmentalization in primary CF-BE cells" 1st Italian CF Young Investigator Meeting January 16th -17th 2015, Rome, Italy
- Laselva O. et al. "Trimethylangelicin (TMA) binds directly to purified WT-CFTR" NACF 2015
- Laselva O. et al. "Trimethylangelicin (TMA) promotes F508del.CFTR functional rescue in CF airways cells" New frontiers in basic science of cystic fibrosis, Malta, ECFS Conference, 26-29 March 2014

- Laselva O. et al. "Trimethylangelicin (TMA) promotes F508del-CFTR functional rescue in CF airway cells", CF Basic science conference, Pisa, 2016
- Laselva O. et al. "Intramolecular assembly disrupted by F508del can be modulated by structurally unrelated compounds" 13th ECFS Basic Science Conference, 30 March – 02 April 2016, Pisa, Italy
- Abbattiscianni AC, Favia M, Monterisi S, Casavola V "Role of small molecule F508delCFTR correctors on the cAMP/PKA/ezrin compartmentalization in primary CF-BE cells" 1th Italian CF Young Investigators Meeting, January 16th-17th 2015, Rome

- FFC Project#3/2013 **"ΔF508-CFTR correctors deriving from computational design and from safe natural compounds for a prompt clinical application"** Mauro Mazzei (Dipartimento di Farmacia, Università di Genova), Paola Fossa (Dip. di Farmacia, Università di Genova), Maria Pascale (Dip. di Farmacia, Università del Salento)

Publications

- Nieddu E. et al. "The search for a common structural moiety among selected pharmacological correctors of the mutant CFTR chloride channel" Future Med Chem. 2014;6(17):1857-68
- Nieddu E. et al. "Phenylhydrazones as Correctors of a Mutant Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator" Arch Pharm 2016 Feb;349(2):112-23

- FFC Project #5/2013 **"Vessel associated progenitor cells as a promising cell-based approach to treat cystic fibrosis disease"** Graziella Messina (Dip. di Bioscienze, Università degli Studi di Milano)

Abstracts

- Vezzali C. et al. "Vessel associated progenitor cells in the cell-based therapy of the cystic fibrosis lung disease" 11th ECFS Basic Science Conference, Malta, 26-29 March 2014

- FFC Project #6/2013 **"Establishment of a semi-automated evaluation of CFTR function in blood cells for clinical applications"** Claudio Sorio (Dip. di Patologia, Sez. Patologia generale, Università di Verona), Monica Aversa (Dip. di Medicina Sperimentale, Università di Genova), Mario R. Buffelli (Dip. Scienze Neurologiche e del Movimento, Università di Verona)

Publications

- Johansson J et al. "Detection of CFTR protein in human Leukocytes by Flow Cytometry" Cytometry 2014 Jul;85(7):611-20. doi: 10.1002/cyto.a.22456. Epub 2014 Mar 12.
- Etorre M. et al. "Electrophysiological evaluation of Cystic Fibrosis Conductance Transmembrane Regulator (CFTR) expression in human monocytes" Biochimica et Biophysica Acta vol 1840: 3088-3095

Abstracts

- Bavestrello M. et al. "Alterations of CF-PBMC induced by an increase in [Ca²⁺]_i" 1st Italian CF Young Investigator Meeting, January 16th - 17th 2015, Rome, Italy
- Vercellone S. et al. "Measure of CFTR expression and function in peripheral blood leukocytes" 1st Italian CF Young Investigator Meeting, January 16th - 17th 2015, Rome, Italy
- Vercellone S. et al. "Il test con flusso-citometria per identificare l'espressione di CFTR dopo trattamento con nuovi farmaci in linee cellulari epiteliali" 39th European Cystic Fibrosis Conference, 8 – 11 June 2016, Basel, Switzerland
- Bavestrello M, Aversa M, Pedrazzi M et al.. "Alterations of CF-PBMC induced by an increase in [Ca²⁺]_i" 1th Italian CF Young Investigators Meeting, January 16th-17th 2015, Rome

- FFC Project#7/2013 **"Nasal epithelial cells as a novel diagnostic approach for cystic fibrosis and CFTR related-disorders"** Giuseppe Castaldo (CEINGE-Biotecnologie Avanzate scarl, Napoli)

Publications

- Terlizzi V. et al. "Genotype-phenotype correlation and functional studies in patients with cystic fibrosis bearing CFTR complex alleles" J Med Genet 2016;0:1–12. doi:10.1136/jmedgenet-2016-103985
- Di Lullo AM, Scorza M, Amato F, Comegna M, Raia V "An "ex vivo model" contributing to the diagnosis and evaluation of new drugs in cystic fibrosis" Acta Otorhinolaryngologica Italica 2017 Jun;37(3):207-213. doi: 10.14639/0392-100X-1328

Abstracts

- Scorza M. et al. "Nasal epithelial cells as a novel diagnostic approach for Cystic Fibrosis and CFTR related disorders" 1st Italian CF Young Investigator Meeting, January 16th - 17th 2015, Rome, Italy

- FFC Project #1/2014 **"Identification and validation of novel molecules obtained by integrated computational and experimental ap-**

proaches for the read-through of PTCs in CF cells" Laura Lentini (Dip. di Biologia, Scienze Chimiche e Farmaceutiche e Tecnologie -STEBICEF, Sez. di Biologia Cellulare, Università di Palermo), Ivana Pibiri (Dip. di Biologia, Scienze Chimiche e Farmaceutiche e Tecnologie -STEBICEF, Sez. di Biologia Cellulare, Università di Palermo)

Publications

- Pibiri I. et al. "Enhancement of premature stop codon readthrough in the CFTR gene by Ataluren (PTC124) derivatives" *Eur J Med Chem.* 2015 Aug 28;101:236-44
- Pibiri I. et al. "Exploring the readthrough of nonsense mutations by non-acidic Ataluren analogues selected by ligand-based virtual screening" *European Journal of Medicinal Chemistry* 2016 Oct 21;122:429-35. doi: 10.1016

Abstracts

- Lentini L. et al. "Premature termination codon 124 derivatives as a novel approach to improve the read-through of premature amber and ochre stop codons" *J Biological Research*, Vol 88, No 1 (2015): 86th SIBS National Congress, Palermo, Italy, 24-25 October 2013
- Pibiri I. et al. "Nonsense Mutation Readthrough Enhancement by Variation of Fluorine Number and Position in a Series of PTC124 Derivatives", EFMC-ISMC 2014-XXIII International Symposium on Medicinal Chemistry, Lisbon, Portugal - September 7-11, 2014
- Lentini L, Pibiri I, Melfi R et Al. "Integrated computational and experimental approaches for the identification of new molecules with readthrough activity on premature termination codons (PTCs) in cystic fibrosis cells" IBIM-CNR: "Biotecnologie e ricerca di base interdisciplinare e traslazionale in ambito biomedico", presso il CNR di Palermo, Dicembre 2015
- Lentini L, Pibiri I, Melfi R et Al. "Identification of new molecules with readthrough activity on premature termination codons (PTCs) in cystic fibrosis cells (CFTR deltaF508/W1282X)" XIV Congresso FISV, Roma 20-23 settembre 2016
- Pibiri I, Lentini L, Melfi R et Al. "PTC124 and its derivatives: A rational approach against nonsense" Convegno Nazionale della Divisione di Chimica Organica della Società Chimica Italiana. 21 Settembre 2016-Venezia (Keynote)

- FFC Project #2/2014 " **A systems biology approach to the correction of Cystic Fibrosis: from building a network of proteostasis regulatory pathways to combinatorial targeting. (A rational approach to develop novel drugs for the treatment of Cystic Fibrosis)**" Alberto Luini (Centro Nazionale Ricerche, Dip. di Scienze Biomediche, Istituto di Biochimica delle Proteine, Napoli)

Publications

- Hegde RN. et al. "Unravelling druggable signalling networks that control F508del-CFTR proteostasis" *Elife*, 2015 Dec 23;4. pii: e10365. doi: 10.7554

- FFC Project#3/2014 " **Testing CFTR in epithelial organoids for drug development and diagnosis of cystic fibrosis**" Melotti Paola (Centro Fibrosi Cistica, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona), Hugo de Jonge (Gastroenterology & Hepatology, Erasmus University Medical Center, Rotterdam)

Abstracts

- Caldres S. et al. "CFTR in epithelial organoids: relevance for drug development and diagnosis of cystic fibrosis", 1st Italian CF Young Investigator Meeting, January 16th - 17th 2015, Rome, Italy
- Caldres S. et al. "CFTR function in epithelial organoids" 10th European CF Young Investigator Meeting, Paris, 2016, February 10-12 .Oral Communication
- Sorio C., et al. "Combined standardized and new CFTR functional tests for improving diagnosis" 13th ECFS Basic Science Conference, 30 March – 02 April 2016, Pisa, Italy
- Caldres S. et al "Intestinal epithelial organoids contribute to combination of functional tests supporting drug development and diagnosis" 13th ECFS Basic Science Conference, 30 March – 02 April 2016, Pisa, Italy
- Sorio C. et al. "Una combinazione di test (sia standardizzati che nuovi) per supportare la diagnosi FC e diagnosi incerte" 39th European Cystic Fibrosis Conference, 8 – 11 June 2016, Basel, Switzerland
- Sorio C. et al. "Combining standardized and new CFTR functional tests for diagnosis" 29th Annual North American Cystic Fibrosis Conference October 8-10, 2015, Phoenix, Arizona
- Caldres S. et al. "Intestinal epithelial organoids contribute to combination of CFTR functional tests supporting drug development and diagnosis" 29th Annual North American Cystic Fibrosis Conference October 8-10, 2015, Phoenix, Arizona
- Caldres S, Baruzzia A, Vercellone S et al.. "Studio del canale CFTR su organoidi derivati da mucosa rettale per lo sviluppo di terapie

personalizzate e il supporto diagnostico in fibrosi cistica" XII Congresso Italiano Fibrosi Cistica, Salerno, 9-12 Novembre 2016

- FFC Project#4/2014 " **The molecular structure and the folding of the whole Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR): correctors sites**" Oscar Moran (Istituto di Biofisica, Consiglio Nazionale delle Ricerche - CNR, Genova)

Publications

- Pollock NL et al. "Structure of wild type and mutant F508del CFTR: A small-angle X-ray scattering study of the protein-detergent complexes" *J Struct Biol.* 2016 Apr;194(1):102-11. doi: 10.1016/
- Moran O. "The biophysics, biochemistry and physiology of CFTR" *Cell and molecular life sciences* 2017 Jan;74(1):1-2. doi: 10.1007/s00018-016-2384-x. Epub 2016 Oct 4
- Moran O. "The gating of the CFTR channel" *Cell and molecular life sciences* 2017; 74: 85-92

Abstracts

- Moran O, Pollock N, Satriano L, Zegarra-Moran O, Ford R et al. "A small-angle x-ray scattering study of the wild type and mutant F508del CFTR: a very thorough analysis" 13th ECFS Basic Science Conference, 30 March – 02 April 2016, Pisa, Italy

- FFC Project#6/2014 " **Development of novel methodologies for the identification of CFTR-targeted drugs: a multidisciplinary approach using Real Time Surface Plasmon Resonance interaction assay supported by bioinformatics strategies on HPC infrastructures**" Marco Rusnati (Dip. di Medicina Molecolare e Traslazionale, Università di Brescia, Unità Analisi Interazione Macromolecolare-Sez. di Oncologia Sperimentale e Immunologia)

Publications

- Rusnati M, Sala D, Orro A et al. "Speeding Up the Identification of Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator-Targeted Drugs: An Approach Based on Bioinformatics Strategies and Surface Plasmon Resonance" *Molecules* 2018 Jan 8;23(1).

- FFC Project#7/2014 " **A kinase-directed approach to rescue functionality of F508del CFTR**" Andrea Venerando (Dip. Scienze Biomediche, Università di Padova)

Publications

- Ibrahim SH, Turner MJ, Saint-Criq V et al "CK2 is a key regulator of SLC4A2-mediated Cl⁻/HCO₃⁻ exchange in human airway epithelia" *European Journal of Physiology* 2017 Sep;469(9):1073-1091.

- FFC Project#8/2014 " **Design and synthesis of improved analogs of trimethylangelicin (TMA) for personalized treatment of cystic fibrosis**" Roberto Gambari (Dip. di Scienze della Vita e Biotecnologie, Sez. di Biochimica e Biologia Molecolare, Università di Ferrara) Adriana Chilin (Dip. di Farmaceutica e Scienze Farmacologiche, Università di Padova)

Abstracts

- Lampronti I, Milani R, Manzoni G et al "Anti-inflammatory activity of novel 4,6,4'-trimethylangelicin's analogues: Effects on the NF-kappa B activity and IL-8 expression in Cystic Fibrosis IB3-1 cells" *International Journal of Molecular Medicine*, 38, S71-S71, 2016

- FFC Project#1/2015 " **Relationship between mitochondria and F508del-CFTR in Cystic Fibrosis**" Anna Atlante (IBBE - Istituto delle Biomembrane e Bioenergetica, CNR Bari)

Publications

- Atlante A. et al. "Mitochondria and Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Dialogue: Some News" *J Bioenerg Biomembr* DOI 10.1007/s10863-016-9663-y
- de Bari L, Favia M, Bobba A et al. "Aberrant GSH reductase and NOX activities concur with defective CFTR to pro-oxidative imbalance in cystic fibrosis airways" *J Bioenerg Biomembr* 2018 Mar 9.

- FFC Project#2/2015 " **RNF5/RMA1 ubiquitin ligase as a drug target for mutant CFTR rescue**" Andrea Cavalli (Dipartimento di Farmacia e Biotecnologie - Università di Bologna) Nicoletta Pedemonte (U.O.C. Genetica Medica - Istituto G. Gaslini, Genova)

Publications

- Li H, Pesce M, Sheppard DN et al "Therapeutic approaches to CFTR dysfunction: From discovery to drug development" *J Cyst Fibros.* 2018 Mar;17(2S):S14-S21
- Tomati V, Caci E, Ferrera L et al. "Thymosin α -1 does not correct F508del-CFTR in cystic fibrosis airway epithelia" *JCI Insight* 2018 Feb 8;3(3)

Abstracts

- Pedemonte N "Therapeutic potential of proteostasis modulation in

- cystic fibrosis" 14th ECFS Basic Science Conference, 29 March – 1 April 2017, Albufeira, Portugal
- Sondo E, Falchi F, Caci E et al. "RNF5 inhibitors as potential drugs for cystic fibrosis basic defect" ECFC Basic Science Conference 2018, 21 -24 March 2018, Loutraki Korinthias, Greece
 - FFC Project#3/2015 **"Relationship between mitochondria and F508del-CFTR in Cystic Fibrosis"** Hugo de Jonge (Dipartimento di Gastroenterologia ed Epatologia - Centro Medico, Erasmus University, Rotterdam), Sara Caldred (Dip. di Patologia e Diagnostica, sezione di Patologia Generale - Università di Verona)

Abstracts

 - Caldred P. et al. "Una combinazione di test per studiare il funzionamento di CFTR e favorire lo sviluppo di nuovi farmaci" 39th European Cystic Fibrosis Conference, 8-11 June 2016, Basel, Switzerland
 - Bijvelds M, Meijssen K, Peppelenbosch M et al "Chloride and bicarbonate transport in intestinal organoids: differential effects of CFTR modulators and mutations" 17th Scientific Meeting "Organoids as models for disease and treatment in CF" September 21st + 22nd 2017 Schloss Waldhausen/Mainz
 - de Jonge H, Meijssen KF, Beekman JM "Correction of abnormalities in bicarbonate transport in CF intestinal organoids by CFTR modulators" North American Cystic Fibrosis Conference (NACFC), November 2-4, 2017, Indianapolis
 - FFC Project#5/2015 **"The plant cytokine kinetin and its analogues as potential therapeutic agents to correct CFTR splicing defects"** Stefano Duga (Università Humanitas, Milano)

Publications

 - Straniero L, Soldà G, Costantino L et al. "Whole-gene CFTR sequencing combined with digital RT-PCR improves genetic diagnosis of cystic fibrosis" *J Hum Genet* 2016 Dec;61(12):977-984. doi: 10.1038/jhg.2016.101.
 - FFC Project#6/2015 **"Evaluation of the biological and therapeutic properties of mesoangioblasts-vessel associated progenitor cells in the cell based therapy of the cystic fibrosis disease"** Graziella Messina (Dipartimento di Bioscienze - Università degli Studi di Milano)

Abstracts

 - Bonfanti C. et al. "Mesoangioblasts - vessel associated progenitor cells- engraft epithelial tissues and express functional CFTR channel: prospects and promise for a cell therapy for Cystic Fibrosis" 10th Stem Cells, Cell Therapies and Bioengineering in Lung Biology & Lung Disease Conference; University of Vermont, Burlington VT, USA (July 27-30, 2015)
 - Vezzali C. et al. "Mesoangioblasts -vessel associated progenitor cells- engraft epithelial tissues and express CFTR channel: prospects and promise for a cell therapy for Cystic Fibrosis" International Society for Stem Cell Research (ISSCR) Annual Meeting, San Francisco CA, USA (June 22-25, 2016)
 - Vezzali C. et al. "Mesoangioblasts -vessel associated progenitor cells- engraft epithelial tissues and express CFTR channel: prospects and promise for a cell therapy for Cystic Fibrosis" 1st YOUNG SCIENTIST WORKSHOP on "Stem cell niche: from basic science to clinical application" Pavia, Italy (May 8-10 2016)
 - Vezzali C, Celesti G, Bonfanti C et al. "Mesoangioblasts -vessel associated progenitor cells as a novel cell-based therapy for cystic fibrosis" 14th ECFS Basic Science Conference, 29 March – 01 April 2017, Albufeia, Portugal
 - FFC Project#7/2015 **"Aminoarylthiazole derivatives as correctors of the chloride transport defect in novel cystic fibrosis: computer assisted drug design, synthesis and biological evaluation"** Enrico Millo (CEBR, Centro Eccellenza Ricerca Biomedica, Università di Genova)

Publications

 - Liessi N, Cichero E, Pesce E et al. "Synthesis and biological evaluation of novel thiazole-VX-809 hybrid derivatives as F508del correctors by QSAR-based filtering tools" *Eur J Med Chem.* 2017 Dec 8;144:179-200.
 - FFC Project#8/2015 **"Dissecting the role of TG2 in cystic fibrosis pathogenesis: identification of possible novel therapeutic targets"** Mauro Piacentini (Dipartimento di Biologia - Università di Tor Vergata, Roma), Luigi Maiuri (IERFC, Istituto Europeo per la Ricerca in Fibrosi Cistica - Istituto Scientifico San Raffaele, Milano)

Publications

 - Diaz-Hidalgo L. et al. "Transglutaminase type 2-dependent selective recruitment of proteins into exosomes under stressful cellular conditions" *Biochimica et Biophysica Acta* 1863 (2016) 2084–2092
 - Antonioli M. et al. "Emerging Mechanisms in Initiating and Terminating Autophagy" *Trends in Biochemical Sciences* 2016 Oct 17. pii: S0968-0004(16)30171-2. doi: 10.1016/j.tibs.2016.09.008
 - Rossin F, Vilella V, D'Eletto M et al "TG2 regulates the heat shock response by the post-translational modification of HSF1", *Embo Reports*, 2018 May 11. pii: e45067
 - FFC Project#9/2015 **"Identification of molecular targets to reduce the side effect of gating potentiators on the F508del-CFTR plasma membrane stability"** Anna Tamanini (Laboratorio di Patologia Molecolare, UOC Laboratorio Analisi sede di Borgo Trento, Dipartimento di Patologia e Diagnostica - Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona), Massimo Aureli (Dip. di Biotecnologia Medica e Medicina Traslazionale - Università di Milano)

Publications

 - Schiumarini D, Loberto N, Mancini G et al. "Evidence for the involvement of lipid rafts and plasma membrane sphingolipid-hydrolases in *Pseudomonas aeruginosa* infection of cystic fibrosis bronchial epithelial cells" *Mediators of Inflammation*, 2017;2017:1730245. doi: 10.1155/2017/1730245. Epub 2017 Dec 3

Abstracts

 - Tamanini A., Loberto N., Mancini G. et al. "New molecular targets to reduce the side effect of potentiators on membrane stability of rescued F508del CFTR protein in respiratory airways" The 30th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, October 27–29,2016
 - Aureli M, Munari S, Mancini G et al. "vx-809 and vx-770 modulate the sphingolipid pattern of bronchial epithelial cell lines: effect on CFTR plasma membrane stabilization" 14th ECFS Basic Science Conference, 29 March – 1 April 2017, Albufeira, Portugal
 - Mancini G, Munari S, Loberto N et al. "Role of ganglioside GM1 on CFTR stabilization at plasma membrane: a new challenge for the cystic fibrosis therapy" ECFC Basic Science Conference 2018, 21 -24 March 2018, Loutraki Korinthias, Greece
 - Mancini G, Munari S, Loberto N et al. "Ganglioside GM1 as new therapeutic strategy to improve CFTR stabilization at plasma membrane" North American Cystic Fibrosis Conference, October 18-20, 2018, Denver, CO
 - FFC Project#1/2016 **"New generation trimethylangelicin (TMA) analogues for selective modulation of defective CFTR or inflammation"** Adriana Chilin (Dipartimento di Scienze Farmaceutiche e Farmacologiche, Università di Padova)

Publications

 - Lampronti I, Manzione MG, Sacchetti G et al "Differential Effects of Angelicines Analogues on NF-κB activity and IL-8 expression in cystic fibrosis IB3-1 cells" *Mediators of Inflammation*, Volume 2017 (2017), Article ID 2389487
 - Laselva O, Marzaro G, Vaccarin C et al. "Molecular mechanism of action of Trimethylangelicin derivatives as CFTR modulators" *Frontiers in Pharmacology* 2018, July 4
 - Marzaro G, Lampronti I, D'Aversa E et al "Design, synthesis and biological evaluation of novel trimethylangelicin analogues targeting nuclear factor κB (NF-κB)" *European Journal of Medicinal Chemistry* 2018 May 10;151:285-293

Abstracts

 - Chilin A, Marzaro G, Lampronti I et al. "New trimethylangelicin analogues as modulators of defective CFTR" 14th ECFS Basic Science Conference, 29 March – 01 April 2017, Albufeira, Portugal
 - Chilin A "New generation trimethylangelicin (TMA) analogues for selective modulation of defective CFTR or inflammation" 14th Convention of FFC investigators in Cystic Fibrosis, 24-26 novembre 2016, Garda, Verona
 - Laselva O, Marzaro G, Lampronti I et al. "Structurally diverse Trimethylangelicin derivatives correct the primary defect in p.Phe508del-CFTR by stabilizing the first membrane-spanning domain" ECFC Basic Science Conference 2018, 21 -24 March 2018, Loutraki Korinthias, Greece
 - FFC Project#3/2016 **"MicroRNA Therapeutics in CF: Targeting CFTR and inflammation networks (MicroRNA-CF)"** Roberto Gambari (Dipartimento di Scienze della vita e Biotecnologie, Sezione di Biochimica e Biologia Molecolare, Università di Ferrara)

Publications

 - Lampronti A, Finotti A, Bianchi N et al "Natural substances in the treatment of cystic fibrosis" *Clinical Immunology, Endocrine and Metabolic Drugs* 2016, 3, 130-139
 - Fabbri E, Tamanini A, Jakova T et al. "A Peptide Nucleic Acid against

MicroRNA miR-145-5p Enhances the Expression of the Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) in Calu-3 Cells” *Molecules* 2017 Dec 29;23(1)

Abstracts

- Bergamini G, Calcaterra E, Tridello G et al. “Sviluppo di un test della funzione CFTR *in vivo*: Misurazione in singole ghiandole sudoripare umane mediante immagini della sudorazione dipendente dal canale difettoso in fibrosi cistica rispetto a quella indipendente” XXII Congresso Italiano Fibrosi Cistica, Salerno, 9-12 Novembre 2016

- FFC Project#4/2016 “**Development of a PI3K γ -derived peptide as a novel F508del-CFTR potentiator**” Alessandra Ghigo (Dipartimento di Biotecnologia Molecolare e Scienze della Salute, Università di Torino)

Abstracts

- Ghigo A, Murabito A, Ren K et al. “Targeting PI3K γ scaffold function to activate airway CFTR, limit lung inflammation and promote bronchorelaxation in cystic fibrosis” 14th ECFS Basic Science Conference, 29 March – 01 April 2017, Albufeira, Portugal

- Ghigo A, Murabito A, Ren K et al “Targeting PI3K γ scaffold function to activate airway CFTR, limit lung inflammation and promote bronchorelaxation in cystic fibrosis” North American Cystic Fibrosis Conference 2017 - Indianapolis (USA) – November 2-4, 2017

- FFC Project#5/2016 “**Implementation of a new imaged-controlled sweat test for *in vivo* quantification of CFTR function: value for diagnosis and efficacy of new therapies**” Teresinha Leal (Centro di Lovanio per Tossicologia e Farmacologia Applicata-LTAP, Istituto di Ricerca Clinica e Sperimentale-IREC, Università Cattolica di Lovanio), Stefano Ceri (Dipartimento di Elettronica, Informazione e Bioingegneria, Università di Milano); Nguyen-Khoa Thao (Necker-Enfants Malades Hospital, AP-HP Laboratory of General Biochemistry, Paris)

Publications

- Bergamini G, Tridello G, Calcaterra E et al “Ratiometric sweat secretion optical test in cystic fibrosis, carriers and healthy subjects” *Journal of Cystic Fibrosis*, 2018 Mar;17(2):186-189

Abstracts

- Teresinha L., Viphonephom P., Hoyep Tchanchou A. et al. “False-positive beta-sweat secretion test” The 30th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, October 27–29, 2016

- Calcaterra E, Tridello G, Leal T et al. “Sviluppo di un test della funzione CFTR *in vivo*: misurazione in ghiandole sudoripare umane mediante immagini della sudorazione dipendente dal canale difettoso in fibrosi cistica rispetto a quella indipendente” Congresso Nazionale SIFC, 9-11 Novembre 2016, Salerno

- Bergamini G, Calcaterra E, Ceri S et al “Testing CFTR function *in vivo* by imaged ratiometric measurement of beta adrenergic/cholinergic sweat rate in human sweat glands” 17th Scientific Meeting “Organoids as models for disease and treatment in CF, September 21st + 22nd 2017 Schloss Waldhausen/Mainz

- Leal T, Noel S, Bergamini G et al “Topical eye treatment with β -blocker abolishes sweat secretion triggered by intradermal isoprenaline plus aminophylline: a clinical observation” ECFS 40th European Cystic Fibrosis Conference, 7-10 Giugno 2017, Siviglia, Spagna

- Melotti P, Lecca P, Esposito V et al. “Measurements of beta adrenergic vs cholinergic sweat rates in single human sweat glands” North American Cystic Fibrosis Conference (NAFC), October 18-20, 2018, Denver, CO, US

- FFC Project#7/2016 “**Human intestinal organoids for detecting CFTR rescue molecules in human plasma samples**” Paola Melotti (Centro Fibrosi Cistica, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona)

Abstracts

- Caldre S, Baruzzi A, Vercellone S et al “Intestinal epithelial organoids contribute to supporting drug development and diagnosis” 17th Scientific Meeting “Organoids as models for disease and treatment in CF” September 21st + 22nd 2017 Schloss Waldhausen/Mainz”

- Caldre S, Baruzzi A, Vercellone S et al. “A collection of intestinal epithelial organoids to support the development of drugs and diagnostic in cystic fibrosis by combining CFTR functional tests in personalized medicine” ECFC Basic Science Conference 2018, 21 -24 March 2018, Loutraki Korinthias, Greece

- Baruzzi A, Caldre S, Lecca M et al. “CORVO: a software tool for computing volume of complex biological structures in medical images and videos” SIAM Conference on Imaging Science, Bologna, June 5-8, 2018

- Lecca P, Lecca M, Caldre S et al. “Computing volumes of organoids from 3D confocal acquisition with CORVO” North American Cystic Fibrosis Conference (NAFC), October 18-20, 2018, Denver, CO, USA

- Lecca P, Lecca M, Caldre S et al. “Computing volumes of organoids from 3D confocal acquisition with CORVO” North American Cystic Fibrosis Conference (NAFC), October 18-20, 2018, Denver, CO, USA

- Rescigno F, Farinazzo A, Esposito V et al. “CFTR-dependent bicarbonate transport in human rectal biopsies carrying CFTR variants” North American Cystic Fibrosis Conference (NAFC), October 18-20, 2018, Denver, CO, USA

- FFC Project#8/2016 “**Identification of the binding sites of CFTR correctors**” Oscar Moran (Istituto di Biofisica, Consiglio Nazionale delle Ricerche-CNR, Genova)

Abstracts

- Moran O “Correction of the CFTR folding defect: a pessimistic view of the state of the art. Biophysical approaches to protein folding and disease” European Biophysics Societies Association 2017 Satellite Meeting, Edinburgh, United Kingdom, 20-21 July, 2017

- Moran O “Structural insights into the action of CFTR modulators” ECFS Conference, Sevilla, Spain, 7-10 June, 2017

- FFC Project#10/2016 “**Modulation of protein kinase CK2 in the regulation of chaperone machinery leading the F508del-CFTR fate**” Mauro Salvi (Dipartimento di Scienze Biomediche, Università di Padova)

Publications

- Franchin C, Borgo C, Cesaro L et al. “Re-evaluation of protein kinase CK2 pleiotropy: new insights provided by a phosphoproteomics analysis of CK2 knockout cells” *Cellular and Molecular Life Sciences* 2018 Jun;75(11):2011-2026.

- Borgo C, Vilarde J, Travain-Bosello V et al. “Dependence of HSP27 cellular level on protein kinase CK2 discloses novel therapeutic strategies” *BBA - General Subjects* 2018 Dec;1862(12):2902-2910

- FFC Project#11/2016 “**Myriocin potential as a phenotype-modifying herapeutical in cystic fibrosis**” Paola Signorelli (Dipartimento di Scienze della Salute, Ospedale San Paolo, Università di Milano)

Publications

- Caretti A, Vasso M, Bonezzi FT et al “Myriocin treatment of CF lung infection and inflammation: complex analyses for enigmatic lipids” *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2017 Aug;390(8):775-790.

- FFC Project#12/2016 “**Properties of airway mucus in cystic fibrosis: their modification by changes in the activity of CFTR and after application of bicarbonate**” Loretta Ferrera (U.O.C. Genetica Medica, Istituto Giannina Gaslini, Genova)

Abstracts

- Ferrera L, Gianotti A, Delpiano L et al. “Bicarbonate directly reduces the mucus micro-viscosity in primary bronchial cells monolayers” ECFC Basic Science Conference 2018, 21 -24 March 2018, Loutraki Korinthias, Greece

- Moran O, Baroni D, Ferrera L “Lumacaftor-rescued 508del-CFTR has a reduced bicarbonate permeability” ECFC Basic Science Conference 2018, 21 -24 March 2018, Loutraki Korinthias, Greece

- Baroni D, Moran O and Ferrera L “Lumacaftor-rescued F508del-CFTR has a reduced bicarbonate permeability” 15th ECFS Basic Science Conference, Loutraki (Greece), March 21-24, 2018

- Ferrera L, Gianotti A, Delpiano L et al. “Bicarbonate directly reduces the mucus micro-viscosity in primary bronchial cells monolayers” 15th ECFS Basic Science Conference, Loutraki (Greece), March 21-24, 2018

- FFC Project#1/2017 “**SpliceFix: fixing splicing defects in the CFTR gene through CRISPR/Cas9 technology**” Anna Cereseto (Centro per la Biologia Integrata - CIBIO, Università degli Studi di Trento)

Abstracts

- Maule G, Casini A, Montagna C et al. “Permanent repair of splicing defect in cystic fibrosis through AsCas12a genome editing” European Society of Gene and Cell Therapy (ESGCT) - Changing Modern Medicine: Stem Cells & Gene, Lousanne, Switzerland, October 16-19, 2018

- Maule G, Ramalho A, Arosio D et al. “Genome editing strategies to restore altered splicing events in cystic fibrosis” 12th European CF Young Investigators’ Meeting (EYIM), Paris, Institute Pasteur, February 21-23, 2018 (best oral presentation)

- FFC Project#3/2017 **“Optimization of a new lead promoting the readthrough of nonsense mutations for the CFTR rescue in human CF cells”** Laura Lentini (Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche Chimiche e Farmaceutiche, Sez. Biologia Cellulare, Università degli Studi di Palermo)

Publications

- Pibiri I, Lentini L, Melfi R et al. “Rescuing the CFTR protein function: Introducing 1,3,4-oxadiazoles as translational readthrough inducing drugs” *European Journal of Medicinal Chemistry* 2018 Nov 5;159:126-142.

- FFC Project#6/2017 **“Pharmacophore and pharmacokinetic filtering tools guiding for the design and synthesis of novel thiazole-containing and VX-809 hybrid derivatives as F508del correctors”** Enrico Millo (Centro di Eccellenza per la Ricerca Biomedica - CEBR, Università degli Studi di Genova)

Abstracts

- Righetti G, Liessi N, Pesce E et al. “Computational approaches for the design and chemical synthesis of novel F508del correctors in the treatment of cystic fibrosis” IX Giornate Italo-Francesi di Chimica, Genova, 16-18 aprile 2018
- Righetti G, Liessi N, Pesce E et al. “Scouting the mechanism of action of VX-809 and other F508del-CFTR correctors chemo-types by computational methods” *European School of Medicinal Chemistry ESMEC*, July, 1-5, 2018, Urbino, Italy

- FFC Project#8/2017 **“A novel Full Thickness Cystic Fibrosis model on a microfluidic chip to study pathogenic mechanisms and evaluate therapeutic strategies”** Paolo Netti (Centro per Biomateriali avanzati per la Sanità - CRIB, Istituto Italiano di Tecnologia, Napoli)

Abstracts

- Mazio C, Scognamiglio LS, Casale C et al. “Development of a 3D Full thickness cystic fibrosis model on chip” 41st European Cystic Fibrosis Conference, Belgrade, Serbia, 6-9 June 2018
- Scognamiglio LS, Mazio C, Casale C et al. “Development of a 3D full thickness cystic fibrosis model on chip” *ThermSchool2018*, University of Trento, 18-22 June 2018

- FFC Project#9/2017 **“RNF5 inhibitors as potential drugs for Cystic Fibrosis basic defect”** Nicoletta Pedemonte (Istituto G. Gaslini, U.O.C. Genetica Medica, Genova)

Abstracts

- Tomati V, Sondo E, Pesce E et al. “Novel regulators of F508del-CFTR identified by means of a functional genomics approach in human bronchial epithelial cells: possible mechanisms of action” *North American Cystic Fibrosis Conference (NACF)*, October 18-20, 2018, Denver, CO, USA

- FFC Project#11/2017 **“Development of a peptide derived from the enzyme PI3Kγ as a new and effective potentiator of the mutant F508del-CFTR”** Alessandra Ghigo (Dipartimento di Biotecnologie Molecolari e Scienze per la Salute, Università degli Studi di Torino)

Abstracts

- Ghigo A, Murabito A, Ren K et al. “Development of a PI3Kγ-derived peptide as a standalone therapy to activate F508del-CFTR, limit lung inflammation and promote bronchorelaxation in Cystic Fibrosis” 15th ECFS Basic Science Conference – Loutraki (Greece) – March 21-24, 2018
- Murabito A, Ren K, Pirozzi F et al. “Exploiting a PI3Kγ Mimetic Peptide as a standalone drug to restore CFTR function, reduce inflammation and limit obstruction of the respiratory tract in cystic fibrosis” *SIBBM 2018*, *Frontiers in Molecular Biology*, Rome, Italy, June 20-22, 2018
- Murabito A, Ren K, Pirozzi F et al. “Exploiting a PI3Kγ Mimetic Peptide as a standalone drug to restore CFTR function, reduce inflammation and limit obstruction of the respiratory tract in cystic fibrosis” 15th ECFS Basic Science Conference – Loutraki (Greece) – March 21-24, 2018
- Murabito A, Ren K, Melotti P et al. “Exploiting a PI3Kγ mimetic peptide as a single molecule with three independent therapeutic benefits in cystic fibrosis” *North American Cystic Fibrosis Conference (NACF)*, October 18-20, 2018, Denver, CO, USA

- FFC Project#TFCF **“Task Force for Cystic Fibrosis”**, Luis Galiotta (Lab. Genetica Molecolare, Ist. “G. Gaslini”, Genova), Tiziano Bandiera (Istituto italiano di tecnologia, Genova)

Publications

- Sondo E. et al. “Evaluation of a systems biology approach to identify pharmacological correctors of the mutant CFTR chloride channel”

Journal of Cystic Fibrosis 2016 Jul;15(4):425-35. doi: 10.1016/j.jcf.2016.02.009.

Abstracts

- Pedemonte N. et al. “Task force for CF: an Italian drug discovery project to identify novel correctors and potentiators of F508del-CFTR” 12th ECFS Basic Science Conference, 25-28 Marzo 2015, Algarve, Portugal
- Pedemonte N. et al. “Task Force for CF an Italian drug discovery project to identify novel correctors and potentiators of F508del-CFTR”, 29th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, October 8-10, 2015, Phoenix (Arizona)
- Bandiera T, Pedemonte N, Caci E. et al. “Task Force for Cystic Fibrosis: identification of novel F508del-CFTR modulators” 13th ECFS Basic Science Conference, 30 March – 02 April 2016, Pisa, Italy
- Galiotta L. “Scoperta di nuovi farmaci: il panorama della ricerca accademica” 39th European Cystic Fibrosis Conference, 8 – 11 June 2016 | Basel, Switzerland”

- FFC Project#TFCF 2 **“Task Force for Cystic Fibrosis 2”**, Luis Galiotta (Lab. Genetica Molecolare, Ist. “G. Gaslini”, Genova), Tiziano Bandiera (Istituto italiano di tecnologia, Genova)

Abstracts

- Bandiera T, Pedemonte N, Caci E et al. “Task Force for Cystic Fibrosis: identification of novel F508del-CFTR modulators” 13th Basic Science Conference, 30 March-2 April 2016, Pisa

- FFC Project#TFCF 3 **“Task Force for Cystic Fibrosis 3”**, Luis Galiotta (Lab. Genetica Molecolare, Ist. “G. Gaslini”, Genova), Tiziano Bandiera (Istituto italiano di tecnologia, Genova)

Abstracts

- Bertozzi F, Bandiera T, Di Fruscia P et al. “Task force for cystic fibrosis (TFCF): discovery and characterization of potent F508del-CFTR modulators” 14th ECFS Basic Science Conference, 29 March – 1 April 2017, Albufeira, Portugal
- Bandiera T, Sorana F, Berti F et al “Discovery and characterization of potent F508DEL-CFTR correctors” *North American Cystic Fibrosis Congress (NACFC)*, November 2-4, 2017, Indianapolis
- Bandiera T, Sorana F, Berti F et al. “New correctors rescue F508del-CFTR activity at a low nanomolar concentrations” *ECFC Basic Science Conference 2018*, 21 -24 March 2018, Loutraki Korinthias, Greece

2. GENETICS

Genetica

- FFC Project#6/2011 **“CFTR mRNA analysis as a key step to understand the role of CFTR gene mutations in cystic fibrosis disease expression”** Stefano Duga (Dip. Biologia e Genetica per le Scienze Mediche, Università di Milano)

Publications

- Costantino L. et al. “Fine characterization of the recurrent c.1584+18672A>G deep-intronic mutation in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene” *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2013 May;48(5):619-25

Abstracts

- Rusconi D. et al. “Fine characterization of the recurrent c1584+18672A>G deep-intronic mutation in the CFTR gene” *European Human Genetics Conference 2012*

- FFC Project#7/2011 **“New strategies for clinical application of non-invasive prenatal diagnosis of cystic fibrosis based on the analysis of fetal mutated alleles in maternal plasma”** Maurizio Ferrari (Lab. Biologia Clinica Molecolare e Citogenetica, Università Vita-Salute HSR, Milano), Marina Cretich (Ist. di Chimica del Riconoscimento Molecolare, CNR, Milano)

Abstracts

- Galbiati S. et al. “Non-invasive prenatal diagnosis of genetic diseases by advanced technologies” 3rd Congress of the European Society of Predictive Medicine (EUSPM), 9th- 10th March 2013, Riolo Terme (RA), Italy
- Galbiati S. et al. “Non-invasive prenatal diagnosis of genetic diseases by advanced technologies” *Clinical Biochemistry* (2012) doi:10.1016/j.clinbiochem. 2013.05.030
- Galbiati S. et al. “Noninvasive prenatal diagnosis of cystic fibrosis” *EUROMEDLAB*, Milano, 19-23 May 2013
- Galbiati S. et al. “Fetal DNA in maternal plasma: a noninvasive tool for prenatal diagnosis of genetic diseases by COLD-PCR and Innova-

tive Microarray Substrates" International Meeting on Cell-free DNA, Copenhagen, 2013, 20th- 21st

- FFC Project# 8/2011 **"A field study in an area of extensive carrier screening for cystic fibrosis"** Carlo Castellani (Centro Regionale FC, Azienda Ospedaliera Universitaria, Verona), Luigi Picci (Clinica Pediatrica, Azienda Ospedaliera, Padova)

Abstracts

- Castellani C. et al. "Carrier screening and Neonatal screening for cystic fibrosis: a complex relationship" Presentazione a European Society of Human Genetics Conference, Milan 2014
- Castellani C. et al. Poster "Population carrier screening reduces dramatically Cf incidence: evidence from a twenty years' experience" 28th North American Cf Conference, Atlanta October 9-11 2014
- Castellani C. et al. Poster "Population carrier screening impairs positive predictive value of CF newborn screening: evidence from a twenty years' experience" 28th North American CF Conference, Atlanta October 9-11 2014

- FFC Project# 9/2011 **"Cystic fibrosis: to screen or not to screen? Involving citizens' jury in decision on carrier screening"** Paola Mosconi (Ist. Ricerche Farmacologiche Mario Negri, Lab. for Medical Research and Consumer Involvement), Carlo Castellani (Centro Regionale FC, Azienda Ospedaliera Universitaria, Verona)

Publications

- Mosconi A. et al. "Cystic fibrosis: to screen or not to screen? Involving a Citizens' jury in decisions on screening carrier" Health Expectations doi:10.1111/hex.12261

- FFC Project#9/2014 **"Cystic fibrosis modifier genes related to *Pseudomonas aeruginosa* lung disease"** Alessandra Bragonzi (Unità di Infezioni e Fibrosi cistica, Divisione di Immunologia, Trapianti e Malattie infettive, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano), Iraqi Fuad (Clinical Microbiology and Immunology, Tel Aviv University)

Publications

- Lorè NI. et al. "Host genetic diversity influences the severity of *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia in the Collaborative Cross mice" BMC Genet. 2015 Aug 28;16:106

Abstracts

- Lorè NI. et al. "Host genotype influences *Pseudomonas aeruginosa* susceptibility in the Collaborative Cross and inbred mouse populations", 28th Annual North American Cystic Fibrosis Conference – Georgia, October 9-11, 2014
- Cigana C. et al. "*Pseudomonas aeruginosa* adaptation as a potential risk factor to the progression of cystic fibrosis airway disease in mice and humans", 38th ECFS Conference, Brussels, Belgium, 10-13 June 2015

- FFC Project#10/2017 **"Alternative strategies for F508del-CFTR repair: novel targets for drug discovery approach in Cystic Fibrosis"** Giorgio Cozza (Dipartimento di Medicina Molecolare, Università degli Studi di Padova)

Publications

- Purzner T, Purzner J, Buckstaff T et al "Developmental phosphoproteomics identifies the kinase CK2 as a driver of Hedgehog signaling and a therapeutic target in medulloblastoma" Science Signaling 2018 Sep 11;11(547).

- FFC Project#1/2018 **"Proteomic profiling of F508del-CFTR cells to identify new pharmacological targets for CF"** Andrea Armirotti (Analytical Chemistry Facility, Fondazione Istituto Italiano di Tecnologia, Genova)

Publications

- Braccia C, Tomati V, Caci E et al. "SWATH label-free proteomics for cystic fibrosis research" Journal of Cystic Fibrosis, 2018 Oct 19. pii: S1569-1993(18)30855-5

3. MICROBIOLOGY/INFECTION

Microbiologia/Infezione

- FFC Project#9/2010 **"Pathogenicity of *Staphylococcus aureus* and its role in the progression of *Pseudomonas aeruginosa* chronic lung infection"** Daniela Maria Cirillo (Emerging Bacterial Pathogens Unit, Div. of Immunology, Transplantation and Infectious Disease, Scientific Institute H. S. Raffaele, Milano), Alessandra Bragonzi (Infections and Cystic Fibrosis Unit, Division of Immunology, Transplantation and Infectious Disease, H. S. Raffaele, Milano), Barbara

Kahl (UniversitätsKlinikum Münster, Institute für Medizinische Mikrobiologie, Münster)

Publications

- Baldan R. et al. "Factors contributing to epidemic MRSA clones replacement in a hospital setting" PLoS One. 2012;7(8):e43153.
- Montuschi P. et al. "Letter to Editor- Nuclear Magnetic Resonance-based Metabolomics Discriminates Primary Ciliary

Dyskinesia from Cystic Fibrosis" American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine Vol 190 No 2

- Montuschi P. et al. "Nuclear magnetic resonance-based metabolomics discriminates primary ciliary dyskinesia from cystic fibrosis" Am J Respir Crit Care Med. 2014 Jul 15;190(2):229-33
- Baldan R. et al. "Adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* in Cystic Fibrosis airways influences virulence of *Staphylococcus aureus* in vitro and murine models of co-infection" PLoS One. 2014 Mar 6;9(3):e89614
- Cigana C, Bianconi I, Baldan R et al. "*Staphylococcus aureus* Impacts *Pseudomonas aeruginosa* Chronic Respiratory Disease in Murine Models" Journal of Infectious Diseases 2018 Mar 5;217(6):933-942

Abstracts

- Cigana C, Bianconi I, De Simone M et al. "Modeling chronic lung infection by staphylococcus aureus to track its role in the progression of *Pseudomonas aeruginosa* chronic respiratory disease" The 30th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, October 27–29, 2016

- FFC Project#10/2010 **"Exploring thermostable quorum quenching lactonases to counteract bacterial infections in cystic fibrosis"** Giuseppe Manco (Istituto di Biochimica delle Proteine CNR, Napoli); Davide Andrenacci (Istituto di Genetica e Biofisica CNR, Napoli)

Publications

- Porzio E. et al. "Mn²⁺ modulates the kinetic properties of an archaeal member of the PLL family" Chem Bio Int, 2013 Mar 25;203(1):251-6 (2012)

- Mandrich L. et al. "Exploring thermostable quorum quenching lactonases to counteract bacterial infections in cystic fibrosis" in Science and Technology against microbial pathogens. Research, Development and Evaluation, pp. 150-154 (2011)

- Mandrich L. et al. "Fighting microbial infections: a lesson from skin-derived esculetin-1peptidesAn Engineered Version of Human PON2 Opens the Way to Understand the Role of Its Post-Translational Modifications in Modulating Catalytic Activity" PLoS ONE 2015 Dec 10;10(12):e0144579. doi: 10.1371

Abstracts

- Porzio E. et al., "Exploring thermostable quorum quenching lactonases as a tool to interfere with *Pseudomonas aeruginosa* infections in cystic fibrosis" Cell Biology and Pharmacology of Mendelian Disorders, 7-11 October 2011, Vico Equense, Italy

- Porzio E. et al. "Exploring paraoxonases/lactonases to counteract *Pseudomonas* infection" Fifth International Conference on Paraoxonases (5PON), July 15-18 2012, Columbus, Ohio, USA. (Poster) P56

- Porzio E. et al. "Quorum quenching activity of archaeal lactonases against *Pseudomonas aeruginosa* in a *Drosophila* infection mode" 2015 1 International Symposium on Quorum Sensing Inhibition. Santiago de Compostela, Spain

- FFC Project #13/2010 **"*Pseudomonas aeruginosa* lipopolysaccharide cell surface transport is a target process for developing new antimicrobials"** Alessandra Polissi (Dip. Biotecnologie e Bioscienze, Università Milano-Bicocca), Martino Bolognesi (Dip. Scienze Biomolecolari e Biotecnologie, Università di Milano), Gianni Dehò (Dip. Scienze Biomolecolari e Biotecnologie, Università di Milano), Francesco Peri (Dip. Biotecnologie e Bioscienze, Università Milano-Bicocca) Cristina De Castro (Dip. Chimica Organica e Biochimica, Università di Napoli), Luca De Gioia (Dip. Scienze Biomolecolari e Biotecnologie, Università di Milano)

Publications

- Sperandeo P. et al. "Lipopolysaccharide export to the outer membrane" In "Bacterial Lipopolysaccharide: structure, chemical synthesis, biogenesis and interaction with host cells" Knirel Y.A. and Valvano M.A. Eds., Springer WienNewYork pp. 311-337

- Villa R. et al. "The *Escherichia coli* Lpt transenvelope protein complex for lipopolysaccharide export is assembled via conserved structurally homologous domains", J Bacteriol. 2013 Mar;195(5):1100-8

- Sperandeo P. et al. "The outer membrane of Gram-negative bacteria: lipopolysaccharide biogenesis and transport" In "Bacterial Membranes: Structural and Molecular Biology" Remaut H. and Fronzes R. Eds., Horizon Scientific Press.

Abstracts

- Martorana A. et al. "New insights into the Lpt Machinery for Lipopolysaccharide transport to the cell surface: functional dissection of LptC protein" 12th FIVS Congress, Rome, September 24-27, 2012
- FFC Project #14/2010 "Non-conventional strategies against *Pseudomonas aeruginosa* infection: interference with iron homeostasis and quorum sensing" Paolo Visca (Dipart. Biologia, Università Roma Tre, Roma); Livia Leoni (Dipart. Biologia, Università Roma Tre, Roma)

Publications

- Bazzini S. et al., "Deciphering the role of RND efflux transporters in *Burkholderia cenocepacia*" 2011. PLoS One. 6:e18902.
- Venturi V. et al., "The virtue of temperance: built-in negative regulators of quorum sensing in *Pseudomonas*" Mol Microbiol. 2011 Dec;82(5):1060-70
- Rampioni G. et al., "Functional characterization of the Quorum Sensing Regulator RsaL in the plant-beneficial strain *Pseudomonas putida* WCS358" Appl Environ Microbiol. 2012 Feb;78(3):726-34.
- Minandri F. et al., "Promises and failures of gallium as an antibacterial agent" Future Microbiology, 2014, 9(3), 379-397
- Bonchi C. et al. "Repurposing of gallium-based drugs for antibacterial therapy" Biofactors 2014 May-Jun;40(3):303-12.
- Frangipani E. et al. "Pyochelin Potentiates the Inhibitory Activity of Gallium on *Pseudomonas aeruginosa*" Antimicrob Agents Chemother. 2014 Sep;58(9):5572-5

Abstracts

- Buroni S. et al., "The role of RND efflux transporters in *Burkholderia cenocepacia* life" International *Burkholderia cenocepacia* working group – 15th annual meeting. Praga, 13-16 Aprile 2011
- Longo F. et al., "Picking up novel *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing regulators" FEMS 2011- 4th Congress of European Microbiologists. Geneva, 26-30 giugno 2011
- Buroni S. et al., "Deciphering the role of RND efflux transporters in *Burkholderia cenocepacia*. FEMS 2011- 4th Congress of European Microbiologists. Geneva, 26-30 giugno 2011
- Imperi F. et al. "A new biosensor provides fast and cost-effective identification of *Pseudomonas aeruginosa* virulence inhibitors" FEMS 2011- 4th Congress of European Microbiologists. Geneva, 26-30 giugno 2011
- Bazzini S. et al. "New insight into *Burkholderia cenocepacia* RND efflux systems" SIMGBM 2011- 29th Congress of Italian Microbiologists. Pisa, 21-23 settembre 2011
- Longo F. et al. "Picking up novel *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing regulators" SIMGBM 2011- 29th Congress of Italian Microbiologists. Pisa, 21-23 settembre 2011
- Ramachandran Pillai C. et al., "Non conventional strategies against *Pseudomonas aeruginosa*: evaluation of efflux pumps inhibitors as anti-virulence drugs" SIMGBM 2011- 29th Congress of Italian Microbiologists. Pisa, 21-23 settembre 2011

- FFC Project #10/2011 "Pulmonary delivery of inhaled peptidomimetic as novel antibiotics to control *Pseudomonas aeruginosa* infection in murine models" Alessandra Bragonzi (Infection and Cystic Fibrosis Unit, Division of Immunology, Transplantation and Infectious Disease, San Raffaele Scientific Institut, Milano), Daniel Obrecht (Polyphor Ltd, Switzerland)

Abstracts

- Bragonzi A. et al., "Evaluation Of Efficacy of POL7001 Against *Pseudomonas aeruginosa* in Lung Infection Models" 35th European Cystic Fibrosis Conference- 6-9 June 2012, Dublin
- FFC Project #11/2011 "Design, synthesis, in vitro biological evaluation and anti-biofilm activity of new beta-lactam and linezolid-like compounds as potential antibacterial agents against *Staphylococcus aureus* infections in cystic fibrosis patients" Clementina Elvezia Cocuzza (Dip. Medicina Clinica e Prevenzione, Università di Milano-Bicocca), Lisa Cariani (Fond. IRCCS Ca' Granda, Osp. Maggiore Policl., Dip. Pediatria, Milano), Daria Giacomini (Dip. Chimica, Università di Bologna)

Publications

- Cervellati R. et al. "Monocyclic -lactams as antibacterial agents: facing antioxidant activity of N-methylthio-azetidionones" Eur J Med Chem. 2013 Feb;60:340-9. doi: 10.1016/j.ejmech.2012.12.024. Epub 2012 Dec 20.
- Galletti P. et al. "Antibacterial agents and cystic fibrosis: synthesis and antimicrobial evaluation of a series of N-thiomethylazetidionones" ChemMedChem. 2011 Oct 4;6(10):1919-27. doi: 10.1002/cmdc.201100282. Epub 2011 Aug 10.

- Braschi I, Blasioli S, Fellet C, Lorenzini R, Garelli M, Giacomini D. "Persistence and degradation of new beta-lactam antibiotics in the soil and water environment" Chemosphere 2013; 93: 152-159
- Cervellati R, Galletti P, Greco E, Cocuzza C.E. et al. "Monocyclic betalactams as antibacterial agents: facing antioxidant activity of N-methyl-azetidionones" European Journal of Medicinal Chemistry 2013; 60: 340-349

Abstracts

- Soldati R. et al. "Synthesis of new bioactive betalactam derivatives (from dual activity compounds to integrin inhibitors through differentiating agents)" XXV Congresso Società Chimica Italiana

- FFC Project #12/2011 "New drugs for *Burkholderia cepacia* from Antarctic bacteria" Renato Fani (Dip. Biologia dell'Evoluzione, Università di Firenze); Maria Luisa Tutino (Dip. Chimica Organica e Biochimica, Università Federico II, Napoli); Paolo Rovero (Dip. Scienze Farmaceutiche, Università di Firenze)

Publications

- Romoli R. et al. "Characterization of the volatile profile of Antarctic bacteria by using solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry" J Mass Spectrom. 2011 Oct;46(10):1051-9.
- Papaleo MC. et al. "Sponge-associated microbial Antarctic communities exhibiting antimicrobial activity against *Burkholderia cepacia* complex bacteria" Biotechnol Adv. 2012 Jan-Feb;30(1):272-93. Epub 2011 Jun 29
- Fondi M. et al. "Draft Genome Sequence of the Volatile Organic Compound-Producing Antarctic Bacterium *Arthrobacter* sp. Strain TB23, Able To Inhibit Cystic Fibrosis Pathogens Belonging to the *Burkholderia cepacia* Complex" J Bacteriol. 2012 Nov;194(22):6334-5
- Papaleo MC. et al. "Bioactive volatile organic compounds from Antarctic (sponges) bacteria" N Biotechnol. 2013 Sep 25;30(6):824-38
- Romoli R. et al. "GC-MS volatilomic approach to study the antimicrobial activity of the antarctic bacterium *Pseudomonas* sp. TB41" Metabolomics, June 2013
- Fondi M et al. "Draft genomes of three Antarctic Psychrobacter strains producing antimicrobial compounds against *Burkholderia cepacia* complex, opportunistic human pathogens" Mar Genomics 2014 Feb;13:37-8. doi: 10.1016/j.margen.2013.12.009. Epub 2014 Jan 5.

Abstracts

- Papaleo MC. et al. "Volatile organic compounds (VOCs) from antarctic communities bacteria inhibiting cystic fibrosis pathogens" 12th FIVS Congress: 70, Roma 24-27 settembre, 2012
- Papaleo MC. et al. "Bioactive volatile organic compounds (VOCs) from antarctic sponges bacteria" EMB 2012, Bologna, Italy, April 10-12, 2012
- Lentini L., Melfi R., Pibiri I. et al. "Azione readthrough di derivati del PTC124 su sistemi modello cellulari e in cellule di epitelio bronchiale-FC IB3.1" (CFTR F508/W1282X CONVEGNO SIFC 2013, Città del Mare-Terrasini, Palermo)

- FFC Project #13/2011 "Identification and characterization of novel drugs suppressing *Pseudomonas aeruginosa* virulence in chronic infection" Livia Leoni (Dip. Biologia, Università di Roma Tre, Lab. Microbiol. Molecolare e Biotec. Microrganismi), Francesco Imperi (Dip. Biologia e Biotecnologie, Università "La Sapienza", Roma)

Publications

- Venturi V. et al. "The virtue of temperance: built-in negative regulators of quorum sensing in *Pseudomonas*" Mol Microbiol. 2011 Dec;82(5):1060-70
- Stano P. et al. "Semi-synthetic minimal cells as a tool for biochemical ICT" BioSystems, Biosystems. 2012 Jul;109(1):24-34
- Imperi F. et al. "Repurposing the antimycotic drug flucytosine for suppression of *Pseudomonas aeruginosa* pathogenicity" Proc Natl Acad Sci USA, 2013 Apr 8
- Imperi F. et al. "Pseudomonas aeruginosa pyoverdine" SciBX 6(15), April 8, 2013
- Frangipani E. et al. "The Gac/Rsm and cyclic -di-GMP signalling networks coordinately regulate iron uptake in *Pseudomonas aeruginosa*" Environ Microbiol. 2014 Mar;16(3):676-88
- Malvezzi Campeggi F. "Latest advances in drug repurposing for Cystic Fibrosis lung infections" Journal of Postdoctoral Research Vol 2:2
- Rampioni G. et al. "The art of antibacterial warfare: Deception through interference with quorum sensing-mediated communication" Bioorg Chem. 2014 Aug;55:60-8. doi: 10.1016/j.bioorg.2014.04.005. Epub 2014 Apr 21.

- FFC Project #14/2011 "Development of new host defence like peptides and lipopeptides against lung pathogens: in vitro and in vivo

studies Maria Luisa Mangoni (Dip. Scienze Biochimiche, Univ. "La Sapienza", Roma), Shai Yechiel (Dep. of Biological Chemistry, The Weizmann Institute of Science, Israel)

Publications

- Luca V. et al. "Esculentin(1-21), an amphibian skin membrane-active peptide with potent activity on both planktonic and biofilm cells of the bacterial pathogen *Pseudomonas aeruginosa*" *Cell Mol Life Sci.* 2013 Aug;70(15):2773-86. doi: 10.1007/s00018-013-1291-7. Epub 2013 Mar 16.
- Tia Sergev-Zarko et al. "A comparative study on the mechanism of biofilm inhibition and degradation by antimicrobial peptides" manuscript in preparation
- Di Grazia A. et al. "D-Amino acids incorporation in the frog skin-derived peptide esculentin-1a(1-21)NH₂ is beneficial for its multiple functions" *Amino Acids.* 2015 Jul 11. [Epub ahead of print]
- Segev-Zarko L. et al. "Mechanisms of biofilm inhibition and degradation by antimicrobial peptides" *Biochem J.* 2015 Jun 1;468(2):259-70
- Mangoni ML. et al. "Fighting microbial infections: A lesson from amphibian skin-derived esculentin-1 peptides" *Peptides.* 2015 Sep;71:286-95
- Casciaro B, Loffredo MR, Luca V et al. "Esculentin-1a Derived Antipseudomonal Peptides: Limited Induction of Resistance and Synergy with Aztreonam" *Prot. Pept. Lett.* 2018 Oct 31. doi: 10.2174/0929866525666181101104649

Abstracts

- Luca V. et al. "Antipseudomonal activity of the amphibian antimicrobial peptide Esculentin (1.21) and plausible mode of action" 2014 FISV-XIII Congress (Pisa, 24-27 September)
- FFC Project#16/2011 "**Achromobacter xylosoxidans** an emerging pathogen in Cystic Fibrosis patients: from molecular characterization to development of innovative therapeutic strategies based on the antibacterial activities of *Bdellovibrio predator* bacteria" Serena Quattrucci (Dip. Pediatria e Neuropsichiatria Inf., Univ. "La Sapienza", Policl. Umberto I, Centro fibrosi cistica, Roma), Maria Trancassini (Dip. Salute Pubblica e Malattie Infettive, Università "La Sapienza" Roma), Serena Schippa (Dip. Salute pubblica e Malattie Infettive, Univ. La Sapienza, Roma), Mauro Nicoletti (Dip. Scienze Biomediche, Università "G. D'Annunzio", Chieti)

Publications

- Iebba V. et al. "*Bdellovibrio bacteriovorus* directly attacks *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* Cystic fibrosis isolates" *Front Microbiol.* 2014 Jun 5;5:280. doi: 10.3389/fmicb.2014.00280. eCollection 2014.
- FFC Project#24/2011 "**Preclinical development of the antimicrobial peptide M33. Efficacy against *P. aeruginosa* lung infections and pharmacokinetics studies in animals**" Alessandro Pini (Dipartimento di Biotecnologie, Università di Siena)

Publications

- Falciani C. et al. "Isomerization of an Antimicrobial peptide broadens antimicrobial spectrum to Gram-Positive bacterial pathogens" *PLoS One.* 2012;7(10):e46259
- FFC Project#7/2012 "**Metalloproteases released by *Pseudomonas aeruginosa* clinical strains as virulent factors in CF: clinical correlations and chemical modulators**" Gabriella Bergamini (Dip. Patologia e Diagnostica, Sez. Patologia Generale, Università di Verona), Paola Melotti (Centro Regionale Fibrosi Cistica, AOUI Verona)

Publications

- Leal T, Bergamini G, Huaux F, Panin N et al "Azithromycin Attenuates *Pseudomonas*-Induced Lung Inflammation by Targeting Bacterial Proteins Secreted in the Cultured Medium" *Frontiers in Immunology*, 2016 Nov 15;7:499

Abstracts

- Bergamini, G., Stellari, F., Sandri A. et al. "*Pseudomonas aeruginosa* metalloproteases inhibition reduces lung damage in cystic fibrosis" 30 th Cystic Fibrosis North American Conference, October 27-29, 2016, Orlando (Florida)
- FFC Project#8/2012 "**Investigation of cystic fibrosis airway microbiome in patients showing a severe decline in lung function and not responding to conventional antimicrobial therapy**" Annamaria Bevivino (Unità per lo Sviluppo Sostenibile e Innovazione Sistema Agro-Industriale, ENEA, Roma), Alessio Mengoni (Dip. Biologia dell'Evoluzione, Università di Firenze), Giovanni Taccetti (Centro FC, Ospedale "A. Meyer", Firenze), Ersilia Fiscarelli (Laboratorio Microbiologia, Ospedale "Bambin Gesù", Roma), Graziana Manno (Dip. di Scienze Pediatriche, Università di Genova)

Publications

- Bevivino A. et al. "The evolving polymicrobial composition in the airways of patients with cystic fibrosis: implications for disease progression and clinical management" www.currentmedicalliterature.com 2013 CML-Cystic fibrosis
- Paganin P. et al. "Changes in cystic fibrosis airway microbial community associated with a severe decline in lung function" *PLoS One.* 2015 Apr 21;10(4):e0124348
- Bacci G. et al. "Pyrosequencing Unveils Cystic Fibrosis Lung Microbiome Differences Associated with a Severe Lung Function Decline" *PLoS ONE* 2016 Jun 29;11(6):e0156807. doi: 10.1371

Abstracts

- Bevivino A. et al. "Investigation of cystic fibrosis airway microbiome in patients showing a severe decline in lung function and not responding to conventional antimicrobial therapy" 36th European Cystic Fibrosis Conference (ECFC), Lisboa, 12-15 June, 2013
- Bevivino A. et al. "Microbiota composition in the airways of cystic fibrosis with severe decline in lung infection" NACFC 2013, Salt Lake City, Utah, USA
- Fiscarelli E, Paganin P, Tuccio V, Chianciani M, Taccetti G, Lucidi V, De Alessandri A, Mengoni A, Bevivino A. "Airway microbiota in cystic fibrosis patients with a severe decline in lung function" 24th ECCMID 10-13 May, Barcelona, Spain

- FFC Project#9/2012 "**Development, production and characterization of antibacterial peptides (CAMPs) active on the sessile form of the opportunistic human pathogens *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cenocepacia***" Eliodoro Pizzo (Dip. Biologia Strutturale e Funzionale, Lab. Struttura e Funzione delle Proteine, Università Federico II, Napoli)

Publications

- Pizzo E, Cafaro V, Di Donato A et al. "Cryptic Antimicrobial Peptides: Identification Methods and Current Knowledge of their Immunomodulatory Properties" *Current Pharmaceuticals Design* 2018;24(10):1054-1066.

- FFC Project#10/2012 "**A very promising drug against *Burkholderia cenocepacia***" Giovanna Riccardi (Dipartimento di Biologia e Biotecnologie, Università di Pavia)

Publications

- Udine C. et al. "Phenotypic and genotypic characterisation of *Burkholderia cenocepacia* J2315 mutants affected in homoserine lactone and diffusible signal factor-based quorum sensing systems suggests interplay between both types of systems" *PLoS One.* 2013;8(1):e55112
- Perrin E. et al. "A census of RND-superfamily proteins in the *Burkholderia* genus" *Future Microbiol.* 2013 Jul;8:923-37

- FFC Project#12/2012 "**Naturally occurring antimicrobials to counteract lung infections in cystic fibrosis patients: Cecropin A-Melittin (CA-M) hybrid peptides and polymixins**" Alba Silipo (Dip. Scienze Chimiche, Università "Federico II", Napoli), Giovanni Di Bonaventura (Dip. Scienze Biomediche, Università Chieti-Pescara)

Publications

- Di Lorenzo F. et al. "Persistent cystic fibrosis isolate *Pseudomonas aeruginosa* strain RP73 exhibits an under-acylated LPS structure responsible of its low inflammatory activity" *Mol Immunol.* 2014 May 21. pii: S0161-5890(14)00084-4. doi: 10.1016/j.molimm.2014.04.004. [Epub ahead of print]
- Kukavica-Ibrulj I. et al. "Assessing *Pseudomonas aeruginosa* Virulence and the Host Response Using Murine Models of Acute and Chronic Lung Infection" *Methods Mol Biol.* 2014;1149:757-71. doi: 10.1007/978-1-4939-0473-0_58.

Abstracts

- Vitiello G. et al. "Investigation of liposome-based membranes formed by lipopolysaccharides and their interaction with hybrid antimicrobial peptides" Poster Communication. XXIV Congresso della Società Italiana di Spettroscopia Neutronica (SISN), Milano 11-12 Settembre 2013.
- Silipo A. "STD NMR as a tool for studying protein-ligand interactions", PhD Lecture in Gliwice, Department of Organic Chemistry, Bioorganic Chemistry and Biotechnology, Faculty of Chemistry, Silesian University of Technology, Gliwice, Poland <http://www.chemia-bioorganiczna.polsl.pl/default.htm>
- Molinaro A. "Structural Glycoscience", 4-6 Nov 2013, Grenoble, France, COST Training School nell'ambito della COST Action BM1003. <http://www.cost-bm1003.info/>

- FFC Project#13/2012 "**Role of high affinity zinc transporters in**

Pseudomonas aeruginosa ability to colonize the inflamed cystic fibrosis lung Andrea Battistoni (Dip. Biologia, Università Tor Vergata, Roma)

Publications

- D'Orazio M. et al. "Pseudomonas aeruginosa capability to colonize the CF lung may be favored by its remarkable ability to recruit zinc under conditions of limited metal availability" Journal of Cystic Fibrosis Suppl Goteborg 13, S3
- D'Orazio M. et al. "The capability of Pseudomonas aeruginosa to recruit zinc under conditions of limited metal availability is affected by inactivation of the ZnuABC transporter" Metallomics. 2015 Jun;7(6):1023-35
- Mastropasqua MC, D'Orazio M, Cerasi M et al, "Growth of Pseudomonas aeruginosa in zinc poor environments is promoted by a nicotianamine-related metallophore" Molecular Microbiology 2017 Nov;106(4):543-561. doi: 10.1111/13834

Abstracts

- D'Orazio M. et al. "Pseudomonas aeruginosa capability to colonize the CF lung may be favored by its remarkable ability to recruit zinc under conditions of limited metal availability" Poster presented at the ECFS 2014 Meeting, Goteborg
- D'Orazio M. et al. "Involvement of Enzymes of the Protein Disulfide Isomerase Family in the Interaction of Burkholderia cenocepacia with Epithelial Cells" ECFS Basic Science Conference, Malaga 2013

- FFC Project#17/2012 "The role of vascular endothelium in cystic fibrosis inflammation" Mario Romano (Dip. Scienze Biomediche, Università Chieti-Pescara, Lab. Medicina Molecolare), Licia Totani (Dip. Farmacologia Traslationale, Consorzio "Mario Negri" Sud, Chieti), Marco Marchisio (Dip. Medicina e Scienze dell'Invecchiamento, Università Chieti-Pescara), Paolo Moretti (Centro FC, Teramo)

Publications

- Pierdomenico AM et al. "MicroRNA-181b regulates ALX/FPR2 receptor expression" J Biol Chem. 2015 Feb 6;290(6):3592-600

- FFC Project#8/2013 "Exploring pyrazinamide derivatives as novel Pseudomonas aeruginosa inhibitors: unexploited antibacterial molecules for a new antibiotics target" Federica Briani (Dip. di Bioscienze-Università degli Studi di Milano)

Abstracts

- Bergamini G. et al. "Azitromycin effect on lung inflammation induced by Pseudomonas aeruginosa released proteases as shown by in vivo imaging in IL-8 transiently transgenized mice" 28th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Atlanta, October 9-11, 2014

- FFC Project#10/2013 "Anti-virulence therapy against Pseudomonas aeruginosa: identification of antibiofilm drugs and development of inhalable Niclosamide and Flucytosine formulations" Livia Leoni (Dip. di Scienze, Università "Roma Tre"), Francesca Ungaro (Dip. di Farmacia, Università di Napoli Federico II), Francesco Imperi (Dip. di Biologia e Biotecnologia, Università "La Sapienza", Roma), Ersilia Fiscarelli (Ospedale e Ist. di ricerca "Bambin Gesù", Lab. Microbiologico fibrosi cistica, Rome)

Publications

- D'Angelo I. et al. "Improving the efficacy of inhaled drugs in cystic fibrosis: challenges and emerging drug delivery strategies" Adv Drug Deliv Rev 2014; 30: 92-111
- Imperi F. et al. "Antivirulence activity of azithromycin in Pseudomonas aeruginosa" Frontiers in Microbiology 2014;5: 178
- Llamas MA. Et al. "Cell-surface signaling in Pseudomonas: stress response, iron transport and pathogenicity" FEMS Microbiol Rev 2014; 38:569-97

Abstracts

- Costabile G. et al. "Repositioning niclosamide for anti-virulence therapy against P. aeruginosa lung infections: development of nano-suspensions for inhalation" 1st Italian CF Young Investigator Meeting January 16th - 17th 2015, Rome, Italy
- Visaggio D. et al. "Exopolysaccharide-mediated aggregation promotes pyoverdine-dependent iron uptake and virulence in Pseudomonas aeruginosa" 1st Italian CF Young Investigator Meeting January 16th - 17th 2015, Rome, Italy
- Costabile G., d'Angelo I., Miro A. et al. "Inhalable hyaluronan/mannitol microparticles for local delivery of flucytosine against Pseudomonas aeruginosa lung infections" 9th A.It.U.N. Annual Meeting From food to pharma: the polyedral nature of polymers Milan, 2015, May 25-27

- Costabile G., d'Angelo I., Mitidieri E. et al. "Repositioning 5-flucytosine for anti-virulence therapy of Pseudomonas aeruginosa lung infections: development of inhalable hyaluronan/ mannitol dry powders" Micro and Nanotechnologies to overcome biological barriers" Thematic workshop of Controlled Release Society Italy Chapter. Naples 2015, November 12-14 th
- Costabile I., d'Angelo I., D'Emmanuele R. et al. "Drug reposition for anti-virulence therapy of Pseudomonas aeruginosa lung infections: development of inhalable formulations" XXIII National Meeting on Medicinal Chemistry, Salerno, 2015 September 6-9

- FFC Project#11/2013 "Inhalable dry powders for chemically-modified human Cationic AntiMicrobial Peptides (CAMPs): moving toward in vivo application" Eugenio Notomista (Dip. Biologia, Università di Napoli "Federico II"), Francesca Ungaro (Dip. di Farmacia, Università di Napoli Federico II)

Publications

- d'Angelo I. et al. "Improving the efficacy of inhaled drugs in cystic fibrosis: Challenges and emerging drug delivery strategies" Adv Drug Deliv Rev 2014 Aug 30;75C:92-111

Abstracts

- d'Angelo I. et al. "Nano-Embedded Microparticles for Lung Delivery of Antimicrobial Peptides against P. Aeruginosa Infections: Overcoming Lung Barriers" In: 2nd International Conference on Nanotechnology in Medicine, University College London, Royal Free Hospital Campus, United Kingdom 26-28 February 2014. Selected as oral presentation
- d'Angelo I. et al. "Inhalable dry powders for local administration of antimicrobial peptides against P. aeruginosa: overcoming lung barriers" International Conference and Workshop on Biological Barriers, 16-21 February, 2014, Saarland University, Germany
- Pane K., Cafaro V., Avitabile A. et al. "Development of new carrier protein for AMPs production" 5th International Meeting on Anti-microbial Peptides, Burlington House, London. 7-8 September, 2015

- FFC Project#12/2013 "Preclinical development of the antimicrobial peptide M33 and onset of regulatory procedures for clinical trials" Alessandro Pini (Dip. di Biotecnologie Mediche, Università di Siena)

Publications

- Brunetti J. et al. "A Novel Phage-Library-Selected Peptide Inhibits Human TNF- Binding to Its Receptors" Molecules 2014: 19:7255-7268
- Falciani C. et al. «Site-specific pegylation of an antimicrobial peptide increases resistance to Pseudomonas aeruginosa elastase» Amino-Acids 2014; 45(5):1403-1407
- Brunetti J. et al. "In vitro and in vivo efficacy, toxicity, bio-distribution and resistance selection of a novel antibacterial drug candidate" Sci Rep. 2016 May 12;6:26077. doi: 10.1038/srep26077
- Ceccherini F. et al. "Antimicrobial activity of levofloxacin-M33 peptide conjugation or combination" MedChemComm 2016,7,258

Abstracts

- Brunetti J. et al. "A novel synthetic antimicrobial peptide. A new weapon for multidrug resistant bacteria?" 14th Naples Workshop on Bioactive Peptides, June 12-14, 2014
- Roscia G. et al. "In vitro and in vivo characterization of a novel synthetic antimicrobial peptide for lung infections and sepsis" 1st Italian CF Young Investigator Meeting, January 16th - 17th 2015, Rome, Italy

- FFC Project#10/2014 "Investigating the airway microbiome in cystic fibrosis patients with a severe decline in lung function: an opportunity for a personalized microbiomebased therapy" Bevivino Annamaria (Technical Unit for Sustainable Development and Innovation of Agro-Industrial System, ENEA Casaccia Research Center, Lab. Microbiology, Rome), Alessio Mengoni (Dip. Biologia, Università di Firenze), Giovanni Taccetti (Dip. di pediatria, Centro FC, Ospedale "A. Meyer", Firenze), Ersilia Vita Fiscarelli (Laboratorio Microbiologia, Ospedale "Bambin Gesù", Roma), Alessandra De Alessandri (Dip. di Scienze Pediatriche, Centro FC, Università di Genova, Istituto "G. Gaslini")

Abstracts

- Bacci G. et al. "Exploring the airway microbiome of cystic fibrosis patients: an opportunity for a personalized microbiome-based therapy" 1st Italian CF Young Investigator Meeting, January 16th - 17th 2015, Rome, Italy
- Bevivino A. "Taxonomic and functional analysis of the airway samples from cystic fibrosis patients with lower and higher pulmonary function decline", 3 World Congress on Targeting Microbiota, October 21-23, 2015 Institute Pasteur, Paris

- Bacci G. et al. "Taxonomic signatures of CF airway microbiota distinguish between patients with lower and higher pulmonary function decline", 38th ECFS Conference, Brussels, Belgium, 10-13 June 2015
- Bacci G. et al. "Taxonomic and functional metagenomic analysis of sputum samples from stable cf patients with lower and higher pulmonary function decline", NACFC 2015

- FFC Project#11/2014 "**Development and preclinical testing of a novel antimicrobial peptide to treat *Pseudomonas aeruginosa*-induced lung infections**" Maria Luisa Mangoni (Dip. di Scienze Biochimiche, Università "La Sapienza", Roma)

Publications

- Cappiello F. et al. "Esculentin-1a-Derived Peptides Promote Clearance of *Pseudomonas aeruginosa* Internalized in Bronchial Cells of Cystic Fibrosis Patients and Lung Cell Migration: Biochemical Properties and a Plausible Mode of Action" *Antimicrob Agents Chemother.* 2016 Sep 26. pii: AAC.00904-16
- Ghosh A. et al. "NMR structure and binding of esculentin-1a (1-21)NH2 and its diastereomer to lipopolysaccharide: Correlation with biological functions" *Biochim Biophys Acta.* 2016 Apr;1858(4):800-12
- Chen C, Mangoni ML, Di YP "In vivo therapeutic efficacy of frog skin-derived peptides against *Pseudomonas aeruginosa*-induced pulmonary infection" *Sci. Rep.* 2017 Aug 17;7(1):8548. doi: 10.1038/s41598-017-08361-8.
- Loffredo MA, Ghoshb A, Harmouchec N et al "Membrane perturbing activities and structural properties of the frog-skin derived peptide Esculentin-1a(1-21)NH2 and its Diastereomer Esc(1-21)-1c: Correlation with their antipseudomonal and cytotoxic activity" *BBA – Biomembranes* 1859 (2017) 2327–2339
- Cappiello F, Casciaro B, Mangoni ML "A Novel In Vitro Wound Healing Assay to Evaluate Cell Migration" *Journal of Visualized Experiments* 2018 Mar 17;(133)

Abstracts

- Luca V. et al. "Anti-Pseudomonal activity of the amphibian antimicrobial peptide Esculentin (1-21) and plausible mode of action", FISV 2014-XIII Congress (Pisa, 24-27 September)
- Mangoni ML et al. "Esculentin-1a(1-21) and its diastereomer: frog skin-derived peptides with anti-Pseudomonal activities" Oral Presentation at RegPep Symposium 2016, Rouen July 2016. France
- Mangoni ML, McDermott AM, Di YP "Derivatives of the frog-skin peptide esculentin-1a with promising activity against infections induced by *Pseudomonas aeruginosa*" Boulder Peptide Symposium, 25-28 September, 2017, Boulder Colorado (US)
- Mangoni ML, de la Fuente J, McDermott AM et al. "How to struggle *Pseudomonas aeruginosa*-associated infections? A lesson from the amphibian skin-derived peptide Esculentin(1-21) and its diastereomer" Cost Action CM1407, 5th MC/WG, Malta, 1-2 March, 2018
- Mangoni ML, Chen C, Cappiello F et al. "In vivo efficacy of esculentin-1a-derived peptides against *Pseudomonas aeruginosa*-induced pneumonia" 16th Naples Workshop on Bioactive Peptides (June 7-9)

- FFC Project#12/2014 "**Inhalable dry powders for chemically-modified human Cationic AntiMicrobial Peptides (CAMPs): moving toward in vivo application**" Eugenio Notomista (Dip. di Biologia, Università di Napoli "Federico II"), Francesca Ungaro (Dip. di Farmacia, Università di Napoli "Federico II")

Publications

- d'Angelo I. et al. "Overcoming barriers in *Pseudomonas aeruginosa* lung infections: Engineered nanoparticles for local delivery of a cationic antimicrobial peptide" *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2015 Aug 22;135:717-725
- Oliva R, Chino M, Pane K et al "Exploring the role of unnatural amino acids in antimicrobial peptides" *SCI REP* 2018 Jun 11;8(1):8888.

Abstracts

- Avitabile A. e al. "The activation peptide of human pepsinogen is an antimicrobial peptide" IMAP Meeting 2015
- Pane K. et al. "Development of new carrier protein for AMPs production" IMAP Meeting 2015
- FFC Project#14/2014 "**Development of BMAP18 as a peptide drug in the lung bacterial infections: a study to improve its effectiveness in the CF pulmonary environment**" Marco Scocchi (Dipartimento di Scienze della Vita, Università di Trieste)

Publications

- Mardirossian M, Pompilio A, Degaspero M et al. "D-BMAP18 Antimicrobial Peptide Is Active In vitro, Resists to Pulmonary Proteases

but Loses Its Activity in a Murine Model of *Pseudomonas aeruginosa* Lung Infection" *Frontiers in Chemistry* 2017 Jun 19;5:40

- FFC Project#18/2014 "**GSH inhalation therapies in CF: how useful, how safe? Set-up of a CF murine model for monitoring of inflammation in vivo and assessment of convenient alternatives**" Alessandro Corti (Dip. di Ricerca Traslationale NTMS - Lab. Patologia Generale, Università di Pisa)

Abstracts

- Corti A. et al. "Increasing levels of sputum gamma-glutamyltransferase may be a contraindication to glutathione inhalation therapies in cystic fibrosis" 3rd Joint Meeting of Pathology and Laboratory Medicine. 4-6 October 2016 - Montesilvano (Pescara), Italy
- Corti A, Melotti P, Sorio C et al. "Effects of increasing levels of gamma-glutamyltransferase in cystic fibrosis airways on glutathione inhalation therapies" 14th ECFS Basic Science Conference, 29 March – 1 April 2017, Albufeira, Portugal
- FFC Project#20/2014 "**Identification and characterization of LPS-neutralizing human peptides: potential tools to control inflammation in cystic fibrosis lung disease**" Eliodoro Pizzo (Lab. di Struttura e Funzione delle Proteine-SFP, Dip. di Biologia, Università di Napoli "Federico II"), Emilia Maria Pedone (Istituto di Biostrutture e Biomagnini, C.N.R. Napoli)

Abstracts

- Bosso A. et al. "A new active antimicrobial peptide from PD-L4, a type 1 ribosome inactivating proteins of *Phytolacca dioica* L." IMAP 2015 5th International Meeting on Antimicrobial Peptides Burlington House, London September 7-8, 2015
- Pane K. et al. "Development of new carrier protein for AMPs production" IMAP 2015, 5th International Meeting on Antimicrobial Peptides Burlington House, London September 7-8, 2015
- Avitabile A. et al. "The activation peptide of human pepsinogen is an antimicrobial peptide" IMAP 2015, 5th International Meeting on Antimicrobial Peptides, Burlington House, London September 7-8, 2015
- Pane K. et al. "A novel carrier protein for AMPs production" 5th Antimicrobial International Meeting on Antimicrobial Peptides, Burlington House 7th-8th September 2015
- Verrillo M. et al. "Recombinant production and labelling of peptides with N-terminal cysteine residue" 15th Naples Workshop on Bioactive Peptides. June 23-25, 2016, Naples, Italy
- Bosso A. et al. "Cryptic anti-microbial peptides in human secretory proteins: the case of H11 (235-261)." 15th Naples Workshop on Bioactive Peptides. June 23-25, 2016, Naples Italy
- Pane K. et al. "Novel antimicrobial weapons hidden in human secretoma" Altant Conference May 18-20, 2016 Utrecht, Netherlands
- Verrillo MV. et al. "Efficient production and labeling of recombinant peptides endowed with a N-terminal cysteine residue" Proteine, March, 30 – April, 1 2016 Bologna, Italy
- Zanfardino A. et al. "Two new cryptic antimicrobial peptides identified in the human Apolipoprotein" FISV, 20-23 september 2016 Rome, Italy

- FFC Project#21/2014 "**Resolvin D1 for Targeting Chronic Lung Inflammation and Infection in Cystic Fibrosis**" Antonio Recchiuti (Dip. di Scienza Clinica e Sperimentale e Centro di Eccellenza sull'Invecchiamento-CeSI, Università "G. d'Annunzio", Chieti-Pescara)

Publications

- Codagnone M, Cianci E, Lamolinara A et al. "Resolvin D1 enhances the resolution of lung inflammation caused by long-term *Pseudomonas aeruginosa* infection" *Mucosal Immunology* 2017 Apr 19. doi: 10.1038/mi.2017.36.

Abstracts

- Codagnone M. et al. "Resolvin D1 enhances resolution of inflammation caused by chronic *Pseudomonas aeruginosa* lung infection" 13th ECFS Basic Science Conference, 30 March – 2 April 2016, Pisa, Italy
- Recchiuti A, Isopi E, Mattosco D et al. "Harnessing resolution mediators as innovative therapeutics for cystic fibrosis" 2nd World Congress on Pharmacology & Toxicology, Roma, 16-18 agosto 2018

- FFC Project#23/2014 "**Mechanisms and clinical implications of endothelial dysfunction in cystic fibrosis**" Mario Romano (Dip. di Scienze Sperimentali e Cliniche, Lab. di Medicina Molecolare, Università G. D'Annunzio, Chieti-Pescara)

Publications

- Plebani R, Tripaldi R, Lanuti P et al. "Establishment and long-term

- culture of human cystic fibrosis endothelial cells" Laboratory Investigation 2017 Jul 31. doi: 10.1038/labinvest.2017.74
- Totani L, Plebani R, Piccoli A et al "Mechanisms of endothelial cell dysfunction in cystic fibrosis" *Biochimica et Biophysica Acta* 2017 Aug 25. pii: S0925-4439(17)30293-4
 - FFC Project#24/2014 "**The role of Glucocerebrosidase GBA2 in cystic fibrosis lung inflammation: from molecular mechanism to therapeutic strategies**" Sandro Sonnino (Dip. di Biochimica Medica e Medicina Traslazionale, Università di Milano)
- Abstracts
- Schiumarini D. et al. "Involvement of BGA2 in the inflammatory response to *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis" 29th North American Conference, Phoenix, October 8-10, 2015
 - Schiumarini D. et al. "Involvement of glycosphingolipid -hydrolase in the inflammatory response to *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis" 39th ECFS Conference, Basilea, 8-11 June 2016 - Riunione dei Giovani Biochimici dell'Area Milanese, Gargnano, 2016 - 13th ECFS Basic Science Conference, 30 March – 2 April 2016, Pisa, Italy
 - Schiumarini D, Loberto N, Bassi R et al. "*Pseudomonas aeruginosa* infection induces alterations in plasma membrane lipid composition in cystic fibrosis airway cells: molecular mechanisms and therapeutic options for CF lung pathology" 14th ECFS Basic Science Conference, 29 March – 01 April 2017, Albufeira, Portugal
 - FFC Project#10/2015 "**A CF, IL-8 transgenic mouse model for the in vivo, long-term monitoring of the anti-inflammatory role of metallo-protease inhibitors and antibiotics with mechanisms of action similar to that of azithromycin**" Maria M. Lleò (Dipartimento di Patologia e Diagnostica, sezione di Microbiologia - Università di Verona)
- Publications
- Sandri A, Ortombina A, Boschi F et al "Inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* secreted virulence factors reduces lung inflammation in CF mice" *Virulence* 2018;9(1):1008-1018.
- Abstracts
- Sandri A et al. "Monitoraggio in vivo dell'infiammazione polmonare in topi CFTR-/-" 39th European Cystic Fibrosis Conference, 8 – 11 June 2016, Basel, Switzerland
 - Sandri A, Stellari F, Boschi F "Matrix metalloprotease inhibitors as anti-inflammatory therapy in *Pseudomonas aeruginosa* lung infection" 14th ECFS Basic Science Conference, 29 March - 1 April 2017, Albufeira, Portugal
 - FFC Project#11/2015 "**Genetically diverse mice as innovative model for cystic fibrosis**" Nicola Ivan Lorè (Divisione di Immunologia, Trapianti e Malattie Infettive - Istituto Scientifico San Raffaele, Milano)
- Abstracts
- Lorè N, Sipione B, Mott R et al. "Host genetic traits influence the severity of respiratory infections by *Pseudomonas aeruginosa*" The 30th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, October 27–29, 2016
 - Lorè N, Sipione B, Mott R et al. "Novel disease models to capture pathological complexity of *Pseudomonas aeruginosa* respiratory infection" 40th European Cystic Fibrosis Conference Seville, Spain, 7–10 June 2017
 - Lorè I, Iraqi F, Bragonzi A "Novel genetically-diverse mouse models to unravel the complexity of the lung infections" 14th ECFS Basic Science Conference, 29 March – 01 April 2017, Albufeira, Portugal
 - Sipione B, Brombin C, Mott R et al. "Tracking the complexity of the inflammatory response to *P. aeruginosa* respiratory infection" North American Cystic Fibrosis Conference (NACFC), November 2-4, 2017, Indianapolis
 - FFC Project#12/2015 "**Anti-inflammatory and anti-bacterial activity of bovine lactoferrin administered by aerosol in airways infections of pre-clinical wt and CF mouse models**" Francesca Berlutti (Dip. di Salute Pubblica e Malattie Infettive - Università La Sapienza, Roma)
- Publications
- Valenti P, Frioni A, Rossi A et al "Aerosolized bovine lactoferrin reduces neutrophils and pro-inflammatory cytokines in mouse models of *Pseudomonas aeruginosa* lung infections" *Biochemistry and Cell Biology* 2017 Feb;95(1):41-47. doi: 10.1139/bcb-2016-0050. Epub 2016 Jul 8
- Abstracts
- Gramaccioni C., Procopio A., Malucelli E. et al. "Combined use of x-ray fluorescence microscopy, phase contrast imaging and nanotomography for high resolution quantitative Fe mapping in inflamed cells" 13th International Conference on X-Ray Microscopy, 15-19 August 2016, Oxford, United Kingdom
 - FFC Project#14/2015 "**Investigating the airway microbiome in cystic fibrosis patients with a severe decline in lung function: an opportunity for a personalized microbiome-based therapy**" Anna Maria Bevivino (Unità Tecnica per lo Sviluppo e Innovazione del Sistema Agroindustriale - ENEA Agenzia Nazionale Italiana per le Nuove Tecnologie, Energie e Sviluppo Economico Sostenibile, Laboratorio di Microbiologia, Centro Ricerche Casaccia, Roma), Alessio Mengoni (Dip. di Biologia, Università di Firenze); Giovanni Taccetti (Dip. di Pediatria, Centro fibrosi cistica, Firenze), Ersilia Vita Fiscarelli (Ospedale dei Bambini, Istituto di Ricerca Bambino Gesù, Lab. di Microbiologia per fibrosi cistica), Alessandra De Alessandri (Centro Fibrosi Cistica, Dip. di Scienze Pediatriche, Pneumologia e Allergologia - Istituto G. Gaslini, Genova)
- Publications
- Bacci G, Mengoni A, Fiscarelli E et al. "A Different Microbiome Gene Repertoire in the Airways of Cystic Fibrosis Patients with Severe Lung Disease" *International Journal of Molecular Sciences* 2017 Jul 29;18(8).
- Abstracts
- Bacci G., Paganin P., Segata N. et al. "The distribution pattern of metabolic modules and antibiotic resistance genes reveals differences in the airway microbiome of cystic fibrosis patients" 13th ECFS Basic Science Conference, 30 March – 02 April 2016, Pisa, Italy
 - Bacci G. et al. "Studio del microbioma delle vie aeree FC in pazienti con diverso andamento polmonare" 39th European Cystic Fibrosis Conference, 8 – 11 June 2016, Basel, Switzerland
 - Bacci G, Armanini F, Taccetti G et al. "Longitudinal metagenomic analysis of the airways of patients with cystic fibrosis to uncover microbial signatures of lung disease progression" 40th European Cystic Fibrosis Conference, Seville, Spain, 7–10 June 2017
 - Bevivino A, Bacci G, Armanini F et al. "Time-resolved metagenomic identifies key features in the co-evolution of bacterial communities and cystic fibrosis" XIII Congresso Nazionale SIFC, Napoli, 22-25 Novembre 2017
 - Bacci G, Armanini F, Taccetti G et al. "Taxonomic and functional microbial signatures of cystic fibrosis lung disease" 41st European Cystic Fibrosis Conference, Belgrade, Serbia, 6-9 June 2018
 - FFC Project#16/2015 "**Development of metallo-enzyme inhibitors to overcome *P. aeruginosa* antibiotic-resistance in cystic fibrosis patients**" Sandra Gemma (Dipartimento di Biotecnologia, Chimica e Farmacia - Università di Siena), Jean-Denis Docquier (Dip. di Biotecnologia Medica - Università di Siena)
- Publications
- Brindisi M. et al. "Targeting clinically-relevant metallo-β-lactamases: from high-throughput docking to broad-spectrum inhibitors", *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* DOI: 10.3109/14756366.2016.1172575
- FFC Project#17/2015 "**Phage therapy against *Pseudomonas aeruginosa* infections in cystic fibrosis patients**" Daniela Erica Ghisotti (Dipartimento di Bioscienze - Università degli Studi di Milano)
- Abstracts
- Ghisotti D., Forti F., Briani F. "Phage therapy against *Pseudomonas aeruginosa* infections in cystic fibrosis patients" Phage Therapy World Congress 2016, Parigi, 2-3 giugno 2016
 - FFC Project#19/2015 "**Inhalable formulations of new molecules effective against *Burkholderia cenocepacia*: from in vitro to in vivo applications**" Giovanna Riccardi (Laboratorio di Microbiologia Molecolare, Dipartimento di Biologia e Biotecnologie Lazzaro Spallanzani, Pavia), Francesca Ungaro (Dip. di Farmacia - Università degli Studi Federico II, Napoli)
- Publications
- Scoffone VC. et al. "Discovery of new diketopiperazines inhibiting *Burkholderia cenocepacia* quorum sensing in vitro and in vivo" *Sci Rep.* 2016 Sep 1;6:32487. doi: 10.1038/srep32487
 - Israyilova A, Buroni S, Forneris F et al. "Biochemical Characterization of Glutamate Racemase-A New Candidate Drug Target against *Burkholderia cenocepacia* Infections" *PLoS ONE* 2016 Nov 29;11(11):e0167350. doi: 10.1371/
 - Scoffone VC, Chiarelli LR, Trespidi G et al. "*Burkholderia cenocepacia* Infections in Cystic Fibrosis Patients: Drug Resistance and Therapeutic Approaches" *Frontiers in Microbiology* 2017 Aug 22;8:1592. doi: 10.3389/fmicb.2017.01592. eCollection 2017
 - Pellosi Silva D, d'Angelo I, Maiolino S et al "In vitro/in vivo investi-

gation on the potential of Pluronic® mixed micelles for pulmonary drug delivery” European journal of pharmaceuticals and Biopharmaceutics 2018 Jun 8. pii: S0939-6411(17)30904-9

Abstracts

- Buroni S, Gislason A, Scoffone VC. et al. “A new promising bactericidal compound against Burkholderia cenocepacia” XX International Burkholderia cepacia Working Group, Columbus USA, 27-30 Aprile 2016
 - Buroni S., Brackman G., Scoffone VC. et al. “New antivirulence compounds affecting *Burkholderia cenocepacia* quorum sensing in vitro and in vivo” XX International Burkholderia cepacia Working Group, Columbus USA, 27-30 Aprile 2016
 - Scoffone VC, Gislason AS, Hogan AM et al “Fighting burkholderia cenocepacia through a new promising bactericidal molecule” 7th FEMS Microbiology Congress 2017, 9-13 July, 2017, Valencia
 - Scoffone VC, Fumagalli M, Spiga L et al “Molecular investigations on the quorum sensing synthase Ceph of Burkholderia cenocepacia” XXXII SIMGBM Congress, September 17-20, 2017, Palermo
- FFC Project#21/2015 “Exploiting the potential of gallium for the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* pulmonary infection” Paolo Visca (Dipartimento di Scienze, Laboratorio di Microbiologia Clinica e Virologia - Università di Roma Tre, Roma)

Publications

- Hijazi S, Visca P, Frangipani E “Gallium-Protoporphyrin IX Inhibits *Pseudomonas aeruginosa* Growth by Targeting Cytochromes” Front. Cell. Infect. Microbiol. 2017 Jan 26;7:12. doi: 10.3389/fcimb.2017.00012
 - Pasqua M, Visaggio D, Lo Sciuto A et al. “The ferric uptake regulator Fur is conditionally essential in *Pseudomonas aeruginosa*” J Bacteriol 2017 Aug 28
 - Porcaro F, Bonchi C, Ugolini A et al “Understanding the biomimetic properties of gallium in *Pseudomonas aeruginosa*: an XAS and XPS study” Dalton Trans 2017 May 30;46(21):7082-7091
 - Costabile G, d’Angelo I, d’Emmanuele R et al. “Development of inhalable hyaluronan/mannitol composite dry powders for flucytosine repositioning in local therapy of lung infections” J Control Release, 2016 Sep 28;238:80-91
- FFC Project#14/2016 “Role of small RNA-based regulatory systems in cystic fibrosis airways infection by *Pseudomonas aeruginosa*: a new frontier in the identification of molecular targets for novel antibacterials” Giovanni Bertoni (Dipartimento di Bioscienze, Università degli Studi di Milano)

Publications

- Falcone M, Ferrara S, Rossi E et al. “The Small RNA *ErsA* of *Pseudomonas aeruginosa* Contributes to Biofilm Development and Motility through Post-transcriptional Modulation of *AmrZ*” Frontiers in Microbiology 2018 Feb 15;9:238
- FFC Project#15/2016 “Cystic fibrosis modifier genes related to *Pseudomonas aeruginosa* lung disease” Alessandra Bragonzi (Unità Infezioni e Fibrosi cistica, Divisione di Immunologia, Trapianti e Malattie Infettive, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano)

Publications

- Lorè NI, Cigana C, Sipione B et al. “The impact of host genetic background in the *Pseudomonas aeruginosa* respiratory infections” Mammalian Genome 2018 Jun 12.

Abstracts

- Lorè NI, Sipione B, Mott R et al. «Host genetic traits influence the severity of respiratory infections by *Pseudomonas aeruginosa*» 30th Annual North American Cystic Fibrosis Conference – Orlando, October 27-29, 2016
 - Lorè NI, Sipione B, Mott R et al. “Novel disease models to capture pathological complexity of *Pseudomonas aeruginosa* respiratory infection” ECFS 2017 - The 40th European Cystic Fibrosis Conference– Siviglia, June 18-21, 2017
 - Lorè NI, Iraqi F, Bragonzi A “Novel genetically-diverse mouse models to unravel the complexity of the lung infections” 2017 ECFS Basic Science Conference – Albufeira 29-1 April, 2017
 - Lore NI, Sipione B, Mott R et al. “Novel disease models to capture pathological complexity of *Pseudomonas aeruginosa* respiratory infection” CFF Research Conference – Stevenson, June 18-21, 2017
 - Lorè NI, Sipione B, He G et al. “Novel genetically-diverse mouse models to unravel genetic modifiers for *Pseudomonas aeruginosa* infection” North American Cystic Fibrosis Conference (NACFC), November 2-4, 2017, Indianapolis
- FFC Project#16/2016 “Phage therapy against *Pseudomonas aeru-*

gosa infections in cystic fibrosis patients” Daniela Erica Ghisotti (Dipartimento di Bioscienze, Università di Milano)

Publications

- Forti F, Roach DR, Cafora M et al. “Design of a broad-range bacteriophage cocktail that reduces *Pseudomonas aeruginosa* biofilms and treats acute infections in two animal models” Antimicrob Agents Chemother 2018 Mar 19. pii: AAC.02573-17

Abstracts

- Cafora M, Forti F, Roach D et al. “Phage Therapy against *Pseudomonas aeruginosa* infections in Cystic Fibrosis patients” Convegno SIMGBM, 17-20 Settembre 2017, Palermo

- FFC Project#17/2016 “Development of inhalable particles for optimal delivery of a potent antimicrobial molecule in *Pseudomonas aeruginosa* infected lungs” Alessandro Pini (Dipartimento di Biotecnologia Medica, Università di Siena)

Publications

- Puglia M, Landi C, Gagliardi A et al. “The proteome speciation of an immortalized cystic fibrosis cell line: New perspectives on the pathophysiology of the disease” Journal of Proteomics 2018 Jan 6;170:28-42

- FFC Project#4/2017 “Phenotyping new genetically-diverse mouse models mirroring the complexity of the Cystic Fibrosis pathology” Nicola Ivan Lorè (Unità di Infezioni e Fibrosi cistica, Divisione di Immunologia, Trapianti e Malattie Infettive, Ospedale San Raffaele, Milano)

Abstracts

- Sipione B, De Fino I, Viviani F et al. “New-genetically diverse mice to mirror complexity of cystic fibrosis respiratory infections” 12th European CF Young Investigator Meeting, Paris (France), 21-23 February, 2018

- FFC Project#13/2017 “Induction of viable but non-culturable forms, possibly responsible for treatment failure, in vitro biofilms of *Pseudomonas aeruginosa*. Role of antibiotics and antibiotic concentrations” Francesca Biavasco (Dipartimento di Scienze della Vita e dell’Ambiente, Università Politecnica delle Marche)

Abstracts

- Mangiaterra G, Cedraro N, Citterio B et al. “Induction of Viable but non-culturable *P. aeruginosa* in in vitro Biofilms. Role of sub-inhibitory antibiotic concentrations” Biofilm 8, Aarhus University, Aarhus C, Denmark, 27-29 May 2018

- FFC Project#14/2017 “Preclinical study of a host-directed therapy based on Metformin and bioactive liposomes for the control of multidrug resistant *P. aeruginosa* infection” Maurizio Fraziano (Dipartimento di Biologia, Università di Roma Tor Vergata)

Publications

- Nisini R, Poerio N, Mariotti S et al. “The Multirole of Liposomes in Therapy and Prevention of Infectious Diseases” Frontiers in Immunology 2018 Feb 5;9:155

- FFC Project#15/2017 “Frog skin-derived peptides for treatment of *Pseudomonas aeruginosa* lung infection and bronchial epithelial repair: advanced in vitro and in vivo characterization and development of polymeric nanoparticles for lung delivery” Maria Luisa Mangoni (Dipartimento di Scienze Biochimiche, Università La Sapienza)

Abstracts

- Cappiello F, Carnicelli V, Angioi A et al. Esc(1-21) and its diastereomer: antipseudomonal frog-skin derived peptides with multiple immunomodulatory properties” 16th Naples Workshop on Bioactive Peptides (June 7-9)
- Cappiello F, Carnicelli V, Angioi M et al. “The frog skin-derived peptides Esc(1-21) and its diastereomer: are they promoters of airway epithelium repair?” (Poster) XV FISV (Federazione Italiana Scienze della Vita) Congress, Sapienza University of Rome, Italy, September 18-21, 2018
- Cappiello F, Carnicelli V, Angioi M et al. “Esc(1-21) and its diastereomer: antipseudomonal frog-skin derived peptides with multiple immunomodulatory properties” 16th Naples Workshop on Bioactive Peptides, June 7-9, 2018 Naples
- Mangoni ML “How to control *Pseudomonas aeruginosa*-induced pneumonia? A lesson from derivatives of the amphibian skin peptide esculentin-1a” XV FISV (Federazione Italiana Scienze della Vita) Congress, Sapienza University of Rome, Italy, September 18-21, 2018
- Mangoni ML, Cappelletto F, Casciano B et al. “How to control *Pseu-*

domonas aeruginosa-induced pneumonia and keratitis? A lesson from the amphibian skin-derived peptide Esculentin(1-21) and its diastereomer” 35th European Peptide Symposium, 26-31 August 2018, Dublin City University, Ireland

- FFC Project#16/2017 **“Pre-clinical effectiveness of three human cryptic antibiofilm peptides (GVF27, HVA36 and IMY47): efficacy against lung pathogens and studies in animals”** Eliodoro Pizzo (Dipartimento di Biologia, Università di Napoli Federico II)

Publications

- Pane K, Cafaro V, Avitabile A et al. “Identification of novel cryptic multifunctional antimicrobial peptides from the human stomach enabled by a computational-experimental platform” ACS Synthetic Biology 2018 Sep 21;7(9):2105-2115

- FFC Project#17/2017 **“Identification of new efflux pumps inhibitors able to contrast nontuberculous mycobacterial infections in cystic fibrosis patients”** Stefano Sabatini (Dipartimento Scienze Farmaceutiche, Università degli Studi di Perugia)

Abstracts

- Cannalire R, Felicetti T, Nizi MG et al. “Design, synthesis, and biological evaluation of functionized 3-phenylquinolones to block efflux machinery in non-tuberculous mycobacteria” Italian-Spanish-Portuguese Joint Meeting in Medicinal Chemistry, MedChemSicily2018, Palermo, July 17-20, 2018

- Felicetti T, Cannalire R, Machado D et al. “New potent and safer functionalized 3-phenylquinolones as efflux inhibitors of the *Mycobacterium avium*” Italian-Spanish-Portuguese Joint Meeting in Medicinal Chemistry, MedChemSicily2018, Palermo, July 17-20, 2018

- FFC Project#18/2017 **“Exploiting the potential of gallium for the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* pulmonary infection”** Paolo Visca (Dipartimento di Scienze, Lab. Microbiologia Clinica e Virologia, Università Roma Tre)

Publications

- Hijazi S, Visaggio D, Pirollo M et al. “Antimicrobial activity of Gallium compounds on ESKAPE pathogens” Front. Cell. Infect. Microbiol. 2018 Sep 10;8:316

Abstracts

- Hijazi S, Frangipani E, Visaggio D et al. “Hijacking bacterial iron metabolism using the transition metal gallium” XIV Congress of the Italian Federation of Life Sciences (FISV) - Sapienza, Rome, Italy September, 2018

- Hijazi S, Pirollo M, Visaggio D et al. “A comparative study on the antimicrobial activity of gallium compounds against ESKAPE pathogens” 32th SIMGBM Congress, Microbiology 2017, Palermo (Italy), September 17-20, 2017

- Pirollo M, Visaggio D, Frangipani E et al. “Bioluminescence-based biosensor for the detection of the *Pseudomonas aeruginosa* siderophore pyochelin” (Poster) XIV Congress of the Italian Federation of Life Sciences (FISV) - Sapienza, Rome, Italy September, 2018

- Pirollo M, Visaggio D, Frangipani E et al. “Bioluminescence-based biosensor for the detection of the *Pseudomonas aeruginosa* siderophore pyochelin” Cortona Procarioni 2018. Cortona (Italy), May 2018

- FFC Project#19/2017 **“A longitudinal metagenomic analysis to uncover microbial signatures of CF lung disease: unravelling host-microbial community interactions in humans and animal models”** Annamaria Bevivino (ENEA, Divisione Biotecnologie e Agroindustria, Lab. Sostenibilità, Qualità e Sicurezza delle Produzioni Agroalimentari, Centro Ricerche Casaccia, Roma)

Abstracts

- Bacci G, Taccetti G, Dolce D et al. “Environmental microbial signatures revealed by metagenomic analysis of the airways of cystic fibrosis patients” XV FISV Congress, Sapienza University Rome, 18-21 September 2018

- Bevivino A “The airway microbiome in cystic fibrosis: where are we now?” MicrobiotaMI, Milan, 5-7 November 2018

- FFC Project#20/2017 **“Establishment of animal model to investigate pathogenesis of infection by *Mycobacterium abscessus* complex members in cystic fibrosis patients”** Enrico Tortoli (Unità Batteri Patogeni Emergenti, Divisione di Immunologia, Trapianti e Malattie Infettive, Istituto San Raffaele, Milano)

Abstracts

- Riva C, Gona F, Cigana C et al. “Murine model of chronic *M. abscessus* respiratory infection” North American Cystic Fibrosis Conference (NAFC), November 2-4, 2017, Indianapolis, IN, USA

- Riva C, Gona F, Cigana C et al. “Characterization of murine model of chronic *M. abscessus* respiratory infection” ERS International Congress, September 16-18, Paris, France

- FFC Project#22/2017 **“In vivo validation of phage therapy against *Pseudomonas aeruginosa* infections using the new Zebrafish (*Danio rerio*) animal model”** Anna Silvia Pistocchi (Dipartimento di Biotecnologie Mediche e Medicina Traslazionale, Università degli Studi di Milano)

Publications

- Cafora M, Deflorian G, Forti F et al. “Phage therapy against *Pseudomonas aeruginosa* infections in a cystic fibrosis zebrafish model” SCI REP, submitted

Abstracts

- Cafora M, Forti F, Deflorian G “In vivo validation of phage therapy against *Pseudomonas aeruginosa* infections using zebrafish as a new model for cystic fibrosis” European Human Genetics Conference, Milan, June 16–19, 2018

- Cafora M, Forti F, Deflorian G et al. “Phage therapy against *Pseudomonas aeruginosa* infections in a cystic fibrosis zebrafish model” 2nd Italian Zebrafish Meeting, Pisa, Italy, 30 January - 1 February, 2019

- Cafora M, Forti F, Deflorian G et al. “Phage therapy against *Pseudomonas aeruginosa* infections in a cystic fibrosis zebrafish model” III Workshop Biometra, Milano, 24 settembre 2018

- Cafora M, Forti F, Deflorian G et al. “In vivo validation of phage therapy against *Pseudomonas aeruginosa* infections using zebrafish as a new model for cystic fibrosis” ZDM11, Leiden, The Netherlands, July 10-13, 2018

4. INFLAMMATION Infiammazione

- FFC Project# 11/2010 **“Development of new therapeutic approaches against microbial infection in cystic fibrosis patients: biochemical analysis of cell wall fragments”** Antonio Molinaro (Dip. Chimica Organica e Biochimica, Università di Napoli), Maria Lina Bernardini (Dip. Biologia Cellulare e dello Sviluppo, Università La Sapienza, Roma), Gerd Döring (Institute of Medical Microbiology and Hygiene, University of Tübingen)

Publications

- Ieranò T. et al. “Molecular Modeling Study of the Carbohydrate region of the Endotoxin from *Burkholderia cenocepacia* ET-12”, Eur. J. Org. Chem. 2011, 5114-5122

- Loutet S. A. et al. “Transcriptional responses of *Burkholderia cenocepacia* to polymyxin B in isogenic strains with diverse polymyxin B resistance phenotypes”, BMC Genomics 2011, 12:472

- De Castro C. et al. “Bacterial Lipopolysaccharides in plant and mammalian innate immunity” Protein Pept Lett. 2012 Oct 1;19(10):1040-4

- Hamad MA. Et al. “Aminoarbinose modification of the *Burkholderia cenocepacia* lipopolysaccharide (LPS) is essential for intrinsic antimicrobial peptide resistance and proper functioning of the LPS export pathway” Mol Microbiol. 2012 Sep;85(5):962-74

- Marchetti R. et al. “*Burkholderia cenocepacia* lectin A binding to heptoses from the bacterial lipopolysaccharide” Glycobiology, 2012 Oct;22(10):1387-98

- FFC Project#12/2010 **“Calcium signal and PKC as targets of *Pseudomonas aeruginosa* infection”** Paolo Pinton (Dip. Medicina Sperimentale e Diagnostica, Univ. Ferrara)

Publications

- Patergnani S. et al. “Calcium signaling around Mitochondria Associated Membranes (MAMs)” Cell Commun Signal 2011, 9:19

- Giorgi C. et al. “Mitochondrial calcium homeostasis as potential target for mitochondrial medicine” Mitochondrion. 2012 Jan;12(1):77-85

- Bononi A. et al. “Protein Kinases and phosphatase in the Control of cell fate” Enzyme Research 2011;2011:329098. Epub 2011 Sep 4.

- Pinton P. et al. “The role of PML in the control of apoptotic cell fate: a new key player at ER-mitochondria sites” Cell Death and Differentiation (2011) 18, 1450-1456

- Bonora M. et al. “ATP synthesis and storage” Purinergic Signalling, 8:343–357

- Giorgi C. et al. “Mitochondrial Ca²⁺ and apoptosis” Cell Calcium 52:36-43.

- Marchi S. et al. Selective modulation of subtype III IP3R by Akt regu-

lates ER Ca²⁺ release and apoptosis" Cell Death Dis 3:e304

- Patergnani S. et al. "PRKCB/protein kinase C, beta and the mitochondrial axis as key regulators of autophagy" Autophagy. 2013 Sep;9(9):1367-85.
- FFC Project#15/2010 "Evaluation of the usefulness of therapeutic approaches aiming at increasing glutathione levels in the airways of Cystic Fibrosis patients to control lung infections and bacterial-induced damage" Andrea Battistoni (Dip. Biologia, Università di Roma Tor Vergata, Roma)

Publications

- D'Orazio M. et al. "Extracellular Glutathione Decreases the Ability of Burkholderia cenocepacia to Penetrate into Epithelial Cells and to Induce an Inflammatory Response" PLoS One, 2012;7(10):e47550
- Pacello F. et al. "An ERp57-mediated disulphide exchange promotes the interaction between Burkholderia cenocepacia and epithelial respiratory cells" Sci Rep. 2016 Feb 16;6:21140

Abstracts

- Ciavardelli D. et al. "Proteomics and ionomics profiling reveals significant alterations of 14-3-3 signalling pathway and calcium homeostasis in cystic fibrosis cells"
- FFC Project#16/2010 "Modulation of sphingolipid metabolism as a strategy for the treatment of CF lung inflammation" Maria Cristina Dehecchi (Lab Patologia Molecolare, Lab Analisi chimico Cliniche ed Ematologiche, Az Osp Univ, Verona); Roberto Gambari (Dip. Biochimica e Biologia Molecolare – Univ. Ferrara)

Publications

- Dehecchi MC. et al., "Modulators of Sphingolipid Metabolism Reduce Lung Inflammation" Am J Respir Cell Mol Biol. 2011 Oct;45(4):825-33
- Dehecchi MC. et al., "Pharmacological modulators of sphingolipid metabolism for the treatment of cystic fibrosis lung inflammation" In: Cystic Fibrosis. ISBN 979-953-307-059-8, edited by: Dr. Dinesh D. Sriramulu, Germany
- Galli F. et al. "Oxidative stress and antioxidant therapy in cystic fibrosis" Biochim Biophys Acta. 2012 May;1822(5):690-713

Abstracts

- Dehecchi MC. et al., "Down modulation of neutrophil chemotactic signalling by targeting the metabolism of sphingolipids" Pediatr. Pulmonol.2010, 24th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Baltimore, MD, U.S.A., 2010 (poster)
- Dehecchi MC et al., "Down modulation of neutrophil chemotactic signalling by targeting the metabolism of sphingolipids" Pediatr. Pulmonol.2010 24th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Baltimore, MD, U.S.A., 2010
- Dehecchi MC et al. "Down modulation of neutrophil chemotactic signalling by targeting the metabolism of sphingolipids" Pediatr. Pulmonol.2010 24th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Baltimore, MD, U.S.A., 2010
- Dehecchi MC. et al. "Inhibitors of glucosylceramide synthase (GluCerT) reduce the transcription of IL-8 induced by *P. aeruginosa* in CF bronchial cells" ECFC Basic Science Conference Tirrenia - Pisa, Italy 30 March -2 April 2011
- Dehecchi MC et al., "Inhibitors of glucosylceramide synthase (GluCerT) reduce the transcription of IL-8 induced by *P. aeruginosa* in CF bronchial cells" New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis, Tirrenia (Pisa), 30 March-2 April 2011
- Tebon M. et al. Miglustat reduces lung inflammation in vitro and in vivo" 5th European CF Young Investigator Meeting, Lille, France, 23 – 26 August 2011
- Dehecchi MC et al., "Anti-inflammatory effect of miglustat: sphingolipid metabolism as a therapeutic target for cystic fibrosis lung inflammation" FEBS Workshop: Cell Biology and Pharmacology of Mendelian Disorders, Vico Equense (Naples), 7-11 October 2011.
- Dehecchi MC. et al., "Inhibitors of glucosylceramide synthase (GluCerT) reduce the transcription of IL-8 induced by *P.aeruginosa* in CF bronchial cells" New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis, Tirrenia (Pisa), 30 March-2 April 2011
- Tebon M. et al., "Miglustat reduces lung inflammation in vitro and in vivo" 5th European CF Young Investigator Meeting, Lille, France, 23 – 26 August 2011
- Dehecchi MC. et al., "Anti-inflammatory effect of miglustat: sphingolipid metabolism as a therapeutic target for cystic fibrosis lung inflammation" FEBS Workshop: Cell Biology and Pharmacology of Mendelian Disorders, Vico Equense (Naples), 7-11 October 2011.
- Tebon M. et al. "Targeting enzymes involved in the metabolism of glucosylceramide to modulate transcription of IL-8 gene in CF epi-

thelial cells" 9th ECFS Basic Science Conference, Sainte-Maxime, France from 28 March - 1 April 2012

- Dehecchi C. et al. "Inhibitors of glucosylceramide synthase (GluCerT) reduce the transcription of IL-8 induced by *P. aeruginosa* in CF bronchial cells" 9th ECFS Basic Science Conference, 24 March-1 April 2012, Sainte-Maxime, France
- Dehecchi C. et al. "Iminosugar-based inhibitors of ceramide glucosyl-transferase (GlcCerT) and non-lysosomal glucosylceramidase (GBA2) reduce the inflammatory response to *P.aeruginosa* in CF bronchial epithelial cells" NACFC 2012, Orlando, USA
- FFC Project# 17/2010 "Molecular characterization of trimethylangelicin (TMA) and structurally-related compounds in CF lung disease: anti inflammatory effects and potentiation of the CFTR biological activity" Roberto Gambari (Dip. Biochimica e Biologia Molecolare, Università di Ferrara); Francesco Dall'Acqua (Dip. Scienze Farmaceutiche, Università di Padova)

Publications

- Borgatti M. et al. "Development of a novel furocoumarin derivative inhibiting NF-κB dependent biological functions: desing, synthesis and biological effects" Eur J Med Chem 2011, Oct;46(10):4870-7
- Borgatti M. et al. "Bergamot (Citrus bergamia Risso) fruit extract and identified components alter expression of interleukin 8 gene in cystic fibrosis bronchial epithelial cells lines" BMC Biochem, 2011 Apr 15; 12:15
- Mazzitelli S. et al. "Encapsulation of eukaryotic cells alginate microparticles: cell signaling by TNF-alpha through capsular structure of cystic fibrosis cells" J Cell Commun Signal, 2011 Jun;5(2):157-65 Epub 2010 Nov 25
- Tamanini A. et al. "Trimethylangelicin Reduces IL-8 Transcription and Potentiates CFTR Function" Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2011 Mar;300(3):L380-90
- Hau D. K. et al. "In vivo anti-tumoral activity of corilagin on Hep3B hepatocellular carcinoma" Phytomedicine, 2010 Dec 15;18(1):11-5
- Piccagli L. et al. "Virtual screening against nuclear factor κB (NF-κB) of a focus library: identification of bioactive furocoumarin derivatives inhibiting NF-κB dependent biological functions involved in cystic fibrosis" Bioorg Med Chem, 2010 Dec 1;18(23):8341-9
- Borgatti M. et al. "Induction by TNF-α of IL-6 and IL-8 in cystic fibrosis bronchial IB3-1 epithelial cells encapsulated in alginate microbeads" J Biomed Biotechnol, 2010; 2010. Pii907964. Epub 2010 Sep 8
- Gambari R. "Recent patents on the therapy based on the transcription factor decoy approach" Expert Opinion on Therapeutic Patents, 2011 Nov;21(11):1755-71
- Lampronti I. et al. "Modulation of the expression of the proinflammatory IL-8 gene in cystic fibrosis cells by extracts deriving from olive mill waste water" Evid Based Complement Alternat Med. 2013;2013:960603. doi: 10.1155/2013/960603. Epub 2013 Jul 7.
- FFC Project# 18/2010 "Infections in cystic fibrosis: role of the long pentraxin PTX3 in host resistance and as therapeutic agent" Cecilia Garlanda (Fondazione Humanitas per la Ricerca, Milano); Alessandra Bragonzi (Infections and Cystic Fibrosis Unit, Division of Immunology, Transplantation and Infectious Disease, H. S. Raffaele, Milano)

Publications

- Moalli F. et al. "The therapeutic potential of the humoral pattern recognition molecule PTX3 in chronic lung infection caused by *Pseudomonas aeruginosa*", J Immunol, 2011 May 1;186(9):5425-34
- Chiarini M. et al. "PTX3 genetic variations affect the risk of *Pseudomonas aeruginosa* airway colonization in cystic fibrosis patients" Genes Immun. 2010 Dec;11(8):665-70.
- Inforzato A. et al., "The long pentraxin PTX3 at the crossroads between innate immunity and tissue remodeling" Tissue Antigens. 2011 Apr;77(4):271-82.
- Moalli F et al., "Pathogen recognition by the long pentraxin PTX3" J Biomed Biotechnol, 2011;2011:830421. Epub 2011 Jun 2.
- Moalli F. et al. "Role of complement and FCγ receptors in the protective activity of the long pentraxin PTX3 against *Aspergillus fumigatus*" Blood, 2011 116:5170-5180
- Doni A. et al. "Interactions of the humoral pattern recognition molecule PTX3 with the complement system" Immunobiology. 2012 Nov;217(11):1122-8
- Inforzato A. et al. "Pentraxin in humoral innate immunity" Adv Exp Med Biol. 2012;946:1-20
- Paroni M. et al. "Response of CFTR-deficient mice to long-term *Pseudomonas aeruginosa* chronic infection and PTX3 therapeutic treatment" J Infect Dis. 2012 Oct 18. [Epub ahead of print]

- Véliz Rodriguez T. et al. "Role of Toll interleukin-1 receptor (IL-1R) 8, a negative regulator of IL-1R/Toll-like receptor signaling, in resistance to acute *Pseudomonas aeruginosa* lung infection" *Infect Immun*. 2012 Jan;80(1):100-9
- Garlanda C. et al. "Negative regulatory receptors of the IL-1 family" *Semin Immunol*. 2013 Dec 15;25(6):408-15
- Riva F. et al. "TIR8/SIGIRR is an Interleukin-1 Receptor/Toll Like Receptor Family Member with Regulatory Functions in Inflammation and Immunity" *Front Immunol*. 2012 Oct 29;3:322
- Garlanda C. et al. "Decoys and Regulatory "Receptors" of the IL-1/Toll-Like Receptor Superfamily" *Front Immunol*. 2013 Jul 9;4:180

Abstracts

- Garlanda C. et al., "Role of Complement and Fcγ Receptors in the protective activity of the long pentraxin PTX3 against *Aspergillus fumigatus* and *Pseudomonas aeruginosa*" *Innate Immunity: Mechanisms Linking with Adaptive Immunity*. June 7 - 12, 2010. Trinity College Dublin, Ireland
- Garlanda C., "Infections in cystic fibrosis: role of the long pentraxin PTX3 in host resistance and as therapeutic agent", VIII Italian Convention of Researchers in Cystic Fibrosis, Verona, Italy, December 2-4, 2010
- Garlanda C., "Role of the long pentraxin PTX3 in chronic lung infection by *Pseudomonas aeruginosa*" *SIICA 7th National Conference*, Bari, Italy, May 26-29, 2010
- Garlanda C., "The therapeutic potential of the humoral pattern molecule PTX3 in chronic lung infection caused by *Pseudomonas aeruginosa*" 5th ENII EFI/EJI Summer School in advanced immunology", Capo Caccia, Sardinia, Italy, May 9-16, 2010
- Moalli F. et al. "Role of Complement and Fcγ Receptors in the protective activity of the long pentraxin PTX3 against *Aspergillus fumigatus*" *Innate Immunity: Mechanisms Linking with Adaptive Immunity*, Trinity College Dublin, Dublin, Ireland, June 7-12, 2010
- Paroni M. et al. "Therapeutic potential of the long pentraxin PTX3 in a murine model of *Pseudomonas aeruginosa* chronic lung infection" 24th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Baltimore, USA, October 21-23, 2010
- Moalli F. et al. "Role of Complement and Fcγ Receptors in the protective activity of the long pentraxin PTX3 against *Aspergillus fumigatus* and *Pseudomonas aeruginosa*", Toll2011 Meeting, Decoding Innate Immunity, Riva del Garda, Italy, May 4-7, 2011
- Garlanda C. et al., "Role of Complement and Fcγ Receptors in the protective activity of the long pentraxin PTX3 against *Aspergillus fumigatus* and *Pseudomonas aeruginosa*", Toll2011 Meeting, Decoding Innate Immunity, Riva del Garda, Italy, May 4-7, 2011
- FFC Project# 20/2010 "Identification of agents with multiple favourable activities as potential treatments for cystic fibrosis" Annamaria Naggi (Ist. di Ricerche Chimiche e Biochimiche "G. Ronzoni", Milano), Milani A. Yates (School of Biological Science, University of Liverpool), Janis Shute (Div. Pharmacol. Pharmacy and Biomolecular Science, Univ. Portsmouth)

Publications

- Veraldi N, Hughes AJ, Rudd TR et al. "Heparin derivatives for the targeting of multiple activities in the inflammatory response" *Carbohydrate Polymers* 2015; 117:400-407

Abstracts

- Veraldi N. et al. "Heparin derivatives as potential anti-inflammatory in cystic fibrosis treatment" XIII CSCC, Certosa di Pontignano, June 24-27, 2012
- FFC Project#21/2010 "Th17 responses in Cystic fibrosis: paving the way for novel anti-inflammatory strategies and immunogenetic screening" Luigina Romani (Dip. Medicina Sperimentale e Scienze Biomediche, Università di Perugia)

Publications

- Sorci G. et al. "The danger signal S100B integrates pathogens- and danger-sensing pathways to restrain inflammation" *PLoS Pathog*. 2011 Mar;7(3):e1001315
- Romani L. "Immunity to fungal infections" *Nat Rev Immunol*. 2011 Apr;11(4):275-88
- Zelante T. et al. "IL-22 in antifungal immunity" *Eur J Immunol*. 2011 Feb;41(2):270-5
- Cunha C. et al. "Genetically-determined hyperfunction of the S100B/RAGE axis is a risk factor for Aspergillosis in Stem Cell transplant recipients" *PLoS One*. 2011;6(11):e27962. Epub 2011 Nov 17.
- Cunha C. et al. "Immunogenetic profiling to predict risk of invasive fungal diseases: where are we now?" *Immunol Invest*. 2011;40(7-8):723-34.

- Carvalho A. et al. "Immunotherapy of aspergillosis" *Clin Microbiol Infect*. 2012 Feb;18(2):120-5.
- Zelante T. et al. "Sensing of mammalian IL-17 regulates fungal adaptation and virulence" *Nat Commun*. 2012 Feb 21;3:683. doi: 10.1038/ncomms1685
- Cunha C. et al. "Host genetics and invasive fungal diseases: towards improved diagnosis and therapy?" *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2012 Mar;10(3):257-9.
- Carvalho A. et al. "Host defense pathways against fungi: the basis for vaccines and immunotherapy" *Front Microbiol*. 2012;3:176.
- Cunha C. et al. "DAMP signaling in fungal infections and diseases" *Front Immunol*. 2012;3:286.
- Iannitti RG. et al. "Th17/Treg imbalance in murine cystic fibrosis is linked to indoleamine 2,3-dioxygenase deficiency but corrected by kynurenines" *Am J Respir Crit Care Med*. 2013 Mar 15;187(6):609-20

Abstracts

- Iannitti RG. et al. "Aspergillosis in Cystic Fibrosis: a multifactorial disease?" "5th Advances Against Aspergillosis" Istanbul, 2011 January 26 - 28
- Romani L. "Controversies in immunology: excessive inflammation in Aspergillosis" "5th Advances Against Aspergillosis" Istanbul, 2012 January 26 - 28
- Carvalho A. "Cracking the genetic code for susceptibility to aspergillosis in immunodeficient patients" Gordon Research Conference - Immunology of fungal infections, Galveston (Texas), January 15-22, 2011
- Romani L. "Immunity to fungi: what is required?" EBMT Annual Meeting, Paris (France), April 3-6, 2011

- FFC Project#18/2011 "Inflammasome activation and IL-1β mediated inflammation triggered by *Pseudomonas aeruginosa*: a rationale for novel therapeutic approaches in cystic fibrosis patients" Maria Lina Bernardini (Dip. Biologia e Biotecnologie, Università "La Sapienza", Roma), Antonio Molinaro (Dip. Chimica organica e biochimica, Università di Napoli), Cecilia Garlanda (Fondazione Humanitas per la Ricerca, Milano), Abdelmounaaim Allaoui (Lab. Bacteriologia Molecolare - Facoltà di Medicina - Libera Università di Bruxelles)

Publications

- Garlanda C. et al. "Decoys and Regulatory "Receptors" of the IL-1/Toll-Like Receptor Superfamily" *Front Immunol*. 2013 Jul 9;4:180. doi: 10.3389/fimmu.2013.00180. eCollection 2013.
- Riva F. et al. "TIR8/SIGIRR is an Interleukin-1 Receptor/Toll Like Receptor Family Member with Regulatory Functions in Inflammation and Immunity" *Front Immunol*. 2012 Oct 29;3:322. doi: 10.3389/fimmu.2012.00322. eCollection 2012.

- FFC Project#19/2011 "Phospholipase C beta (PLCB) as candidate therapeutic target in CF lung proinflammatory signaling" Giulio Cabrini (Dip. Patologia e Diagnostica, Università di Verona), Paolo Pinton (Dip. Medicina Sperimentale e Diagnostica, Università degli Studi di Ferrara)

Abstracts

- Cabrini C. et al. "P. aeruginosa and modulation of IL-8 gene expression in bronchial epithelial cells" New frontiers in basic science of cystic fibrosis, Malta ECFS Conference, 26-29 March 2014

- FFC Project#20/2011 "Host Response to *Pseudomonas aeruginosa* adaptation during airway chronic infection" Cristina Cigana (Divisione di Immunologia, Trapianti e Malattie infettive - Istituto San Raffaele, Milano)

Publications

- Lorè N. I. et al. "Cystic fibrosis-niche adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* reduces virulence in multiple infection hosts" *PLoS One*. 2012;7(4):e35648. Epub 2012 Apr 25
- Lorè N. I. et al "The IL-17A/IL-17RA axis in pulmonary defence and immunopathology" *Cytokine Growth Factor Rev*. 2016 Aug;30:19-27

Abstracts

- Cigana C. et al. "Adaptation of *P. aeruginosa* in cystic fibrosis airways affects the host immune-response" NACFC, 2011, Anaheim, California, USA
- Cigana C. et al. "Cystic fibrosis adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* modulates innate immune system and tissue damage control" *Cytokines* 2012, 10th Joint Annual Meeting, 11-14 September 2012, Geneva, Switzerland
- Cigana C. et al. "Host response to *Pseudomonas aeruginosa* adaptation during chronic infection" 35th European Cystic Fibrosis Conference, 6-9 June 2012, Dublin, Ireland

- Lorè N.I. et al. "Adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis airways affects the host immune-response" VI European CF Young investigator meeting, Paris, France, 2012
 - Cigana C. et al. "Cystic fibrosis-adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* modulates innate immune system detection and tissue damage control" NACFC 2012, Orlando, Florida, USA
 - Cigana C. et al. "Defining critical players in inflammation and tissue damage during infection with *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates in mice" NACFC 2013, Salt Lake City, Utah, USA
 - C. Riva, C. Cigana, Nl. Lorè, I. De Fino, L. Spagnuolo, A. Bragonzi "Inflammatory response and tissue damage induced by chronic lung infection with *Pseudomonas aeruginosa* patho-adaptive variants" 8th European CF Young Investigator Meeting Paris, France, 19-21 February 2014, 3rd Phd Workshop, Università degli Studi di Milano, Milan, Italy, 26-27 June 2014, Milan meets Immunology Meeting, Milan, Italy, 16 April 2014
 - Cigana C, Lorè NI, Riva C, De Fino I, Spagnuolo L, Mondino A, Cariani L, Colombo C, Sipione B, Bragonzi A. "Pseudomonas aeruginosa adaptation is associated to sustained lymphocytosis and tissue damage during chronic infection in murine models and humans" 28th Annual North-American Conference, Atlanta, GA (USA), 9-11 October 2014
 - Funicello F, Soldati R, Galletti P, Giacomini D. "Monocyclic beta-lactams and cystic fibrosis : facing antioxidant and antimicrobial activity of N-thiomethyl-azetidiones" 13a giornata scientifica borsisti CINMPIS, presentazione orale, Perugia 18.12.2013
 - FFC Project#21/2011 "**Phosphodiesterases type-4 (PDE4) as a novel target to reduce neutrophilic lung inflammation in cystic fibrosis**" Virgilio Evangelista (Lab. di Biologia e Farmacologia Vascolare, Consorzio Mario Negri Sud, Chieti), Mario Romano (Lab. Medicina Molecolare, Ce.S.I., Università Chieti-Pescara)
- Abstracts
- Totani L. et al. "Phosphodiesterases type-4 (PDE4) as a novel target to control neutrophilic lung inflammation in cystic fibrosis" New frontiers in basic science of cystic fibrosis, Malta, ECFS Conference, 26-29 March 2014
 - FFC Project#22/2011 "**Targeting ceramide metabolism as a pharmacological strategy in cystic fibrosis**" Riccardo Ghidoni (Lab. Biochimica e Biologia Molecolare, Dip. Medicina, Osp. S. Paolo, Università di Milano)
- Publications
- Caretti A. et al. "Anti-inflammatory action of lipid nanocarrier-delivered myriocin: therapeutic potential in cystic fibrosis" *Biochim Biophys Acta*. 2013 Oct 18. pii: S0304-4165(13)00458-3. doi: 10.1016/j.bbagen.2013.10.018. [Epub ahead of print]
 - Caretti A, Bragonzi A, Facchini M et al. "Anti-inflammatory action of lipid nanocarrier-delivered myriocin: therapeutic potential in cystic fibrosis" *Biochimica et Biophysica Acta* 2014; 1840:586-594
 - FFC Project#23/2011 "**Polyethylenimine-engineered respirable particles delivering a decoy oligonucleotide to NF-κB: a novel combination therapy for cystic fibrosis?**" Fabiana Quaglia (Dip. Chimica Farmacologica e Tossicologica, Università "Federico II", Napoli), Rosa Carnuccio (Dip. Farmacologia Sperimentale, Università "Federico II", Napoli)
- Publications
- Ungaro F. et al. "PEI-Engineered Respirable Particles Delivering a Decoy Oligonucleotide to NF-κB: Inhibiting MUC2 Expression in LPS-Stimulated Airway Epithelial Cells" *PLoS One*. 2012;7(10):e46457
 - Ungaro F. et al. "Engineered PLGA nano- and micro-carriers for pulmonary delivery: challenges and promises" *J Pharm Pharmacol*. 2012 Sep;64(9):1217-35
 - De Stefano D. et al. "A decoy oligonucleotide to NF- B delivered through inhalable particles prevents LPS-induced rat airway inflammation" *Am J Respir Cell Mol Biol*. 49(2013):288-95.
 - d'Angelo I, Peretto B, Costabile G et al. "Large Porous Particles for Sustained Release of a Decoy Oligonucleotide and Poly(ethyleneimine): Potential for Combined Therapy of Chronic *Pseudomonas aeruginosa* Lung Infections" *Biomacromolecules* 2016 May 9;17(5):1561-71. doi: 10.1021/acs.biomac.5b01646
- Abstracts
- De Stefano D. et al. "NF- B decoy ODN release from respirable and biodegradable PEI/PLGA particles inhibits MUC2 expression in LPS-stimulated human lung cells" 35° Congresso Nazionale della Società Italiana di Farmacologia, Bologna, 2011
 - Ungaro F. et al. "Engineering inhalable particles for local and prolonged delivery of an oligonucleotide decoy to nuclear factor-β" 8th World Meeting on Pharmaceuticals, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, March 19-22, 2012, Istanbul, Turkey.
 - Ungaro F. et al. "Engineered respirable carriers for the sustained delivery of drugs to the lungs" XXII Simposio ADRITELF "1972-2012: 40 anni di Tecnologia Farmaceutica", September 13-16, 2012, Firenze, Italy
 - Ungaro F et al. "Improving therapy of lung inflammation by inhalable powders for prolonged release of a decoy oligonucleotide against NF- B" 3rd Conference on Innovation in Drug Delivery: Advances in Local drug Delivery, September 22-25, 2013, Pisa, Italy. Selected as oral presentation.
 - De Stefano D. et al. "A decoy oligonucleotide to NF- B delivered through inhalable particles inhibits the lung inflammation induced by LPS in rat" 36mo Congresso Nazionale della Società Italiana di Farmacologia, October 23-26, 2013, Torino, Italy.
 - FFC Project#10/2012 "**A very promising drug against *Burkholderia cenocepacia***" Giovanna Riccardi (Dip. di Biologia e Biotecnologie, Università di Pavia)
- Publications
- Scoffone VC. et al. "Mechanism of resistance to an antitubercular 2-thiopyridine derivative that is also active against *Burkholderia cenocepacia*" *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58(4):2415-7
 - Scoffone VC. et al. "Efflux-mediated resistance to a benzothiadiazole derivative effective against *Burkholderia cenocepacia*" *Front Microbiol*. 2015 Aug 5;6:815.
 - FFC Project#14/2012 "**Structure-activity relationships (SAR) of neoglycoconjugates derived from deoxynojirimycin as possible therapeutic agents for cystic fibrosis lung disease, by modulating the metabolism of sphingolipids**" Maria Cristina Dehecchi (Lab. Patologia Molecolare, Laboratorio Analisi AOUI, Verona), Frédéric Becq (Inst. Physiologie et Biologie Cellulaires, Université de Poitiers, France)
- Publications
- Lampronti I. et al. "Modulation of the expression of the proinflammatory IL-8 gene in Cystic Fibrosis by extracts deriving from olive mill waste water" *Evid Based Complement Alternat Med*. 2013;2013:960603. doi: 10.1155/2013/960603. Epub 2013 Jul 7
 - Bezzeri V, Avitabile C, Dehecchi MC, Lampronti I, Borgatti M, Montagner G, Cabrini G, Gambari R, Romanelli A. "Antibacterial and anti-inflammatory activity of a temporin B peptide analogue on an in vitro model of cystic fibrosis." *Journal of Peptide Science* 2014 Oct;20(10):822-30.
 - Loberto N. et al. "GBA2-Encoded b-Glucosidase Activity Is Involved in the Inflammatory Response to *Pseudomonas aeruginosa*" *PLoS One* 2014 Aug 20;9(8):e104763. doi: 10.1371/journal.pone.0104763. eCollection 2014.
 - Montagner G, Bezzeri V, Cabrini G et al. "An antisense peptide nucleic acid against *Pseudomonas aeruginosa* inhibiting bacterial-induced inflammatory responses in the cystic fibrosis IB3-1 cellular model system" *International Journal of Biological Macromolecules* 2017 Jun;99:492-498.
- Abstracts
- Tebon M. et al. "Non-lisosomial beta-glucosidase 2 (GBA2) as a target of the anti-inflammatory effect of miglustat" ECFS Basic Science Conference, 20-24 March 2013, Malaga, Spain
 - Tebon M. et al. "Non-Lysosomal Beta-Glucosidase 2 (Gba2) as a target of the Anti-Inflammatory Effect of Miglustat." 10th ECFS Basic Science Conference
 - Munari S. et al. "Structure-activity-relationships (sar) of neoglycoconjugates derived from Deoxynojirimycin as possible anti-inflammatory agents for CF lung disease" 11th ECFS Basic Science Conference, 26-29 March, Malta
 - Loberto N. et al. "Involvement of the non-lysosomal - glucosylceramidase gba2 in the inflammatory response to pseudomonas aeruginosa in cystic fibrosis" 2nd International Workshop on Molecular Medicine of Sphingolipids. 12-17 ottobre 2014. Kloster Banz. Germania. Oral Presentation
 - FFC Project#15/2012 "**The Heme-oxygenase 1 (HO-1) as modulator of Cystic Fibrosis lung disease**" Valeria Raia (Dipartimento di Pediatria, Università "Federico II", Napoli), Emanuela Bruscia (Dep. Pediatrics, Respiratory Medicine, Yale University School of Medicine), Luigi Maiuri (IERFC, San Raffaele, Milano)
- Publications
- Zhang PX. et al. "Reduced caveolin-1 promotes hyperinflammation due to abnormal heme oxygenase-1 localization in lipopolysaccharide-challenged macrophages with dysfunctional cystic

fibrosis transmembrane conductance regulator" J Immunol. 2013 May 15;190(10):5196-206. doi: 10.4049/jimmunol.1201607. Epub 2013 Apr 19.

Abstracts

- Villela V. et al. "The Heme-oxygenase 1 (HO-1) as modulator of cystic fibrosis lung disease" 7th European CF Young investigators meeting, February 27-March 1, 2013
- FFC Project#16/2012 **"Targeting pathogenic pathways leading to inflammatory Th17 responses in cystic fibrosis: a drug discovery approach"** Luigina Romani (Dip. Medicina Sperimentale e Scienze Biochimiche, Università di Perugia)

Publications

- Iannitti RG, Casagrande A, De Luca A et al. "Hypoxia promotes danger-mediated inflammation via receptor for advanced glycation end products in cystic fibrosis" American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine 2013; 188:1338-1350
- Bedke T, Iannitti RG, De Luca A et al. "Distinct and complementary roles for Aspergillus fumigatus-specific Tr1 and Foxp3(+) regulatory T cells in humans and mice" Immunol Cell Biol 2014;92:659-70

Abstracts

- Iannitti RG. et al. "Cystic fibrosis Th17/Treg imbalance to Aspergillus fumigatus: insights for novel anti-inflammatory strategies and immunogenetic screening" North American Cystic Fibrosis Conference (NACFC) Orlando (Florida, USA), 11-13 October, 2012. Gordon Research Conference "Immunology of Fungal Infections". Galveston (TX, USA), 13-18 January, 2013.
- Galosi C. et al. "Genetic variants in IDO1 are associated with increased susceptibility to A.fumigatus colonization in patients with cystic fibrosis" The 15th International Congress of Immunology. SM5. Fungi in the setting of inflammation, allergy and autoimmune diseases: Translating basic science into clinical practices. Perugia (Italy), August 29-30, 2013
- Borghi M. et al. "Targeting pathogenic pathways leading to inflammatory responses in Cystic Fibrosis" Meeting "Fungi in the setting of inflammation, allergy and autoimmune diseases: Translating basic science into clinical practices". Borgo Riccio Torchiara (SA, Italy), April 13-16, 2014
- Romani L. "IDO/Kynurenine: A novel anti-inflammatory Th17 counteracting pathway in CF" 37th European Cystic Fibrosis Conference. Gothenburg (Sweden), June 11-14, 2014
- De Luca A. et al. "IL-1 blockade as a potential therapeutic target in Aspergillosis" 6th Advances Against Aspergillosis meeting. Madrid (Spain), February 27 – 1 March, 2014
- Iannitti RG. et al. "Hypoxia promotes danger-mediated inflammation via RAGE in Cystic Fibrosis" 6th Advances Against Aspergillosis meeting. Madrid (Spain), February 27 – 1 March, 2014

- FFC Project#18/2012 **"Cystic Fibrosis liver disease: the role of CFTR as regulator of epithelial innate immunity"** Mario Strazzabosco (Dip. Medicina Clinica e Prevenzione, Università Milano-Bicocca, Milano)

Publications

- Fouassier L. et al. "Ezrin finds its groove in cholangiocytes" Hepatology. 2015 May;61(5):1467-70
- Scirpo R. et al. "Stimulation of nuclear receptor peroxisome proliferator-activated receptor- γ limits NF- κ B dependent inflammation in mouse cystic fibrosis biliary epithelium" Hepatology. 2015 Nov; 62(5):1551-62
- Fiorotto R. et al. "CFTR controls biliary epithelial inflammation and permeability by regulating Src tyrosine kinase activity" Hepatology 2016 Sep 15. doi: 10.1002/hep.28817

Abstracts

- Fiorotto R. et al. "Src tyrosine kinase mediates the increased TLR4-dependent stimulation of innate immune responses to endotoxins in Cftr-defective cholangiocyte" AASLD Liver Meeting 2013, Washington, USA Hepatology 58: 151A
- Fiorotto R. et al. "Src tyrosine kinase mediates the increased TLR4-dependent stimulation of innate immune responses to endotoxins in Cftr-defective cholangiocytes" ICI satellite meeting, SM7, "Endotoxin, TLR4 signaling, and beyond". Cinisello Balsamo (MI), Italy, 21st August 2013
- Scirpo R. et al. "Stimulation of PPAR- γ Nuclear Receptor Limits NF κ B-dependent Inflammation in Cystic Fibrosis Biliary Epithelium" ECLCB-6 2014, Castelfranco Veneto, Italy
- Fiorotto R. et al. "CFTR controls TLR4 responses of the biliary epithelium by regulating C-SRC tyrosine kinase activation" 28th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Atlanta, October 9-11, 2014

- Scirpo R. et al. "Stimulation of PPAR- γ reduces NF κ B-dependent inflammation in cystic fibrosis biliary epithelium" 28th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Atlanta, October 9-11, 2014
- Scirpo R. et al. "Stimulation of PPAR- γ reduces NF κ B-dependent inflammation in cystic fibrosis biliary epithelium" AASLD Liver Meeting 2014, Boston, USA
- Fiorotto R. et al. "The Cystic Fibrosis Conductance Regular (CFTR) controls c-Src tyrosine kinase signaling and regulates innate immunity and epithelial polarity in cholangiocytes" AASLD Liver Meeting 2014, Boston, USA
- Scirpo R. et al. "Activation of PPAR-g signaling as a novel target to limit NF- κ B- dependent inflammation in Cystic Fibrosis biliary epithelium" EASL International Liver CongressTM 2014, London, UK
- Fiorotto R. et al. "CFTR controls a membrane multi-protein complex that regulates cholangiocyte c-src tyrosine kinase activity and Tlr4 signaling: implications for cystic fibrosis liver disease (CFLD)" EASL International Liver CongressTM 2014, London, UK
- Fiorotto R. et al. "CFTR controls TLR4 responses of the biliary epithelium by regulating c-Src tyrosine kinase activation" ECLCB-6 2014, Castelfranco Veneto, Italy
- Scirpo R, Fiorotto R, Villani A, Fabris L, Strazzabosco M. "Stimulation of PPAR- γ reduces NF κ B-dependent inflammation in cystic fibrosis biliary epithelium" The 28th North American Cystic Fibrosis Conference 2014, Atlanta, USA
- Fiorotto R, Villani A, Scirpo R, et al. "Src tyrosine kinase mediates the increased TLR4-dependent stimulation of innate immune responses to endotoxins in Cftr-defective cholangiocytes" AASLD Liver Meeting 2013, Washington, USA Hepatology 58: 151A.

- FFC Project#13/2013 **"Lactoferrin-loaded niosomes in reducing inflammation and infection of cystic fibrosis airway epithelium"** Francesca Berlutti (Dip. Salute Pubblica e Malattie infettive, Università "La Sapienza", Roma)

Publications

- Frioni A. et al. "Lactoferrin differently modulates the inflammatory response in epithelial models mimicking human inflammatory and infectious diseases" Biometals 2014 Oct;27(5):843-56
- Valenti P. et al. "Lactoferrin and cystic fibrosis airway infection. In "Diet and Exercise in Cystic Fibrosis" (Ronald Ross Watson) Academic Press, Waltham" Book: WATSON-9780128000519 Chapter: 09

Abstracts

- Berlutti F. et al. "Lactoferrin modulates inflammatory and iron network in different epithelial cell models mimicking human infection and inflammatory diseases" XI International Conference on Lactoferrin, 6-10 October 2013, Rome, Italy

- FFC Project#14/2013 **"Pathophysiological relevance of glycosaminoglycans in Pseudomonas aeruginosa chronic lung infections and validation of new therapeutic approaches to modulate inflammation and tissue remodeling"** Cristina Cigana (Infezioni and Cystic Fibrosis Unit, HSR, Milano), Annamaria Naggi (Ist. Ricerche Chimiche e Biochimiche G. Ronzoni), Carla Colombo (Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano)

Publications

- Yonker LM. et al. "Host-pathogen interplay in the respiratory environment of cystic fibrosis" J Cyst Fibros. 2015 Jul;14(4):431-9
- Cigana C. et al. "Tracking the immunopathological response to Pseudomonas aeruginosa during respiratory infections" Sci Rep. 2016 Feb 17;6:21465. doi: 10.1038/srep21465
- Lorè IN. et al. "IL-17A impairs host tolerance during airway chronic infection by Pseudomonas aeruginosa" Sci Rep. 2016 May 18;6:25937

Abstracts

- Riva C. et al. "Pseudomonas aeruginosa adaptation to cystic fibrosis airways shapes the host response in mice during the progression of airway disease" 12th ECFS Basic Science Conference (25-28 March 2015, Albufeira Portugal) - 4rd Phd Workshop Università degli Studi di Milano 18-19.06.2015
- Cigana C. et al. "Pseudomonas aeruginosa adaptation as a potential risk factor to the progression of cystic fibrosis airway disease in mice and humans", 38th ECFS Conference, Brussels, Belgium, 10-13 June 2015
- Lorè N.I. et al. "The double-edge sword activity of IL-17 during Pseudomonas aeruginosa chronic airway infection: implications for host resistance and tolerance 29th Annual North-American Conference, Phoenix, AZ (USA), 8-10 October 2015
- Riva C. et al. "Pseudomonas aeruginosa adaptation to cystic fibrosis airways shapes the host response in mice during the progression of airway disease"
- Colombo C., Mosconi P., Glasziou P. "How to provide evidence-

based information and translate Cochrane reviews to lay people in a deliberative setting: the Italian and the Australian citizen juries experience on population screening" 23rd Cochrane Colloquium Vienna, 3-7 October 2015.

- Lorè N.I., Cigana C., Sipione B. et al. "IL-17 relevance during *P. aeruginosa* airway chronic infection" 10th European CF Young Investigator Meeting Paris, France February 10th to 12th 2016"
 - Riva C., Lorè N.I., Sipione B. et al. "*Pseudomonas aeruginosa* chronic infection induced inflammation and tissue damage in the lung: the role of glycosaminoglycans" 10th European CF Young Investigator Meeting Paris, France February 10th to 12th 2016
 - Lorè NI, Cigana C, Riva C et al. "IL-17A impairs host tolerance during airway chronic infection by *Pseudomonas aeruginosa*" ECFC Basic Science Conference 2018, 21 -24 March 2018, Loutraki Korinthias, Greece
- FFC Project#17/2013 "**Preclinical study of a novel aerosol immunotherapeutic approach based on Janus-faced liposomes to enhance innate antimicrobial immunity**" Maurizio Fraziano (Dip. di Biologia, Università Tor Vergata, Roma), Roberto Nisini (Dip. Malattie Infettive, Parassitarie e Immunomediate, ISS, Roma), Maurizio Sanguinetti (Ist. Microbiologia, Università Cattolica, Roma)

Publications

- Paoer N, Bugli F, Taus F et al "Liposomes loaded with bioactive lipids enhance antibacterial innate immunity irrespective of drug resistance" SCI REP 2017 Mar 27;7:45120
- FFC Project#18/2013 "**Development of a CF, IL-8/NF-KB transgenic mouse model for the in vivo long-term monitoring of the inflammatory response induced by bacteria treated or not with azithromycin**" Maria M. Lleò (Dip. di Patologia e Diagnostica, Sez. Microbiologia, Università di Verona)

Publications

- Stellari F. et al. "In vivo imaging of the lung inflammatory response to *Pseudomonas aeruginosa* and its modulation by azithromycin" J Transl Med. 2015 Aug 4;13:251
- Stellari F, Bergamini G, Ruscitti F et al "In vivo monitoring of lung inflammation in CFTR-deficient mice" J Transl Med 2016, Jul 18; 14(1): 226

Abstracts

- Bergamini C. et al. "Development of a CF, IL-8 transgenic mouse model for the *in vivo* long term monitoring of lung inflammation" 1st Italian CF Young Investigator Meeting January 16th - 17th 2015, Rome, Italy
 - Bergamini G. et al. "Development of a CF, IL-8 transgenic mouse model for the *in vivo* long-term monitoring of lung inflammation", NACFC 2015
- FFC Project#19/2013 "**The role of vascular endothelium in cystic fibrosis inflammation**" Mario Romano (Dip. Scienze Sperimentali e Cliniche, Lab. Medicina Molecolare, Università "G. D'Annunzio", Chieti-Pescara), Licia Totani (Dip. di Farmacologia Traslazionale, Consorzio Mario Negri Sud), Marco Marchisio (Dip. Medicina e Scienze dell'Invecchiamento, Università "G. d'Annunzio" Chieti-Pescara)

Publications

- Romano M. et al. "Lipoxins and aspirin-triggered lipoxins in resolution of inflammation" Eur J Pharmacol. 2015 Aug 5;760:49-63

Abstracts

- Totani L. et al. "The involvement of vascular endothelium in cystic fibrosis lung inflammation", New frontiers in basic science of cystic fibrosis, Malta, ECFS Conference, 26-29 March 2014
- FFC Project#20/2013 "**Sphingolipid targeting in inflammation and fungal infection**" Paola Signorelli (Dip. di Scienze della Salute, Facoltà di Medicina, Università di Milano), Elisa Borghi (Dip. di Scienze della Salute, Facoltà di Medicina, Università di Milano), Silvano Sozzani (Dip. Medicina Molecolare e Traslazionale, Università degli Studi di Brescia)

Publications

- Perdoni F. et al. "Antifungal activity of Myriocin on clinically relevant *Aspergillus fumigatus* strains producing biofilm" BMC Microbiol. 2015 Oct 30; 15:248
- Ghidoni R. et al. "Role of Sphingolipids in the Pathobiology of Lung Inflammation" Mediators Inflamm. 2015; 2015:487508. doi: 10.1155/2015/487508. Epub 2015 Dec 3. Review.
- Caretti A. et al., "Inhibition of ceramide de novo synthesis by myriocin produces the double effect of reducing pathological inflammation and exerting antifungal activity against *A. fumigatus* airways infection", Biochim Biophys Acta 2016 Jun;1860(6):1089-97

Abstracts

- Perdoni F. et al. "Antifungal activity of Myriocin, a sphingolipid metabolism inhibitor, on pathogenic fungi" Third Meeting of the ECMM/ISHAM Working Group on Fungal Respiratory Infections in Cystic Fibrosis, Angers- France, 5-6 June 2014 (oral communication)
- Perdoni F, Riva A, Signorelli P et al. "Nanocarrierdelivery of Myriocin, a sphingolipid metabolism inhibitor with antifungal activity, into fungal biofilms" 24th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases in Barcelona, Spain, 10 – 13 May 2014 (poster)
- Perdoni F, Biggiogera M, Cirasola D. et al. "Antifungal activity of Myriocin, a sphingolipid metabolism inhibitor, on fungal biofilms: a preliminary study." ESCMID Study Group for Biofilm (ESGB) Meeting "Biofilm-based Healthcare-associated Infections: from Microbiology to Clinics", Rome 9-10 October 2014

- FFC Project#13/2014 "**Targeting extracellular Protein Disulphide Isomerase to control Burkholderia cenocepacia lung infections**" Francesca Pacello (Dip. di Biologia, Università di Roma "Tor Vergata")

Publications

- Pacello F. et al. "An ERp57-mediated disulphide exchange promotes the interaction between *Burkholderia cenocepacia* and epithelial respiratory cells" Sci Rep. 2016 Feb 16;6:21140. doi: 10.1038/srep21140

- FFC Project#17/2014 "**TRPA1 channels as novel molecular targets for anti-inflammatory therapies in CF lung**" Giulio Cabrini (Laboratorio di Patologia Molecolare, Dip. di Patologia e Diagnostica, Università di Verona), Romina Nassini (Dip. di Scienze Sanitarie, Unità di Farmacologia Clinica e Oncologica, Università di Firenze)

Publications

- Prandini P. et al. "TRPA1 Channels Modulate Inflammatory Response in Respiratory Cells from Cystic Fibrosis Patients" Am J Respir Cell Mol Biol. 2016 Jun 9

- FFC Project#16/2014 "**Lactoferrin-loaded niosomes in reducing inflammation and infection of cystic fibrosis airways**" Francesca Berlutti (Dip. Sanità Pubblica e Malattie infettive, Università "La Sapienza", Roma)

Abstracts

- Valenti P. et al. "Aerosolized lactoferrin reduces inflammation and infection in a mouse model of cystic fibrosis lung infection" XIIIth International Conference on Lactoferrin, Structure, Function and Applications 2-6 Novembre 2015, Nagoya Japan

- FFC Project#17/2014 "**TRPA1 channels as novel molecular targets for anti-inflammatory therapies in CF lung**" Giulio Cabrini (Laboratorio di Patologia Molecolare, Dip. di Patologia e Diagnostica, Università di Verona)

Abstracts

- Cabrini G. et al. "Intracellular calcium mobilization as amplifier of the inflammatory response in CF bronchial epithelial cells" 13th ECFS Basic Science Conference, 30 March – 02 April 2016, Pisa, Italy
- Cabrini G. et al. "Intracellular calcium mobilization and the inflammatory response in CF bronchial epithelial cells" The 30th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, October 27–29, 2016

- FFC Project#19/2014 "**Mitochondrial Ca²⁺-dependent inflammatory activation exacerbates the *P. aeruginosa*-driven inflammatory response**" Paolo Pinton (Dip. di Morfologia, Chirurgia e Medicina Sperimentale, Lab. Trasduzione del Segnale, Università di Ferrara)

Publications

- Rimessi A. et al. "Mitochondrial Ca²⁺-dependent NLRP3 activation exacerbates the *Pseudomonas aeruginosa*-driven inflammatory response in cystic fibrosis" Nat Commun. 2015 Feb 4;6:6201

- FFC Project#20/2014 "**Identification and characterization of LPS-neutralizing human peptides: potential tools to control inflammation in cystic fibrosis lung disease**" Eliodoro Pizzo (Lab. di Struttura e Funzione delle Proteine-SFP, Dip. di Biologia, Università di Napoli "Federico II"), Emilia Maria Pedone (Istituto di Biostrutture e Bioimmagini, C.N.R. Napoli)

Publications

- Pizzo E. et al. "A new active antimicrobial peptide from *PD-L4*, a type 1 ribosome inactivating protein of *Phytolacca dioica* L: A new function of RIPs for plant defence" FEBS Lett. 2015 Sep 14;589(19 Pt B):2812-8
- Notomista E. et al. "The identification of a novel *Sulfolobus islandicus*

dicus CAMP-like peptide points to archaeal microorganisms as cell factories for the production of antimicrobial molecules" *Microb Cell Fact.* 2015 Sep 4;14:126

- Pane K. et al. "Rational Design of a Carrier Protein for the Production of Recombinant Toxic Peptides in *Escherichia coli*" *PLoS ONE* 2016 Jan 25;11(1):e0146552
- Pane K. et al. "A new cryptic cationic antimicrobial peptide from human apolipoprotein E with antibacterial activity and immunomodulatory effects on human cells" *FEBS J* 2016 Jun;283(11):2115-31

Abstracts

- Bosso A. et al. "A new active antimicrobial peptide from PD-L4, a type 1 ribosome inactivating proteins of *Phytolacca dioica* L." IMAP 2015 5th International Meeting on Antimicrobial Peptides, Burlington House, London September 7-8, 2015

- FFC Project#21/2014 "Resolvin D1 for Targeting Chronic Lung Inflammation and Infection in Cystic Fibrosis" Antonio Recchiuti (Dip. di Scienza Clinica e Sperimentale-CeSI, Università "G. d'Annunzio", Chieti-Pescara)

Abstracts

- Recchiuti A. et al. "Resolvin D1 Reduces Lung Chronic Inflammation and Infection Induced by *Pseudomonas aeruginosa*" 1st Italian CF Young Investigator Meeting, January 16th - 17th 2015, Rome, Italy

- FFC Project#22/2014 "Targeting pathogenic pathways leading to inflammatory Th17 responses in cystic fibrosis: from drug discovery to preclinical validation" Luigina Romani (Dip. di Medicina Sperimentale, Università di Perugia)

Publications

- Zelante T. et al. "Tryptophan Feeding of the IDO1-AhR Axis in Host-Microbial Symbiosis" *Front Immunol.* 2014 Dec 15;5:640
- Borghi M. et al. "Antifungal Th Immunity: Growing up in Family" *Front Immunol.* 2014 Oct 15;5:506
- Iannitti RG. et al. "IL-1 receptor antagonist ameliorates inflammation-dependent inflammation in murine and human cystic fibrosis" *Nature Communications* 7:10791 | DOI: 10.1038/ncomms10791
- De Luca A, Pariano M, Cellini B et al. "The IL-17F/IL-17RC Axis Promotes Respiratory Allergy in the Proximal Airways" *Cell Reports* 2017 Aug 15;20(7):1667-1680
- Piliponsky AM, Romani L "The contribution of mast cells to bacterial and fungal infection immunity" *Immunological Reviews* 2018 Mar;282(1):188-197. doi: 10.1111/immr.12623

- FFC Project#24/2014 "The role of Glucocerebrosidase GBA2 in cystic fibrosis lung inflammation: from molecular mechanism to therapeutic strategies" Sandro Sonnino (Dip. di Biochimica Medica e Medicina Traslazionale, Università di Milano)

Publications

- Aureli M. et al. "Unravelling the role of sphingolipids in cystic fibrosis lung disease" *Chem Phys Lipids* 2016 Aug 31;200:94-103. doi: 10.1016

Abstracts

- Aureli M. et al. "Development of new inhibitors of the non-lysosomal -glucosylceramidase GBA2 as possible anti-inflammatory agents for CF lung disease" 12th ECFS Basic Science Conference - 25-28 Marzo 2015, Algarve, Portugal
- Schiumarini D. et al. "Involvement of glycosphingolipid-hydrolases in the inflammatory response to *Pseudomonas aeruginosa* in Cystic Fibrosis" ECFC, 2016
- Schiumarini D, Loberto N, Bassi R et al "Pseudomonas aeruginosa infection induces alterations in plasma membrane lipid composition in cystic fibrosis airway cells: molecular mechanisms and therapeutic options for CF lung pathology" 14th ECFS Basic Science Conference, 29 March - 1 April 2017, Albufeira, Portugal

- FFC Project#25/2014 "Targeting PI3K scaffold function to activate airway CFTR, limit lung inflammation and promote broncho-relaxation in cystic fibrosis" Emilio Hirsch (Dip. di Biotecnologie Molecolari e Scienze per la Salute, Università di Torino, Centro di Biotecnologia Molecolare), Laudanna Carlo (Dip. di Patologia e Diagnostica, Università di Verona, Lab. di Traffico Cellulare e Trasduzione del segnale)

Abstracts

- Richter W. et al. "Disruption of a PI3K /PKA/PDE signaling complex augments cAMP/PKAsignaling and CFTR activity in non-CF and ΔF508-CF airway epithelial cells" 12th ECFS Basic Science Conference - 25-28 Marzo 2015, Algarve, Portugal

- FFC Project#12/2015 "Anti-inflammatory and antibacterial activity

of bovine lactoferrin administered by aerosol in airways infections of pre-clinical wt and CF mouse models" Francesca Berlutti (Dip. di Salute Pubblica e Malattie Infettive - Università La Sapienza, Roma)

Publications

- Valenti P, Frioni A, Rossi A "Aerosolized bovine lactoferrin reduces neutrophils and pro-inflammatory cytokines in mouse models of *Pseudomonas aeruginosa* lung infections" *Biochemistry and Cell Biology* 2017 Feb;95(1):41-47. doi: 10.1139/bcb-2016-0050. Epub 2016 Jul 8

- FFC Project#20/2015 "Mitochondrial quality control machinery a role in the P. aeruginosa-triggered inflammatory response in Cystic Fibrosis" Alessandro Rimessi (Dipartimento di Morfologia, Chirurgia e Medicina Sperimentale, Laboratorio Trasduzione Segnali - Università di Ferrara)

Publications

- Rimessi A. et al. "Mitochondrial reactive oxygen species and inflammation: Molecular mechanisms, diseases and promising therapies" *Int J Biochem Cell Biol.* 2016 Jun 29
- Yoboue ED, Rimessi A, Anelli T et al "Regulation of Calcium Fluxes by GPX8, a Type-II Transmembrane Peroxidase Enriched at the Mitochondria-Associated Endoplasmic Reticulum Membrane" *Antioxidant & redox signalling* 2017 Sep 20;27(9):583-595. doi: 10.1089/ars.2016.6866

- FFC Project#22/2015 "A systematic investigation of miglustat-derivative iminosugar clusters as possible anti-inflammatory agents for Cystic Fibrosis lung disease" Maria Cristina Dehecchi (Laboratorio di Patologia Molecolare, Dipartimento di Patologia e Diagnostica - Università di Verona), Massimo Aureli (Dip. di Biotecnologia Medica e Medicina Traslazionale - Università di Milano)

Publications

- Munari S. et al. "Neoglycoconjugates derived from deoxynojirimycin as possible therapeutic agents for cystic fibrosis lung disease, by modulation of the sphingolipid metabolism" *JSM Genetics & Genomics*, 3 September 2016
- Lampronti I, Dehecchi MC, Rimessi A et al. "Sitosterol Reduces the Expression of Chemotactic Cytokine Genes in Cystic Fibrosis Bronchial Epithelial Cells" *Frontiers in Pharmacology* 2017 May 12;8:236. doi: 10.3389/fphar.2017.00236
- Chiricozzi E, Loberto N, Schiumarini D et al. "Sphingolipids role in the regulation of inflammatory response: from leukocyte biology to bacterial infection" *J Leukoc Biol*, 10.1002/JLB.3MR0717-269R

Abstracts

- Dehecchi M.C., Munari S., Loberto N. et al. "Miglustat-derivative iminosugars as possible anti-inflammatory agents for cystic fibrosis lung disease" 13th ECFS Basic Science Conference, 30 March - 02 April 2016, Pisa, Italy
- Aureli M., Schiumarini D., Loberto N. et al. "Unravelling the link between plasma membrane sphingolipid composition and aberrant inflammatory response in cystic fibrosis" The 30th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, October 27-29, 2016
- Aureli M, Loberto N, Bassi R et al. "Plasma membrane response to *P. aeruginosa* in CF lung inflammation: from molecular mechanisms to therapeutic strategies" 11 European CF Young Investigator Meeting, Paris (France) February 15-17, 2017
- Loberto N, Brocca P, Schiumarini D et al. "Development of nanoparticles for silencing the beta-glucocerebrosidase GBA2 as a promising tool to reduce cystic fibrosis lung inflammation" ECFC Basic Science Conference 2018, 21 -24 March 2018, Loutraki Korinthias, Greece
- D'Alonzo D, Guaragna A, Munari S e all. "L iminosugars: new anti-inflammatory drugs for CF lung disease?" ECFC Basic Science Conference 2018, 21 -24 March 2018, Loutraki Korinthias, Greece
- D'Alonzo D, De Fenza M, Esposito A et al. "Synthesis of N-Alkylated L-Iminosugars and their therapeutic application in cystic fibrosis lung disease" 12th Spanish-Italian Symposium on Organic Chemistry, Ferrara (Italy), July 2-4, 2018
- D'Alonzo D, De Fenza M, Esposito A et al. "Synthesis of N-Alkylated L-Iminosugar and their therapeutic application in cystic fibrosis lung disease" XXXVIII Convegno Nazionale della Divisione di Chimica Organica della Società Chimica Italiana, Milano, 9-13 settembre, 2018

- FFC Project#24/2015 "CFTR-defective biliary cells from human induced pluripotent-stem cells (iPSC) as a model to study the role of innate immunity in cystic fibrosis liver disease" Mario Strazzabosco (Dipartimento di Chirurgia e Medicina Traslazionale, Labo-

ratorio di Epatologia - Università degli Studi Milano-Bicocca)

Publications

- Fiorotto R, Amenduni M, Mariotti V et al "Src kinase inhibition reduces inflammatory and cytoskeletal changes in ΔF508 human cholangiocytes and improves CFTR correctors efficacy" *Hepatology* 2017 Jul 24. doi: 10.1002/hep.29400

• FFC Project#23/2015 "**Targeting PI3Kγ scaffold function to activate airway CFTR, limit lung inflammation and promote bronchorelaxation in cystic fibrosis**" Emilio Hirsch (Dipartimento di Biotecnologie Molecolari e Scienze Sanitarie, Centro di Biotecnologie Molecolari - Università di Torino), Carlo Laudanna (Dip. di Patologia e Diagnostica, Divisione di Patologia Generale, Lab. di Traffico Cellulare e di Trasduzione Cellulare - Università di Verona)

Abstracts

- Ghigo A., Richter W., Murabito A. et al. "Peptide-based disruption of a PI3K /PKA/PDE signaling complex augments cAMP/PKA-signaling and CFTR activity in non-CF and F508del-CF airway epithelial cells" 13th ECFS Basic Science Conference, 30 March – 02 April 2016, Pisa, Italy

- Ghigo A, Murabito A, Ren K et al. "Development of a PI3K -derived peptide as standalone therapy to activate F508del-CFTR, limit lung inflammation and promote bronchorelaxation in Cystic Fibrosis" ECFC Basic Science Conference 2018, 21 -24 March 2018, Loutraki Korinthias, Greece

- Murabito A, Ren K, Pirozzi F et al. "Exploiting a PI3K mimetic peptide as standalone drug to restore CFTR function, reduce inflammation and limit obstruction of the respiratory tract in cystic fibrosis" ECFC Basic Science Conference 2018, 21 -24 March 2018, Loutraki Korinthias, Greece

• FFC Project#18/2016 "**Interfering with glycosaminoglycans during Pseudomonas aeruginosa chronic lung infection: pre-clinical exploitation of a novel therapeutic strategy for cystic fibrosis**" Cristina Cigana (Unità Infezioni e Fibrosi Cistica, Divisione Immunologia, Trapianto e Malattie infettive, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano)

Publications

- Lorè NI, Veraldi N, Riva C et al. "Synthesized Heparan Sulfate Competitors Attenuate Pseudomonas aeruginosa Lung Infection" *International Journal of Molecular Science* 2018 Jan 9;19(1)

• FFC Project#19/2016 "**Resolvin D1 for targeting chronic lung inflammation, infection, and damage in cystic fibrosis**" Antonio Recchiuti (Dipartimento di Scienze Mediche, Orali e Biotecnologie - Centro di Eccellenza delle Scienze dell'Invecchiamento, Università G. D'Annunzio, Chieti-Pescara)

Publications

- Pierdomenico AM, Patruno S, Codagnone M et al. microRNA-181b is increased in cystic fibrosis cells and impairs lipoxin A4 receptor-dependent mechanisms of inflammation resolution and antimicrobial defense" *SCI REP* 2017 Oct 18;7(1):13519 11-mag-18

- Isopi E, Mattoscio D, Codagnone M et al "Resolution of chronic lung inflammation and infection in cystic fibrosis with resolvin D1" *submitted*

Abstracts

- Isopi E, Mattoscio D, Mari VC et al. "Harnessing resolution mediators as novel therapeutic for cystic fibrosis" North American Cystic Fibrosis Conference (NACF), October 18-20, 2018, Denver, CO, USA (Thematic poster view)

- Mattoscio D, Isopi E, Mari VC et al. "Resolvin D1 for targeting lung inflammation, infection, and damage in CF" North American Cystic Fibrosis Conference (NACF), October 18-20, 2018, Denver, CO, USA (Workshop presentation)

- Recchiuti A "Resolvins, lipoxins, and maresins in resolution of inflammation in cystic fibrosis" North American Cystic Fibrosis Conference (NACF), October 18-20, 2018, Denver, CO, USA (Invited Symposium lecture)

- Recchiuti A, Isopi E, Mattoscio D et al. "Harnessing resolution mediators as innovative therapeutics for cystic fibrosis" 2nd International Conference on Pharmacology, August 16-18, Rome, Italy

• FFC Project#23/2017 "**Enabling pulmonary delivery of siRNA in cystic fibrosis lung inflammation: therapeutic potential of hybrid lipid/polymer nanoparticles**" Francesca Ungaro (Dipartimento di Farmacia, Università degli Studi di Napoli Federico II)

Abstracts

- Costabile G, Baldassi D, d'Angelo I et al. "In vitro evaluation of siRNA loaded hNPs for the treatment of cystic fibrosis" NIM Conference "The Future of Nanoscience", Tutzing, Germany, September 4-6, 2018

- d'Angelo I, Costabile G, Durantie E et al. "Inhalable hybrid lipid/polymer nanoparticles for pulmonary delivery of siRNA in cystic fibrosis" 11th World Meeting on Pharmaceuticals, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Granada, Spain, March 19-22, 2018

5. CLINICAL RESEARCH

Ricerca clinica

• FFC Project#23/2010 "**The cystic fibrosis newborn screening in Italy. Survey for assessment of technical-scientific, organizational and psycho-relational issues**" Teresa Repetto (A.O.U. "A. Meyer", Centro Regionale Toscano Fibrosi Cistica, Firenze)

Abstracts

- Repetto T. et al. "Screening neonatale per fibrosi cistica in Italia: studio di audit sugli aspetti tecnici-scientifici, organizzativi e relazionali" SIMMENS SIMePeD, 28 ottobre 2011

- Repetto T. et al. "The cystic fibrosis newborn screening in Italy. Survey for assessment of technical-scientific and organizational issues" 35th ECFC, 6-9 June, 2012, Dublin, Ireland

- Repetto T. et al. "Cystic fibrosis newborn screening in Italy: educational aspect", NACFC 2012, Orlando, Florida, USA

• FFC Project#25/2011 "**DWI (Diffusion weighted Imaging) a new tool to assess inflammation in CF population with pulmonary exacerbation**" Giovanni Morana (Servizio Fibrosi Cistica, Ospedale Ca' Foncello, Treviso)

Abstracts

- De Leo F. et al. "Functional MR to monitoring cystic fibrosis (CF) lung disease" Chicago RNSA (25-30 novembre 2012)

- De Leo F. et al. "Functional MR to monitoring cystic fibrosis (CF) lung disease" Congresso ESMRMB, 4-6 ottobre 2012, Lisbona

- De Leo F. et al. "Ruolo del Diffusion Weighted Imaging (DWI) nel follow-up di pazienti affetti da fibrosi cistica (FC), 3 Congresso annuale dell'Italian Chapter dell'ISMRM, Napoli, 19 aprile 2012

- De Leo F. et al. "Lung-MRI to monitoring cystic fibrosis (CF) patients with pulmonary exacerbation" 36th ECFS Conference, 12-15 June, 2013 Lisbon, Portugal

• FFC Project#26/2011 "**Testing human monocytes as a new tool for clinical and preclinical research in CF**" Claudio Sorio (Dip. di Patologia e Diagnostica, Università di Verona), Mario Rosario Buffelli (Dip. Scienze Neurologiche, Neuropsicologiche, Morfologiche e Motorie, Università di Verona)

Publications

- Bellisola et al. "The identification of cystic fibrosis (CF) cells and their pharmacological correction by mid-infrared microspectroscopy and unsupervised data analysis methods" *ScienceJet* 2014;3:51

- Caldres S. et al. "Challenging the diagnosis of Cystic Fibrosis in a patient carrying the 186-8T/C allelic variant in the CF Transmembrane Conductance Regulator gene" *BMC Pulm Med.* 2014 Mar 13;14:44. doi: 10.1186/1471-2466-14-44

Abstracts

- Vercellone S, Averna M, Pedrazzi M et al. "Measure of CFTR expression and function in peripheral blood leukocytes" 1th Italian CF Young Investigators Meeting, January 16th-17th 2015, Rome

• FFC Project#20/2012 "**Early antibiotic treatment for MRSA eradication in cystic fibrosis patients: a randomised multicentre study**" Giovanni Taccetti (Centro Regionale Fibrosi Cistica, AOU "A. Meyer", Firenze), Diana Costantini (Centro FC, Lab. Patologia Clinica, Fondazione IRCSS Ca' Granda, Milano), Mirella Collura (Centro FC, Ospedale "G. Di Cristina", Palermo), Giuseppe Magazzù (Centro FC, Messina), Valeria Raia (Centro FC, Napoli)

Abstracts

- Cocchi P. et al. "Comparative in vitro activity of temocillin against Burkholderia cepacia complex" *Ped Pulmonol* 2012 Suppl.

- Cocchi P. et al. "Genetic background of MRSA collected from cystic fibrosis patients versus MRSA collected from Intensive Care Unit (ICU) patients : does any difference exist?" *Ped Pulmonol* 2012 Suppl.

- Galici V. et al. "Clinical impact of Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus infection in cystic fibrosis patients: a longitudinal multicenter italian study" *Ped Pulmonol* 2013 Suppl.

- Galici V. et al. "Early antibiotic treatment for MRSA eradication in cystic fibrosis patients: a randomized multicenter study" 28th North American Conference, 2014, Atlanta, USA, *Ped Pulmonol* 2014 Suppl.

- Cocchi P. et al. "Emergence of a Panton-Valentine leukocidin (PVL) positive MRSA strain in cystic fibrosis patients" *J Cyst Fibros* 2014; 13:S61
 - Neri S, Campana S, Dolce D et al. "Early antibiotic treatment for mrsa eradication in cystic fibrosis patients: a multicenter RCT" The 30th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Orlando, Florida, October 27–29, 2016
 - Dolce D, Ravenni N, Campana S et al. "Longitudinal study of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* genetic background isolated from cystic fibrosis patients" 40th European Cystic Fibrosis Conference, Seville, Spain, 7–10 June 2017
 - FFC Project#21/2013 "**Clinical implications of the natural history of insulin secretory and sensitivity defects in cystic fibrosis**" *Alberto Battezzati* (International Center for the Assessment of Nutritional Status (ICANS) - DeFENS Università di Milano), *Carla Colombo* (Dip. Scienze Materno Infantili, Università di Milano, Centro regionale FC), *Andrea Mari* (Istituto di Ingegneria Biomedica, ISIB-CNR, Padova)
- Publications
- Battezzati A. et al. "Age- and Sex-Dependent Distribution of OGTT-Related Variables in a Population of Cystic Fibrosis Patients" *J Clin Endocrinol Metab.* 2015 Aug;100(8):2963-71
- Abstracts
- Battezzati A, Bedogni G, Zazzeron L et al. "Defective beta cell function measured during OGTT is a long term diabetes predictor in cystic fibrosis" *Pediatric Pulmonology*, Volume 49, Issue S38, Article first published online: 4 SEP 2014
 - FFC Project#22/2013 "**Citizens' jury and decision making on cystic fibrosis carrier screening: to screen or not to screen?**" Paola Mosconi (Ist. di Ricerche Farmacologiche "Mario Negri" Laboratory for medical research and consumer involvement), Carlo Castellani (Centro fibrosi cistica, AOUI Verona)
- Publications
- Colombo C. et al. "Alla scoperta del portatore sano della fibrosi cistica" *Ric&Pra* 2015;31(2):82-85
 - Mosconi P. et al. "Giurie dei cittadini: coinvolgere e deliberare nell'interesse pubblico. Anche l'Italia è un paese di Giurie di cittadini" *Ric&Pra* 2015;31(4):149-158
 - Mosconi P, Colombo C, Roberto A et al. "Deciding on cystic fibrosis carrier screening: three citizens' juries and an online survey" *Eur J Public Health.* 2018 Mar 19
- Abstracts
- Colombo C. et al. "How to provide evidence-based information and translate Cochrane reviews to lay people in a deliberative setting: the Italian and the Australian citizen juries experience on population screening" 23rd Cochrane Colloquium Vienna, 3-7 October 2015
 - Castellani C. et al. "Citizens' jury on cystic fibrosis carrier screening: yes or no?" 28th Annual North American Cystic Fibrosis Conference, 9-11 October 2014 Atlanta, USA.
 - FFC Project#23/2013 "**The impact of chest computed tomography on clinical management of CF lung disease**" Harm Tiddens (Erasmus Medical Centre, Sophia Children's hospital, Department of Paediatric Pulmonology and Department of Radiology, Rotterdam), Barouk Maurice Assael (Centro fibrosi cistica, AOUI Verona)
- Abstracts
- Bortoluzzi C.F. et al. "TAC e RX torace possono influenzare il trattamento clinico dei bambini con FC?" 39th European Cystic Fibrosis Conference, 8 – 11 June 2016, Basel, Switzerland
 - FFC#27/2014 "**Transmissibility and clinical significance of *Mycobacterium abscessus* in patients with cystic fibrosis**" Tortoli Enrico (Unità Patogeni Batterici Emergenti, Div. di Immunologia, trapianto e Malattie Infettive, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano), Lisa Cariani (Fondazione IRCSS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano), Clelia Di Serio (CUSSB-Centro Universitario di Statistica per le Scienze Biomediche, Università Vita-Salute San Raffaele Milano), Stefan Niemann (Molecular Mycobacteriology, Research Center Borstel)
- Publications
- Tortoli E, Kohl TA, Brow-Elliott BA et al. "Emended description of *Mycobacterium abscessus*, *Mycobacterium abscessus* subsp. *abscessus* and *Mycobacterium abscessus* subsp. *bolletii* and designation of *Mycobacterium abscessus* subsp. *massiliense* comb. nov." *Int. J Systematic and Evolut. Microbiology* 2016 Nov;66(11):4471-4479.
 - Tortoli E, Kohl TA, Trovato A et al "Mycobacterium abscessus in patients with cystic fibrosis: low impact of inter-human transmission in Italy" *European Respiratory Journal* 2017 Jul 13;50(1). pii: 1602525.
 - Trovato A, Baldan R, Costa D et al. "Molecular typing of *Mycobacterium Abscessus* isolated from cystic fibrosis patients" *International Journal of Mycobacteriology* 2017 Apr-Jun;6(2):138-141.
- Abstracts
- Trovato A. et al. "Analysis of *Mycobacterium abscessus* genetic variability provided by 14-locus variable-number tandem-repeat in patients with cystic fibrosis" 36th Annual Congress of the European Society of Mycobacteriology, 28th June – 1st July 2015, Riga, Latvia
 - FFC Project#28/2014 "**In vitro study of potential pro-fibrotic effect of Everolimus in different human airway cell lines. Searching for new biomarkers to optimize MTOR-inhibitor immunosuppressive treatment of cystic fibrosis patients undergoing lung transplantation**" Gianluigi Zaza (Unità di Nefrologia, Dip. di Medicina, Azienda Universitaria Ospedaliera, Verona), Marco Chilosi (Dip. di Patologia e Diagnostica, Università di Verona)
- Publications
- Tomei P. et al. "Everolimus-induced epithelial to mesenchymal transition (EMT) in bronchial/pulmonary cells: when the dosage does matter in transplantation" *J Nephrol.* 2016 Dec;29(6):881-891
 - Granata S, Santoro G, Masola V et al. "In Vitro Identification of New Transcriptomic and miRNomic Profiles Associated with Pulmonary Fibrosis Induced by High Doses Everolimus: Looking for New Pathogenetic Markers and Therapeutic Targets" *Int. J. Mol. Sci.* 2018 Apr 20;19(4).
 - FFC Project#29/2014 "**Properties of airway mucus in cystic brosis: their modification by changes in the activity of CFTR and after application of bicarbonate**" Olga Luisa A. Zegarra (U.O.C. Genetica Medica, Istituto "Giannina Gaslini", Genova)
- Publications
- Stigliani M. et al. "Rheological properties of Cystic Fibrosis bronchial secretion and in vitro drug permeation study: the effect of sodium bicarbonate" *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv.* 2016 Aug;29(4):337-45
 - Gianotti A. et al. "Pharmacological rescue of mutant CFTR protein improves the viscoelastic properties of CF mucus" *J Cyst Fibros.* 2016 May;15(3):295-301
- Abstracts
- Stigliani M. et al. "Rheological properties of cystic fibrosis sputum and in vitro drug permeation study" 1st Italian CF Young Investigator Meeting, January 16th - 17th 2015, Rome, Italy
 - Gianotti A. et al. "Properties of airway mucus in cystic fibrosis: effect of bicarbonate", 1st Italian CF Young Investigator Meeting, January 16th-17th 2015, Rome, Italy
 - Gianotti A. et al. "Different pharmacological treatments are able to rescue the viscoelastic properties of CF mucus" 13th ECFS Basic Science Conference, 30 March – 02 April 2016, Pisa, Italy
 - Zegarra-Moran O. et al. "Properties of airway mucus in cystic fibrosis: their modification by changes in the activity of CFTR and after application of bicarbonate" 13th Convention of Investigators in cystic fibrosis. *Journal of Postdoctoral Research, FFC Proceedings* 2015
 - Gianotti A. et al. "Pharmacological rescue of mutant CFTR improves the viscoelastic properties of CF mucus" *Cystic Fibrosis Research News* (lay abstract associated to the *Journal of Cystic Fibrosis*) p295-301. Published online: December 8, 2015
 - FFC Project#25/2015 "**Are CF guidelines credible? Evaluating methodological issues**" Cesare Braggion (Dipartimento di Medicina Pediatrica, Centro Regionale Fibrosi Cistica - Ospedale dei Bambini A. Meyer, Firenze)
- Abstracts
- Terlizzi V, Cirilli N, Galici V et al. "Are cystic fibrosis guidelines credible? Evaluating methodological issues" 40th European Cystic Fibrosis Conference, Seville, Spain, 7–10 June 2017
 - FFC Project#27/2015 "**Intra-individual biological variation in sweat chloride concentrations**" Natalia Cirilli (Centro di Riferimento per fibrosi cistica, Ospedale dei Bambini G. Salesi, Dipartimento Materno Infantile degli Ospedali Riuniti, Ancona)
- Publications
- Cirilli N, Raia V, Rocco I et al. "Intra-individual biological variation in sweat chloride concentrations in CF, CFTR dysfunction, and healthy pediatric subjects" *Pediatr Pulmonol* 2018 Jun;53(6):728-734
- Abstracts
- Cirilli N, Raia V, De Gregorio F et al. "Intra-individual biological variation in sweat chloride concentrations" 40th European Cystic Fibrosis Conference, Seville, Spain, 7–10 June 2017
 - FFC Project#28/2015 "**Cystic fibrosis and meconium ileus: a multicentric study on risk factors for adverse outcome in infancy**" Rita Padoan (Centro di Supporto per fibrosi cistica - Università di Brescia,

Ospedale dei Bambini, Azienda Ospedaliera Spedali Civili, Brescia)

Abstracts

- Padoan R, Cesana BM, Falchetti D et al. "Cystic Fibrosis and meconium ileus: a multicentric study on risk factors for adverse outcome in infancy" XIII Congresso Nazionale SIFC, Napoli, 22-25 Novembre 2017
- FFC Project#29/2015 "**Testing CFTR repair in cystic fibrosis patients carrying nonsense and channel gating mutations**" Claudio Sorio (Dipartimento di Patologia e Diagnostica - Università di Verona), Monica Averna (Dip. di Medicina Sperimentale, sez. di Biochimica - Università di Genova)

Publications

- Sorio C. et al. "Mutations of Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Gene Cause a Monocyte-Selective Adhesion Deficiency" *Am J Respir Crit Care Med.* 2016 May 15;193(10):1123-33
- Averna M. et al. "Abnormal activation of calpain and protein kinase Ca promotes a constitutive release of matrix metalloproteinase 9 in peripheral blood mononuclear cells from cystic fibrosis patients" *Arch Biochem Biophys.* 2016 Aug 15;604:103-12
- Bergamini G, Stellari F, Sandri A et al. "An IL-8 Transiently Transgenicized Mouse Model for the In Vivo Long-term Monitoring of Inflammatory Responses" *J Vis Exp.* 2017 Jul 7;(125). doi: 10.3791/55499

Abstracts

- Vercellone S., Caldrelli S., Johansson J. et al. "Testing flow cytometry to detect CFTR expression recovery after drug treatment in epithelial cell lines" 13th ECFS Basic Science Conference, 30 March – 2 April 2016, Pisa, Italy
- Sorio C. "The host's and pathogen's sides in cystic fibrosis: some views in an open field" 13th ECFS Basic Science Conference, 30 March – 2 April 2016, Pisa, Italy
- Vercellone S., Caldrelli S., Johansson J.E. et al. "Flow cytometric detection of cfr expression recovery after drug treatment in epithelial cell lines and leukocytes" 30th Cystic Fibrosis North American Conference, October 27-29, 2016, Orlando (Florida)
- Averna M, Vercellone S, Pedrazzi M et al "Setup of a simplified method to measure CFTR-dependent iodine transport: HS-YFP assay" 17th Scientific Meeting "Organoids as models for disease and treatment in CF" September 21st + 22nd 2017 Schloss Waldhausen/Mainz
- Averna M, Vercellone S, Pedrazzi M et al "A simple method to measure CFTR-dependent iodine transport peripheral blood mononuclear cells: HS-YFP assay" North American Cystic Fibrosis Conference (NACFC), November 2-4, 2017, Indianapolis
- Averna M, Vercellone S, Pedrazzi M et al. "A simple method to measure CFTR-dependent iodine transport peripheral blood mononuclear cells: HS-YFP assay" North American Cystic Fibrosis Conference (NACFC), November 2-4, 2017, Indianapolis

- FFC Project#30/2015 "**Pseudomonas aeruginosa eradication in patients with cystic fibrosis: a randomised multicentre study comparing classic treatment protocols with classic treatment together with antibiotic treatment of upper airways**" Giovanni Taccetti (Dipartimento di Medicina Pediatrica, Centro fibrosi cistica - Università di Firenze, Ospedale dei Bambini A. Meyer, Firenze)

Abstracts

- Dolce D, Ravenni N, Campana S et al "Importance of upper airways in early P. Aeruginosa infection in CF" XIII Congresso Nazionale SIFC, Napoli, 22-25 Novembre 2017
- Dolce D, Ravenni N, Campana S et al "Role of paranasal sinuses in early P. aeruginosa infection in CF" North American Cystic Fibrosis Conference (NACFC), November 2-4, 2017, Indianapolis
- Dolce D, Ravenni N, Campana S et al "Importance of upper airways in early P. aeruginosa infection in CF" XIII Congresso Nazionale SIFC, Napoli, 22-25 Novembre 2017
- Dolce D, Ravenni N, Campana S et al. "Importance of upper airways in early P. aeruginosa infection in CF" XIII Congresso Nazionale SIFC, Napoli, 22-25 Novembre 2017
- Dolce D, Ravenni N, Campana S et al. "Role of paranasal sinuses in early P. aeruginosa infection in CF" North American Cystic Fibrosis Conference (NACFC), November 2-4, 2017, Indianapolis
- Dolce D, Ravenni N, Campana S et al. "Importance of upper airways in early P. Aeruginosa infection in CF" XIII Congresso Nazionale SIFC, Napoli, 22-25 Novembre 2017

- Dolce D, Ravenni N, Campana S et al. "Molecular monitoring of P. aeruginosa early eradication treatment" North American Cystic Fibrosis Conference (NACF), October 18-20, 2018, Denver, CO, USA

- FFC Project#20/2016 "**Italian multicenter study of glucose tolerance defects in cystic fibrosis**" Alberto Battezzati (Centro Internazionale per Inquadramento dello Stato Nutrizionale-ICANS, DeFENS, Università degli Studi di Milano)

Abstracts

- Nazzari E, Guarise R, Mileto P et al. "Relationship between glucose and insulin response during an oral glucose tolerance test (OGTT) and lung clearance index in cystic fibrosis patients" XIII Congresso Nazionale SIFC, Napoli, 22-25 Novembre 2017

- FFC Project#22/2016 "**Environmental and human reservoirs of Pseudomonas aeruginosa and other bacterial species colonizing the lower airways of cystic fibrosis patients**" Caterina Signoretto (Dipartimento di Diagnostica e Sanità Pubblica, Sezione di Microbiologia, Università di Verona)

Abstracts

- Sandri A, Cazzarolli C, Burlacchini G et al. "Human reservoirs of pathogens colonising the airways of cystic fibrosis patients" 41st European Cystic Fibrosis Conference, Belgrade, Serbia, 6-9 June 2018

FFC Facilities

- **Cystic Fibrosis animal Core facility (CFaCore)** Alessandra Bragonzi (Fondazione Centro San Raffaele)

Publications

- Bragonzi A. et al. "Murine models of acute and chronic lung infection with cystic fibrosis pathogens" *Int J Med Microbiol.* 2010 Dec;300(8):584-93. Epub 2010 Oct 14. Review
- Facchini M. et al. "Long-term chronic *Pseudomonas aeruginosa* airway infection in mice" *J Vis Exp.* 2014 Mar 17;(85)
- Kukavica-Ibrulj I FM et al. "Assessing *Pseudomonas aeruginosa* virulence and the host response using murine models of acute and chronic lung infection" *Methods Mol Biol.* 1149:757-71
- Facchini M, De Fino I, Riva C, Bragonzi A "Long term chronic *Pseudomonas aeruginosa* airway infection in mice" *J Vis Exp* 2014 Mar 17;(85). doi: 10.3791/51019

- **Cystic Fibrosis animal Core facility 2 (CFaCore 2)** Alessandra Bragonzi (Fondazione Centro San Raffaele)

Abstracts

- Facchini M, De Fino I, Riva C et al. "Long Term Chronic *Pseudomonas aeruginosa* Airway Infection in Mice" <https://www.jove.com/video/51019>

- **Cystic Fibrosis animal Core facility 4 (CFaCore 4)** Alessandra Bragonzi (Fondazione Centro San Raffaele)

Abstracts

- Cigana C, Ranucci S, Rossi A et al. "Treating acute and chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection: what can we learn from mouse models?" ECFC Basic Science Conference 2018, 21 -24 March 2018, Loutraki Korinthias, Greece

- **Cystic Fibrosis Database (CFDB)**

Publications

- Buzzetti R et al. "CFDB (cystic fibrosis database): a new web-based tool for cystic fibrosis specialists". *Pediatr Pulmonol.* 2014 Sep;49(9):938-40.

- **Servizio Colture Primarie**

- Luis Galiotta (Laboratorio Genetica Molecolare, Istituto G. Gaslini, Genova)

Publications

- Prandini P, De Logu F, Fusi C, Provezza L et al. "Transient Receptor Potential Ankyrin 1 Channels Modulate Inflammatory Response in Respiratory Cells from Patients with Cystic Fibrosis" *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* 2016 Nov;55(5):645-656.

Institutes and Laboratories involved in the 366 projects funded by Italian CF Research Foundation 2002-2018

Istituti e Laboratori attivi nei 366 progetti finanziati da FFC dal 2002 al 2018

ITALY

ABRUZZO

- Dip. Scienze Biomediche, Lab Medicina Molecolare, Università "G. D'Annunzio", Chieti
- Dip. Medicina Sperimentale, Università dell'Aquila, L'Aquila
- Dip. Biologia Cellulare ed Oncologia, Consorzio Mario Negri Sud, S. Maria Imbaro (Chieti)
- Dip. Farmacologia Translazionale, Consorzio Mario Negri Sud, Chieti
- Lab. di Biologia e Farmacologia Vascolare, Consorzio Mario Negri Sud, Chieti
- Lab. Medicina Molecolare, Ce.S.I., Università Chieti-Pescara Centro FC, Teramo
- Lab. Citomorfologia, Dip. Medicina e Scienze dell'Invecchiamento, Università Chieti-Pescara

CALABRIA

- Lab. Clinico Patologico-Ospedale di Soverato, Soverato (CZ)

CAMPANIA

- Dip. Biochimica e Biotecnologie Mediche, CEINGE Biotecnologie Avanzate s.c.a.r.l., Università Federico II, Napoli
- Dip. Pediatria, Università Federico II, Napoli - Lab. Microbiologia Funzionale, Università Federico II, Napoli
- Dip. Chimica Tossicologica e Farmaceutica, Univ. Federico II, Napoli - Dip. Farmacologia Sperimentale, Napoli
- Dip. Chimica e Biochimica organica, Univ. Federico II, Napoli - TIGEM, Telethon, Napoli
- Dip. Farmacia, Università di Salerno
- Istituto di Biochimica delle Proteine, CNR, Napoli
- Istituto di Genetica e Biofisica, CNR, Napoli
- Istituto di Chimica Molecolare, CNR, Napoli
- Dip. Biologia Strutturale e Funzionale, Università "Federico II", Napoli
- Centro FC, Napoli
- Istituto di Biostrutture e Bioimmagini, CNR, Napoli
- Dip. di Scienze Mediche Traslazionali, Università di Napoli Federico II, Centro Regionale Fibrosi Cistica
- Dip. di Scienze e Tecnologie Ambientali, Biologiche e Farmaceutiche, Di.S.T.A.Bi.F., Seconda Università di Napoli
- Telethon Institute of Genetics and Medicine (TIGEM), Pozzuoli, Napoli
- The Center for Advanced Biomaterials for Healthcare, CRIB, Istituto Italiano di Tecnologia, Napoli
- Centro di Ricerca Interdipartimentale sui Biomateriali, Università degli Studi di Napoli Federico II
- Dip. di Biologia, Università degli Studi di Napoli Federico II
- Dip. Scienze Chimiche, Università degli Studi di Napoli Federico II

EMILIA ROMAGNA

- Plesso Biotecnologico Integrato, Università di Parma, Parma
- Dip. Pediatria, Università di Parma, Parma
- Dip. di Biochimica e Biologia Molecolare, Università di Ferrara, Ferrara
- Dip. Medicina Sperimentale e Diagnostica, Università di Ferrara
- Dip. Biochimica, Istituto Nazionale Ricerca Cardiovascolare, Università di Bologna e Cesena
- Dip. Tecnologie Analitiche Avanzate, Piacenza - Dip.

- Scienze cliniche, Università degli Studi di Parma
- Dip. Oncologia, Ematologia e Malattie respiratorie, Università degli Studi di Modena
- Dipartimento di Farmacia e Biotecnologie, Università di Bologna
- Dip. Morfologia, Chirurgia e Medicina Sperimentale, Università di Ferrara, Signal Transduction Lab
- Dip. di Chimica, Scienze della Vita e Sostenibilità ambientale, Università degli Studi di Parma
- Istituto di Scienza e Tecnologia dei materiali ceramici ISTE, CNR, Faenza

FRIULI VENEZIA GIULIA

- International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology (ICGEB)-Trieste
- Dip. di Scienze della Riproduzione e dello Sviluppo - Università di Trieste - I.R.C.C.S. Burlo Garofolo, Trieste
- Dip. Biochimica, Biofisica e Chimica Macrocellulare, Università di Trieste
- Dip. Scienze Biomediche, Università di Trieste
- Dip. Scienze della Vita, Università degli Studi di Trieste

LAZIO

- Dip. Biologia Cellulare e dello Sviluppo -Università La Sapienza, Roma
- Dip. di Biopatologia e Diagnostica per Immagini -Università Tor Vergata, Roma
- Dip. di Biologia -Università Tor Vergata, Roma
- Dip. Biotecnologie Cellulari ed Ematologia -Università La Sapienza, Roma
- Istituto di Clinica Pediatrica, Centro Regionale FC -Università Roma 1 "La Sapienza", Roma
- Dip. di Fisiopatologia Medica -Università La Sapienza, Roma
- Technical Unit for Sustainable Development and Innovation of Agro-Industrial System, ENEA Casaccia Research Center, Lab. Microbiology, Rome
- Lab. di Microbiologia-Ospedale Bambino Gesù-Roma
- Lab. Microbiologia Molecolare -Università La Sapienza, Roma
- Istituto di Microbiologia-Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma
- Dip. Farmacologia, Facoltà di Medicina, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma
- Dip. Microbiologia -Università di Roma 3, Roma
- Dip. Salute Pubblica e biologia cellulare - Università Tor Vergata, Roma
- Dip. Neuroscienze Sperimentali, Fondazione S. Lucia, Roma
- Dip. Scienze di Sanità Pubblica - Univ. "La Sapienza", Roma
- Dip. di Medicina interna e vascolare - Univ. "La Sapienza", Roma
- Lab. di Microbiologia Ospedale Pediatrico Bambin Gesù, Roma
- Serv. Supporto FC, Osp. Bambin Gesù, Roma
- Lab. Microbiologia Molecolare e Biotecnologia dei Microrganismi, Dip. Biologia, "Università Roma Tre"
- Lab. Microbiologia Clinica e Virologia, Dipartimento di Biologia, "Università Roma Tre", Roma;
- Dip. Scienze Biochimiche - Università "La Sapienza", Roma
- Dip. Pediatria e Neuropsichiatria Infantile, Università "La Sapienza"

- Centro fibrosi cistica, Policlinico Umberto I
- Dip. Salute pubblica e Malattie Infettive, Università "La Sapienza", Roma
- Dip. Biologia e Biotecnologie, Università "La Sapienza", Roma
- IRBM Science Park, Roma
- Dip. Malattie Infettive, Parassitarie e Immunomediate, Istituto superiore di sanità, Roma
- Istituto di Microbiologia, Università Cattolica del Sacro Cuore, Fondazione Policlinico Gemelli, Roma
- Dip. Oncologia e Medicina Molecolare, Istituto Superiore di Sanità
- Istituto Italiano Pasteur - Cenci Bolognetti Foundation, Roma
- Dip. Medicina Molecolare, Lab. Virologia, Università La Sapienza Roma
- Unità di Microbiologia e Virologia, Policlinico Umberto I
- Divisione Microbiologia clinica, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma

LIGURIA

- Istituto di Biofisica -CNR, Genova
- Università di Genova, Genova- Lab. di Fisiopatologia dell'Uremia -Istituto G. Gaslini, Genova
- Lab. Genetica umana E.O. Ospedali Galliera, Genova
- Lab. Genetica Molecolare - Istituto G. Gaslini, Genova
- Lab. Medicina Molecolare - Istituto G. Gaslini, Genova
- Lab. Centrale Analisi -Istituto G. Gaslini, Genova
- Sezione Microbiologia - DISCAT, Genova
- ARPAL (Agenzia Reg. Protezione Ambiente Ligure), Genova
- Lab. Diagnostica e Ricerca Malattie Infettive, Dip. Pediatria-Istituto G. Gaslini, Genova
- Dip. Pediatria - Lab. Microbiologia - Istituto G. Gaslini, Genova
- Dip. Pediatria - Centro Fibrosi Cistica - Istituto G. Gaslini, Genova
- Sezione di Epidemiologia e Biostatistica, Istituto G. Gaslini, Genova
- Dip. Medicina Sperimentale - Università degli Studi di Genova
- Lab. Fisiopatologia molecolare dei canali ionici - Centro Biotecnologie Avanzate, Ist. Gaslini, Genova
- Dip. Farmacia (DIFAR), Università di Genova
- Analytical Chemistry Facility, Fondazione Istituto Italiano di Tecnologia, Genova
- Div. Malattie Infettive, Università di Genova, Ospedale San Martino, Genova

LOMBARDIA

- Istituto Statistica e Biometria-Università di Milano, Milano
- Dip. Medicina Specialistica e dei Trapianti-Ospedali Riuniti, Bergamo
- Dip. Immunologia e Clinica dei Trapianti - Ospedali Riuniti, Bergamo
- Lab. Genetica Medica A. O. Istituti Clinici di Perfezionamento, Milano
- Dip. Bioscienze - Università degli Studi di Milano, Milano
- Dip. Genetica e Microbiologia -Università di Pavia, Pavia
- Dip. Pediatria, Centro Fibrosi Cistica -Fondazione IRCCS, Policlinico Mangiagalli e Regina Elena, Milano
- Lab. Microbiologia, Centro Fibrosi Cistica, Milano
- Unità di Genomica per Diagnosi di Patologie Umane-Fondazione Centro San Raffaele, Milano
- Istituto per le Tecnologie Biomediche, CNR, Segrate (MI)
- Lab. Ricerca Clinica -Istituto per la Ricerca Farmacologica "M. Negri", Milano
- Dip. Chimica Organica ed Industriale, Università di Milano
- Dip. Scienze Molecolari Agroalimentari, Università di Milano
- Dip. Biotecnologie e Bioscienze - Università Bicocca, Milano
- Dipartimento di chirurgia e medicina interdisciplinare - Università Bicocca, Milano
- Div. Immunologia, Trapianti e Malattie infettive - Istituto "San Raffaele", Milano
- Istituto di Ricerche Chimiche e Biochimiche, Istituto "G. Ronzoni", Milano
- Dip. Biologia e Genetica per le Scienze Mediche, Università degli Studi di Milano

- Lab. Biologia Clinica Molecolare e Citogenetica, Università Vita-Salute HSR, Milano
- Unità Patogeni Batterici Emergenti, Div. di Immunologia, trapianto e Malattie Infettive, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano
- Centro Universitario di Statistica per le Scienze Biomediche, Università Vita-Salute San Raffaele Milano
- Istituto Ricerche Farmacologiche Mario Negri, Lab. for medical research and consumer involvement
- Dip. Medicina Clinica e Prevenzione, Università Bicocca, Milano
- Lab. Biochimica e Biologia Molecolare, Dip. Medicina, Ospedale S. Paolo, Università degli Studi di Milano
- Dip. Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Milano
- Dip. Ingegneria Strutturale, Politecnico di Milano
- Centro FC, Lab. Patologia Clinica, Fondazione IRCCS, Ca' Granda, Milano
- Istituto europeo per la ricerca sulla fibrosi cistica (I.E.R.F.C.) Fondazione ONLUS c/o HSR, Milano
- Dip. Medicina Molecolare e Traslazionale, Università degli Studi di Brescia
- Dip. Scienze della Salute, Facoltà di Medicina, Università di Milano
- International Center for the Assessment of Nutritional Status (ICANS) - DeFENS Università di Milano
- Humanitas University, Rozzano, Milano
- Computational Sciences, Chemical Core Technologies Department, Nerviano Medical Sciences Srl, Nerviano, (MI)
- Dip. Biotecnologie Mediche e Medicina Traslazionale, Università di Milano, Segrate (MI)
- Dip. Biochimica Medica e Medicina Traslazionale, Università di Milano
- Università di Brescia, Ospedale dei Bambini, AO Spedali Civili, Brescia
- Dipartimento di Elettronica, Informazione e Bioingegneria, Università di Milano
- U. O. di Chirurgia Toracica e Trapianto di Polmone, Università degli Studi di Milano, IRCCS Fondazione Ca' Granda Ospedale Maggiore di Milano
- Dip. di Biologia e Biotecnologia "Lazzaro Spallanzani", Lab. Microbiologia molecolare, Università degli Studi di Pavia
- Istituto di Chimica del Riconoscimento Molecolare, CNR, Milano
- Istituto di Genetica e Ricerca biomedicale, IRGB - CNR, Milano
- Divisione Genetica e Biologia Cellulare, Unità dinamica della cromatina, Ospedale San Raffaele, Milano
- Politecnico di Milano, Dip. Elettronica, Informazione e Bioingegneria

MARCHE

- Centro Fibrosi Cistica-Ospedale dei Bambini - Centro FC, Ancona
- Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università Politecnica delle Marche

PIEMONTE

- Centro FC Adulti Divisione Malattie Respiratorie, Dip. di Scienze Biologiche e Cliniche-Università di Torino, Ospedale S. Luigi Gonzaga, Orbassano (TO)
- Dip. di Genetica, Biologia e Biochimica -Università di Torino, Torino
- Dip. di Patologia Clinica, S.S. di Diagnostica Molecolare e Test Genetici Integrati, Torino
- Dip. Discipline medico chirurgiche, Sez. Anestesia e rianimazione, Univ. Torino
- Dip. di Scienza e Tecnologia del Farmaco, Università di Torino
- Dip. di Scienze cliniche e biologiche, Università di Torino
- Centro di biotecnologia molecolare, Università di Torino
- Dip. di Biotecnologia Molecolare e Scienze della Salute, Università di Torino

PUGLIA

- Dip. Fisiologia Generale ed Ambientatale - Università di Bari, Bari
- Servizio Fibrosi Cistica-Ospedale di Cerignola, Cerignola
- Dip. Scienze Biomediche - Università di Foggia
- Dipartimento di Pediatria - Policlinico - Università di Bari
- Istituto Biomembrane e Bioenergetica, CNR, Bari

SARDEGNA

- Dip. di Scienze biomediche e biotecnologie, Lab. Genetica Molecolare -Ospedale Reg. Microcitemie, Università di Cagliari
- Dip. Tossicologia - Sez. Patologia e Oncologia Molecolare, Università di Cagliari

SICILIA

- Istituto di Biofisica-CNR, Palermo
- Centro Fibrosi Cistica-Policlinico, Messina,
- Centro Regionale FC-Ospedale dei Bambini "G. di Cristina", Palermo
- Istituto per lo Studio dei Materiali Nanostrutturati, CNR, Palermo
- Dipartimento Scienze e Biotecnologie Molecolari e Biomolecolari, Università degli Studi di Palermo
- Dipartimento di Biologia, Scienze Chimiche e Farmaceutiche e Tecnologie -STEBICEF, Sez. di Biologia Cellulare, Università degli Studi di Palermo

TOSCANA

- Dip. Biologia Animale e Genetica-Università di Firenze, Firenze
- Lab. Proteomica Funzionale, Dip. Biologia Molecolare -Università di Pisa, Pisa
- Dip. Pediatria-Centro Fibrosi Cistica - Ospedale Meyer, Firenze
- Servizio Fibrosi Cistica-Ospedale di Livorno, Livorno
- Dip. Patologia Sperimentale, Biotecnologie Mediche, Infettivologia ed Epidemiologia -Università di Pisa, Pisa
- Unità Bioinformatica, Centro di Ricerche Chiron, Siena
- Lab. Fisiologia Microbica e Biotecnologia, Dip. Biologia Molecolare, Policlinico "Santa Maria alle Scotte", Università di Siena
- Dipartimento Diagnostica di Laboratorio Servizio di Diagnostica Genetica- Azienda Ospedaliero Universitaria Careggi, Firenze
- Dip. Biologia Molecolare, Sez. Chimica Biologica - Università di Siena
- Dip. Biotecnologia, Chimica e Farmacia, Università di Siena
- Dip. Biotecnologie Mediche, Università di Siena
- Dip. Scienze Farmaceutiche, Università degli Studi di Firenze
- Dip. Biologia dell'Evoluzione, Università degli Studi di Firenze
- Dip. Scienze Sanitarie, Unità di Farmacologia Clinica e Oncologica, Università di Firenze
- Dip. Ricerca Traslazionale NTMS - Lab. Patologia Generale, Università di Pisa
- Dip. di Scienze della Salute, Università degli Studi di Firenze
- Unità Infezione e Malattie Tropicali, Azienda Ospedaliero-Universitaria Careggi, Firenze

TRENTINO-ALTO ADIGE

- CIBIO – Centre for Integrative Biology, Università di Trento
- CIBIO – Centre for Integrative Biology, Università di Trento, Computational Metagenomics Lab
- Istituto di Biofisica, CNR, Trento

UMBRIA

- Dipart. Medicina Interna - Sez. Biochimica Applicata e Scienze Nutrizionali - Università degli Studi di Perugia
- Dipart. Medicina Sperimentale e Scienze Biomediche - Università degli Studi di Perugia
- Dip. Medicina Sperimentale e Scienze Biomediche, Università degli Studi di Perugia
- Dip. Biotecnologie, Università degli Studi di Siena

- Dipartimento Scienze Farmaceutiche, Università degli Studi di Perugia

VENETO

- Medicina Interna, Università degli Studi di Verona, Verona
- Istituto Veneto Medicina Molecolare, Padova
- Servizio Clinico di Genetica e Screening neonatale, Centro Fibrosi Cistica, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata, Verona
- Dip. di Patologia, Sezione immunologia, Università degli Studi di Verona, Verona
- Sezione di Anatomia ed Istologia, Dip. di Scienze Morfologico-Biomediche, Università degli Studi di Verona, Verona
- Lab. Patologia Molecolare, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata, Verona
- Centro Fibrosi Cistica, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata, Verona
- Dip. Scienze della Vita e della Riproduzione, Sezione di Biologia e Genetica, Università degli Studi di Verona
- Dip. Scienze Biomediche e Chirurgiche, Divisione di Nefrologia -Università degli Studi di Verona, Verona
- Dip. di Patologia e Diagnostica - Patologia Generale - Università degli Studi di Verona, Verona
- Dip. di Patologia e Diagnostica, Università di Verona, Lab. di Traffico Cellulare e Trasduzione del segnale
- Lab. di Microbiologia, Azienda Ospedaliera Universitaria di Verona
- Facoltà di Scienze della Formazione, Università degli Studi di Verona, Verona
- Dip. Scienza e Tecnologia del Farmaco, Università degli Studi di Verona, Verona
- Dip. Scienze del Farmaco, Università degli Studi di Padova
- Dip. Scienze Biomediche, Università degli Studi di Padova
- Dip. Scienze Neurologiche e del Movimento, Università degli Studi di Verona
- Servizio fibrosi cistica, Ospedale Ca' Foncello, Treviso
- Ist. di Clinica Pediatrica, AO e Università degli studi Padova
- Istituto di Ingegneria Biomedica, ISIB-CNR, Padova
- Dip. di Diagnosi e Salute Pubblica, Sezione di Microbiologia, Università di Verona
- Dipartimento di Medicina Molecolare, Università degli Studi di Padova
- Dipartimento di Informatica, Università degli Studi di Verona
- Università degli Studi di Verona, Dip. Medicina, Unità di Gastroenterologia
- Dip. Scienze Farmaceutiche e Farmacologiche, Università degli Studi di Padova
- Dip. Scienze Cardiologiche, Toraciche e Vascolari, Div. Chirurgia toracica, AOU Padova

EUROPE

BELGIUM

- Dept. of Clinical Chemistry, Catholic University of Louvain - St. Luc University Hospital, Louvain
- Louvain Centre for Toxicology and Applied Pharmacology (LTAP), Université Catholique de Louvain, Brussels
- Lab. of Molecular Bacteriology ULB, Faculty of Medecine, Bruxelles
- Lab. for Molecular Virology & Gene Therapy, Center for Molecular Medicine, Faculty of Medicine, KU Leuven

FRANCE

- Institute of Cell Physiology and Biology, University of Poitiers
- Pediatric Cystic Fibrosis Center of Trousseau Hospital - Inserm U938 / UPMC, Paris
- Centre de Recherche des Cordeliers, Paris, INSERM U1138
- Necker-Enfants Malades Hospital, AP-HP Laboratory of General Biochemistry, Paris
- Hôpital Cochin, Paris
- St-Antoine Research Center, Inserm, Paris

GERMANY

- Institute of Medical Microbiology and Hygiene, University of Tübingen

- Institute für Medizinische Mikrobiologie, Universitätsklinikum, Münster
- Molecular Mycobacteriology, Research Center Borstel
- Institute of Physiology I, Life & Brain Center, University of Bonn
- Department Pharmazie, Ludwig-Maximilians Universität, München

IRELAND

- Queen's University Belfast, Respiratory Medicine Research Group, Belfast

SWITZERLAND

- Dept. of Pediatrics, University Hospital and Faculty of Medicine, Geneva
- Polyphor Ltd, Switzerland, Geneva

THE NETHERLANDS

- Dept. Gastroenterology & Hepatology, Erasmus University Medical Center, Rotterdam

UNITED KINGDOM

- Dept. of Respiratory Medicine, Freeman Hospital, The Medical School University of Newcastle
- School of Biological Science, University of Liverpool
- Division of Pharmacology, Pharmacy and Biomedical Science, University of Portsmouth
- Epithelial Research Group, Institute for Cell and Molecular Biosciences, University Medical School, Newcastle University, Newcastle upon Tyne
- Faculty of Life Sciences, University of Manchester, Manchester

OUTSIDE EUROPE

CANADA

- Dept. of Microbiology and Immunology, University of Western Ontario, London, Ontario, Canada

ISRAEL

- Schulich Faculty of Chemistry Technion -Israel Institute of Technology, Haifa
- Dept. of Biological Chemistry, The Weizmann Institute of Science, Haifa
- Clinical Microbiology and Immunology, Tel Aviv University
- Department of Clinical Microbiology and Immunology, Sackler Faculty of Medicine, Tel Aviv University,

UNITED STATES

- Dept. Pediatrics, Respiratory Medicine, Yale University School of Medicine, USA
- Department of Environmental and Occupational Health, University of Pittsburgh, USA
- University of South Alabama College of Medicine, Department of Biochemistry & Molecular Biology, Mobile
- Marsico Lung Institute/Cystic Fibrosis Research Center, University of North Carolina at Chapel Hill

International Reviewers of FFC Projects (2002-2018)

ASIA

Hong Kong

Dennis Lo Yuk Ming

India

Vikas Gautam

Amit Misra

Israel

Batsheva Kerem

Orit Reish

Hanoch Senderowitz

Turchia

Duygu Gözen

Japan

Hiroshi Kubo

AUSTRALIA

Scott Bell

Margaret Cooley

Martin Delatycki

Tim Kidd

Manohar Garg

Allan Glanville

John Massie

John Mattick

David Reid

Louis Rendina

Tony Velkov

Cynthia Withchurch

CANADA

Christine Bear

Lori Burrows

André Cantin

Tom Clandinin

Elizabeth Cowley

Peter Durie

Tanja Gonska

Hartmut Grasemann

Bob Hancock

Yeger Herman

Susan Koval

Sheila Innis

Roger Levesque

Paul Linsdell

Gergerly Lukacs

Tong-jun Lin

George A Mackie

François Malouin

Liu Mingyao

Robert Newton

Michael Parkins

Grace Parraga

Paul Pencharz

Martin Post

Danuta Radzioch

Felix Ratjen

Andrew Sandford

Molly Schmid

Aaron Shawn

Christopher Sibley

Pamela Sokol

David Speert

Michael G Surette

Miguel Valvano

Valerie Waters

Michael Wheeler

Herman Yeger

Julian Zielensky

EUROPE

Austria

Thomas Eiwegger

Peter Jacksch

Robert Knobler

Belgium

Karim Amighi

Gilles Brackman

Jean Jacques Cassiman

Tom Coenye

Pierre Cornelis

Aurélie Crabbé

Harry Cuppens

Christiane De Boeck

Ingeborg Liebaers

Savvas Savvides

Peter Vandamme

Czech Republic

Jan Krejssek

Denmark

Thomas Bjarnsholt

Oana Ciofu

Niels Hojby

Christian Koch

Marie Johannesson

Jette Elisabeth Kristiansen

Søren Molin

France

Emmanuel Andres

Frederic Becq

Frank Brouillard

Mireille Claustres

Christelle Coraux

Laurent Debarbieux

Laurence Delhaes

Isabelle Durieu

Alexander Edelman

Brigitte Fauroux

Claude Ferec

Chantal Gauthier

Emanuelle Girodon

Vincent Goffin

Aurélie Goyenville

Genevieve Hery Arnaud

Jacky Jaquot

Jean Paul Latgé

Fabien Lecaille

Patricia Lemarchand

Christine Linard

Olivier Mignen

Anne Munck

Patrizia Paterlini-Brèchot

Jean-Marc Rolain

Marie Catherine Romey

Juliet Royet

Magali Taulan-Cadars

Isabelle Sermet

Virginie Scotet

Olivier Tabary

Pascal Trouvè

Clarisse Vandebrouck

Guillaume Van Niel

Germany

Robert Bals

Wolfgang H. Binder

Michael De Vrese

Jahn Dieter

Gerd Döring

Stephan Fischer

Christoph Freiberg

Matthias Griese

Erick Gulbins

Dominik Hartl

Andreas Hector

Jürgen Heesemann

Barbara Kahl

Winfried Kern

Wolfgang Kuebler

Karl Kunzelmann

Jochen G. Mainz

Frank-Michael Müller

Markus Pietsch

Hermann Schillers

Ursula Seidler

Stefan Stamm

Gratiana Steinkamp

Burkhard Tuemmler

Martin Ulrich

Christiane Wolz

Greece

George Makrydimas

Ireland

Colum Dunne

Elena Fernandez Fernandez

Brian Harvey

Siobhán McClean

Irene Oglesby

Cian O'Leary

Emer Reeves

Italy

Guido Antonelli

Giovanna Batoni

Flavia Bazzoni

Alessandra Bragonzi

Carlo Castellani

Antonio De Flora

Fabrizio De Ponti

Luis Juan Vincente Galieta

Silvio Garattini

Marco Lucarelli

Oscar Moran

Marco Trabucchi

Portugal

Margarida Amaral

Jorge Leitão

Raquel Sabino

Spain

Guillermo Mtz. de Tejada de

Garaizábal

Raquel Barrio

Jaume Bertranpetit

Ana Bustamante-Aragones

Rafael Cantón

Xavier Estivill

Sweden

Gunnar C. Hansson

Ute Romling

Birgitta Strandvik

Craig Wheelock

Peter Zygmunt

Switzerland

Leo Eberl

Lukas Ebner

Dieter Haas

Hans Peter Fisher

Adin Ross-Gillespie

Bernard Rossier

Peter Sander

The Netherlands

Jeffrey Beekman

Touw Daan

Hugo De Jonge

Peter Klijn

Lidewij Henneman

Peter JFM Merkus

Charlotte Robbroeks

Harm Tiddens

Bernt Van Der Blink

United Kingdom

Matthew Avison

Maria G. Belvisi

Charlotte Billington

James Birchall

Marina Botto

Malcolm Brodrie

Alan Brown

Alan R. Cowley

Andrew Bush

Philip Calder

Steven Conway

Jane Davies

Louise Donnelly

Robert Dormer

Alistair Duff

Stuart Elborn

Madeleine Ennis

Glenda Esmond

Thomas Evans

Alain Filloux

Andres Floto

Paul Foster

Peter Gahan

Erol Gaillard

Claire Glasscoe

John Govan

Michael Gray

Robert Gray

Catherine Greene

Andrew Greening

Uta Griesenbach

Alexander Horsley

Eshwar Mahenthalingam

Anil Mehta

Maurice Hallett

Andrew Jones

Julian Parkhill

Mauro Perretti

Tyrone Pitt

Daniela Riccardi

Geraint Rogers

Martin Savage

David Sheppard

David Smith

Liz Sockett

Kevin Southern

Maurice Super

Hui-leng Tan

Tunney Michael

Sabeel Valappil

Ludovic Vallier

Paola Vergani

John Widdicombe

Craig Winstanley

SOUTH AMERICA

Brazil

Margaret Cristina da Silva

Boguszewski

- Veralice Meireles Sales
de Bruin
Mauro M. Teixeira
- Costa Rica**
Arturo Solis
- Venezuela**
Juan Bautista De Sanctis
- U.S.A.**
- Alabama**
Bakhrom K. Berdiev
David Bedwell
John Paul Clancy
Kim Keeling
Lisa Schwiebert
Robert Wang
- California**
William Balch
Annelise Barron
Carroll Cross
Beate Illek
Ryan Hunter
Ronald Kopito
Terry Machen
Richard Moss
Malla M. Reddy
Evan Powers
Paul Quinton
Charles M. Strom
Alan Verkman
Jeffrey Wine
- Colorado**
Frank Accurso
Brian Day
Brian Doctor
Jonathan Harris
Jerry A. Nick
Scott Sagel
Herbert Schweizer
Jeff Wagener
Marty Zamora
- Connecticut**
Nadia Ameen
Peter Glazer
Diane Krause
Joseph L. Kuti
Curt Scharfe
Li Tianbo
- Florida**
Alexander Cole
Alexandra Quittner
- Georgia**
Scott Grosse
Rabindra M. Tirouvanziam
- Illinois**
John Christman
- Ann Harris
Anver Kuliev
Le Shen
Lee Shulman
Jerrold Turner
- Indiana**
Crislyn D'Souza-Schorey
Roman Dziarski
Won Kyoo Cho
Irina Petrache
- Iowa**
Xiaopeng Li
Dwight C. Look
Patrick Sinn
Ziying Yan
Joseph Zabner
- Kansas**
John Gatti
- Kentucky**
Stefan Stamm
Jay Zwischenberger
Joseph Zwischenberger
- Louisiana**
Jay K. Kolls
Guoshun Wang
- Maine**
Robert Owens
- Maryland**
Biswas Roopa
Gary Cutting
Robert K. Ernst
William Guggino
Andy Kilianski
Sam Lai
Gary Mansfield
Christian Merlo
Peter Mogayzel
Amanda Oglesby-Sherrouse
Kenneth N. Olivier
Jonathan Orens
Harvey Pollard
Keith J. Slifer
Jerry Wright
Pamela Zeitlin
- Massachusetts**
Martin Joyce-Brady
Terence Flotte
Steven Freedman
Bryan Hurley
Allan Jacobson
Robert Kolter
John Ladias
Bruce Levy
Stephen Lory
Hongmei Mou
Gerald Pier
- Stefan Ryter
Gregory Sawiki
Charles Serhan
Susan Slaughaupt
- Michigan**
Daniel Klionsky
John Li Puma
Mary O'Riordan
Kathleen Stringer
- Minnesota**
Robert C. Huebert
Mark Kurth
Antoinette Moran
- Missouri**
Carolyn Cannon
Thalachallour Mohanakumar
Stuart Sweet
- Nebraska**
Bradley Britigan
Channabasavaiah
Gurumurthy
- New Hampshire**
Dean Madden
George A. O'Toole
- New York**
Isabel Aznarez
Nazzareno Ballatori
Ville Friman
David Goldfarb
Cole Haynes
Alice Prince
Lisa Saiman
Patricia Sime
Stefan Worgall
Tilla S. Worgall
- North Carolina**
Adler Kenneth B.
Robert Aris
Michael Boyle
Douglas Cyr
Charles Esther
Martina Gentszsch
Andrew Ghio
Mehmet Kesimer
Michael Knowles
Marianne Muhlebach
John Riordan
Gabriel Sherif
Robert Tarran
- Ohio**
Amal Amer
Melvin Berger
Maria Britto
James Chmiel
Mitchell Drumm
Dana S. Hardin
- Daniel Hassett
Scott Herness
Craig Hodges
Lloyd Horrocks
Valerie Hudson
Christopher Karp
Thomas J. Kelley
Michael Konstan
Sanjay Rajagopalan
Adriano Tonelli
Daniel Wozniak
- Oregon**
David C. Dawson
Bruce L. Geller
Xuehong Liu
- Pennsylvania**
Jennifer Bomberger
Robert Bucki
Raymond Frizzell
David Orenstein
Keven Mara Robinson
Douglas Wilson
- South Carolina**
Patrick Flume
- Tennessee**
John Christman
Michael Laposata
Vasiliy V. Polosukhin
- Texas**
Carolyn Cannon
Brian R Davis
Tawanda Gumbo
Philip Thomas
- Utah**
Valerie Hudson
Guy Zimmerman
- Vermont**
Daniel J. Weiss
- Virginia**
Joanna Goldberg
Dennis E. Ohman
Bruce Rubin
- Washington**
Moira Aitken
Jane Burns
Chris Goss
E. Peter Greenberg
Lucas Hoffmann
Samuel I. Miller
Matt Parsek
Margaret Rosenfeld
Sina Tavakoli
- Wisconsin**
Philip Farrel
Krishanu Saha
Don Sanders

Acknowledgment

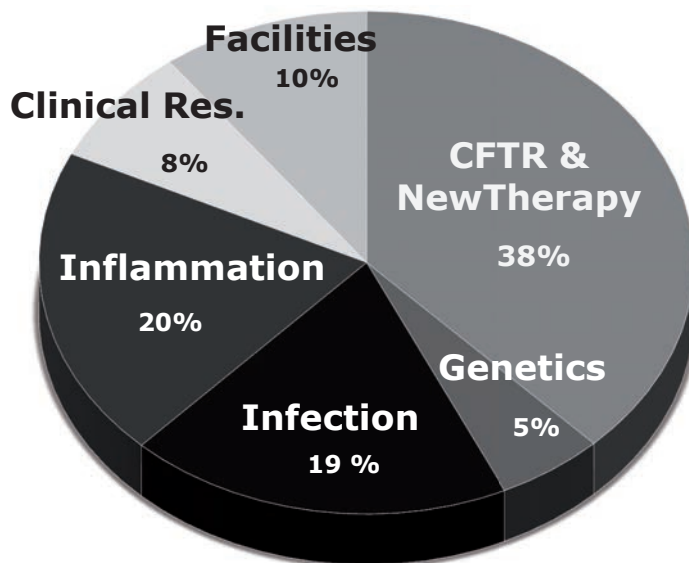
The Italian Cystic Fibrosis Research Foundation (FFC) wishes to thank all the reviewers who have so far contributed to evaluate research proposals submitted annually to the Foundation. Their strong commitment to critical analysis and targeted suggestions have helped to optimally qualify the activities of the FFC research network.

2002-2018 FFC Projects: funding and publications

Progetti FFC 2002-2018: finanziamento e pubblicazioni

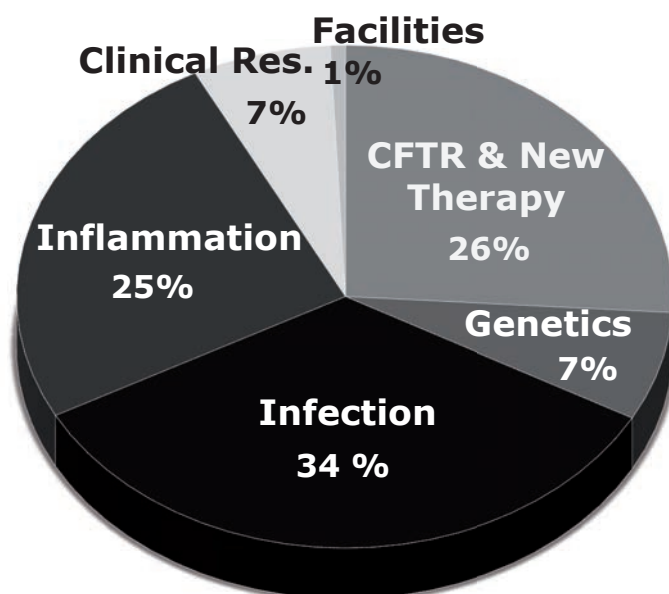
FFC Funding by Research Areas and Facilities (2002 - 2018)

Total Funding: € 25.655.349



FFC Publications by Research Areas (2002 - 2018)

Total number of Publications: 542



FFC Research funding (1997-2018)

CF research costs supported by FFC Foundation (€)																		
Research area	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2002-2018
1. CFTR pathophysiology & new therapy	263.000 2 proj.	238.000 5 proj.	76.000 4 proj.	205.000 5 proj.	205.000 5 proj.	220.000 5 proj.	195.000 2 proj.	375.000 7 proj.	470.000 8 proj.	235.000 4 proj.	565.000 6 proj.	355.000 6 proj.	1.604.000 9 proj.	487.000 9 proj.	665.000 12 proj.	1.838.000 11 proj.	1.152.149 13 proj.	9.148.149 116 proj.
2. Genetics		90.000 3 proj.	113.000 4 proj.	110.000 2 proj.	80.000 3 proj.	113.000 2 proj.	195.000 3 proj.	130.000 2 proj.		310.000 5 proj.		60.000 1 proj.	78.000 1 proj.					1.279.000 25 proj.
3. Infection	18.000 1 proj.	105.000 3 proj.	95.000 3 proj.	145.000 4 proj.	232.000 9 proj.	291.000 7 proj.	260.000 5 proj.	270.000 6 proj.	395.000 6 proj.	373.000 8 proj.	343.000 7 proj.	336.000 5 proj.	230.000 6 proj.	440.000 11 proj.	190.000 5 proj.	416.000 10 proj.	457.000 7 proj.	4.596.000 104 proj.
4. Inflammation	211.000 1 proj.	55.000 1 proj.	163.000 5 proj.	123.000 4 proj.	113.000 3 proj.	163.000 3 proj.	345.000 5 proj.	295.000 6 proj.	485.000 8 proj.	520.000 7 proj.	440.000 5 proj.	529.000 8 proj.	615.000 11 proj.	250.000 4 proj.	160.000 2 proj.	101.000 2 proj.	290.000 6 proj.	4.858.000 79 proj.
5. Epidemiology & Clinical Res		20.000 1 proj.	53.000 3 proj.	31.000 2 proj.	75.000 4 proj.	70.000 3 proj.	85.000 2 proj.	130.000 3 proj.	35.000 1 proj.	140.000 2 proj.	120.000 2 proj.	180.000 3 proj.	153.000 3 proj.	273.000 6 proj.	120.000 3 proj.	110.000 1 proj.	247.000 5 proj.	1.842.000 44 proj.
Core Facilities (F)							200.000 Quantigene (3 yrs)	400.000 CFCore (3 yrs)	6.500 Primary Cult.	7.200 Primary Cult.	802.000 CFCore (3 yrs) Prim.Cult.(3 yrs)	50.000 CFDB	20.000 CFDB	260.000 CFDB CFCore Primary Cult.	253.000 CFDB CFCore Primary Cult.	243.000 CFDB CFCore Primary Cult.	248.000 CFDB CFCore Primary Cult.	2.489.700 Facilities
Research projects	4 proj.	13 proj.	19 proj.	17 proj.	24 proj.	20 proj.	17 proj.	24 proj.	23 proj.	26 proj.	20 proj.	23 proj.	30 proj.	30 proj.	22 proj.	24 proj.	31 proj.	368 proj.
Direct costs	492.000	508.000	500.000	614.000	705.000	857.000	1.280.000	1.600.000	1.391.500	1.585.200	2.270.000	1.510.000	2.700.000	1.710.000	1.388.000	2.708.000	2.394.149	24.212.849
Indirect costs	21.500	32.000	46.000	54.000	61.000	65.000	76.000	82.000	85.000	97.000	87.000	83.000	115.000	85.000	95.000	178.000	180.000	1.442.500
TOTAL COSTS	513.500	540.000	546.000	668.000	766.000	922.000	1.356.000	1.682.000	1.476.500	1.682.200	2.357.000	1.593.000	2.815.000	1.795.000	1.483.000	2.886.000	2.574.149	25.655.349

Research investment 2002 - 2018: 25.655.349 €

Research support at Verona CF centre 1997 - 2002: 777.217 €

Total research investment 1997 - 2018: 26.432.566 €

FFC projects (2016-2018) presented at the 16th Convention and adopted by FFC Supporters (**)

Progetti FFC (2016-2018) presentati alla XVI Convention e adottati da Sostenitori FFC

• Progetto strategico **FFC/TFCF - Task Force for Cystic Fibrosis**
Responsabile: **Luis Galletta** (Lab. Genetica Molecolare, Istituto G. Gaslini, Genova)

Costo complessivo: € 1.250.000

Fase 1: € 200.000. Adottato parzialmente da: **Energy T.I. Group S.p.A. Milano** (€ 100.000), **LIFC Associazione Siciliana Onlus in ricordo di Davide Radicello** (€ 20.000), **Danone SpA** (€ 50.000).

Fase 2: € 370.000. Adottato parzialmente da: **Amici per la Ricerca Loifur srl** (€ 35.000), **Famiglia per la Ricerca FC** (€ 40.000), **Fondazione Corrado e Bruno Maria Zaini** (€ 35.000).

Fase 3: € 680.000. Adottato parzialmente da: **Dekra SpA** (€ 25.000), **Fondazione Corrado e Bruno Maria Zaini** (€ 35.000), **Brandart** (€ 10.000), **Rortos srl** (€ 10.000), **Piazzalunga srl** (€ 10.000), evento **“Uno swing per la ricerca” promosso dalla Delegazione FFC di Villa d’Almè** (€ 24.600), **quota parziale Cinque per mille 2014** (€ 130.000), **Bike Tour 2016** (€ 55.000), eventi **“La notte dei sapori 2” e “FFC Golf Cup 2016”** (€ 20.000), **Gruppo Aziende Nordest, Delegazioni FFC di Vicenza e di Verona Val d’Alpone** (€ 15.000), **Numero Solidale Natale 2016** (€ 17.151), **Campagna di Natale FFC 2016** (€ 50.000), **Saint Gobain** (€ 8.000), **SLF Abrasivi srl** (€ 10.000), **Famiglia per la ricerca** (€ 30.000), **“Amici per la ricerca” Bassano del Grappa** (€ 27.000), **Loifur** (€ 10.000), **Mevis spa** (€ 10.000), **Amici della ricerca di Milano** (€ 12.000), **Evento “Dai respiro alla Ricerca”, Delegazione FFC di Palermo** (€ 20.000), **Fondazione Mediolanum** (€ 40.900), **Evento “Guardare lontano”, Delegazione FFC di Milano** (€ 15.000), **Project Hope Rosa Pastena** (€ 21.000), **Lega Italiana Fibrosi Cistica di Messina - Dinner Claudio Miceli** (€ 23.000), **#CorrerePerUnRespiro** (€ 15.000), **Imprese straordinarie - Milano per la Ricerca** (€ 17.000), **Trofeo Neurone** (€ 16.500)

• **FFC/TFCF - Extension e fase preclinica**

Responsabile: **Tiziano Bandiera** (Dip.to Drug Discovery, Istituto Italiano Tecnologia, IIT, Genova)

Partner: **Nicoletta Pedemonte** (Lab. Genetica Molecolare, Istituto G. Gaslini, Genova); Principale consulente esterno: **Luis Galletta** (Telethon Institute of Genetics and Medicine - TIGEM, Napoli)

Costo: € 2.000.000. Adottato parzialmente da: **Evento “Mara-fibrosita 2017” promosso dalla Delegazione FFC di Como Dongo** (€ 56.000), **Donazioni Campagna di Pasqua 2017 finalizzate Task Force** (€ 50.000), **Evento “Artisti per un respiro” 4^a ed. promosso dalla Delegazione FFC di Catania Mascalucia** (€ 10.000), **Amici per la Ricerca di Bassano** (€ 31.500), **Progetto “Tredici/43” promosso dalla Delegazione FFC di Vicenza** (€ 50.000), **Sfogli Torino srl** (€ 10.000), **Quota parziale Campagna Nazionale FFC 2017** (€ 50.000), **“La Camminata del Respiro” e altri eventi promossi dalla Delegazione Sondrio Valchiavenna** (€ 30.000), **Il cuore degli amici di Bergamo** (€ 40.000), **Dondup** (€ 10.000), **“Dai energia alla ricerca”** (€ 100.000), **“Alla ricerca di un sorriso 6” promosso da Gruppo di Sostegno FFC di Seregno** (€ 25.000), **Loifur** (€ 10.000), **Proventi libro “Smeraldi a colazione” – 2017** (€ 20.000), **Famiglia Calabrese De Feo** (€ 20.000), **Amici della ricerca di Milano** (€ 10.000), **Quota parziale Campagna di Natale FFC 2017** (€ 100.000), **Piazzalunga srl** (€ 10.000), **Marcella e Lorenzo Turazza** (€ 22.000), **Lascito Famiglia Scarpa** (€ 20.000), **SEI Toscana** (€ 12.000), **Latteria Montello** (€ 15.000), **#CorrerePerUnRespiro 2018** (€ 20.000), **Bike Tour FFC 2017** (€ 47.000), **“In ricordo di Dani Copes”: Raccolta fondi promossa dall’Associazione Trentina Fibrosi Cistica – Onlus** (€ 10.000), **“Project Hope - Rosa Pastena”** (€ 35.000), **Quota parziale Cinque**

per mille 2015 (€ 100.000), **Fondazione Bruno Maria Zaini** (€ 35.000), **Evento “Insieme per donarti un respiro” 4^a ed. promosso dalla Delegazione FFC di Vittoria Ragusa** (€ 10.000), **Saint Gobain** (€ 10.000), **Ma.Gia srl** (€ 10.000), **Metropole** (€ 21.000), **Evento “Verdi legge Verdi”, omaggio a Marta Marzotto** (€ 11.000), **Numero Solidale 2017** (€ 17.471), **Wind Tre in ricordo di Francesca Cascone** (€ 10.000)

Adottabile per € 962.029.

• **FFC#1/2016**

Analoghi di trimetilangelicina (TMA) di nuova generazione come modulatori selettivi di CFTR o di infiammazione

Responsabile: **Adriana Chilin** (Dipartimento di Scienze Farmaceutiche e Farmacologiche, Università di Padova)

Costo: € 80.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Rovigo** (€ 8.000), **Delegazione FFC di Boschi Sant’Anna Minerbe** (€ 20.000), **Guadagnin srl** (€ 8.000), **Delegazione FFC del Lago di Garda con i Gruppi di Sostegno di Arezzo, dell’Isola Bergamasca, di Chivasso** (€ 44.000)

• **FFC#2/2016**

Strategie alternative per il ripristino funzionale di CFTR-F508del: nuovi target per lo sviluppo di farmaci contro la fibrosi cistica

Responsabile: **Giorgio Cozza** (Istituto Europeo per Ricerca in Fibrosi Cistica-IERFC presso Divisione di Genetica e Biologia Cellulare, Istituto San Raffaele, Milano)

Costo: € 40.000. Adottato totalmente da: **LIFC Toscana Onlus**

• **FC#3/2016**

Strategie terapeutiche in fibrosi cistica basate su MicroRNA in grado di modulare CFTR e infiammazione (MicroRNA-CF)

Responsabile: **Roberto Gambari** (Dipartimento di Scienze della vita e Biotecnologie, Sezione di Biochimica e Biologia Molecolare, Università di Ferrara)

Costo: € 70.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Lecce** (€ 15.000), **Latteria Montello** (€ 20.000), **Delegazione FFC di Tradate Gallarate** (€ 35.000)

• **FFC#4/2016**

Sviluppo di un peptide derivato dall’enzima PI3K come nuovo e efficace potenziatore del canale mutato CFTR-F508del

Responsabile: **Alessandra Ghigo** (Dipartimento di Biotecnologia Molecolare e Scienze della Salute, Università di Torino)

Costo: € 50.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Vicenza**

• **FFC#5/2016**

Realizzazione di un nuovo test del sudore video-controllato per la misurazione della funzione del canale CFTR: importanza per definire la diagnosi e valutare l’efficacia di nuove terapie

Responsabile: **Teresinha Leal** (Centro di Lovanio per Tossicologia e Farmacologia Applicata-LTAP, Istituto di Ricerca Clinica e Sperimentale-IREC, Università Cattolica di Lovanio)

Costo: € 45.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Imola e Romagna**

• **FFC#6/2016**

Comprendere il meccanismo d’azione delle vie regolatorie che controllano la proteostasi della CFTR-F508del e sviluppare farmaci in grado di correggere il suo difetto attraverso un’azione sinergica sulle suddette vie

Responsabile: **Alberto Luini** (Consiglio Nazionale delle Ricer-

che, Dipartimento Scienze Biomediche, Istituto di Biochimica Proteica, Napoli)

Costo: € 100.000. Adottato totalmente da: *Delegazione FFC di Cosenza Sud* (€ 8.000), *Delegazione FFC di Verbania e VCO* (€ 12.000), *Delegazione FFC di Bologna* (€ 65.000), *Delegazione FFC di Ferrara* (€ 15.000)

• **FFC#7/2016**

Organoidi intestinali umani per identificare il recupero di CFTR da parte di molecole attive su mutazioni di CFTR in campioni di plasma umano

Responsabile: **Paola Melotti** (Centro Fibrosi Cistica, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona)

Costo: € 35.000. Adottato totalmente da: *Delegazione FFC di Belluno*

• **FFC#8/2016**

Difetti di assemblaggio della proteina CFTR-F508del mutata; meccanismi di recupero dell'espressione della proteina CFTR-F508del mutata; correttori e siti di legame dei correttori

Responsabile: **Oscar Moran** (Istituto di Biofisica, Consiglio Nazionale delle Ricerche-CNR, Genova)

Costo: € 40.000. Adottato totalmente da: *Delegazione FFC di Palermo*

• **FFC#9/2016**

Anakinra, un farmaco promettente nella fibrosi cistica: da anti-infiammatorio a correttore di CFTR

Responsabile: **Luigina Romani** (Dipartimento di Medicina Sperimentale, Università di Perugia)

Costo: € 60.000. Adottato totalmente da: *Delegazione FFC di Como Dongo*

• **FFC#10/2016**

Modulazione della proteinchinasi CK2 per regolare le molecole chaperoniche che controllano il destino della proteina CFTR-F508del

Responsabile: **Mauro Salvi** (Dipartimento di Scienze Biomediche, Università di Padova)

Costo: € 30.000. Adottato totalmente da: *Gruppo di Sostegno FFC di Seregno*

• **FFC#11/2016**

Potenziale terapeutico della miriocina quale modulatore del fenotipo patologico in fibrosi cistica

Responsabile: **Paola Signorelli** (Dipartimento di Scienze della Salute, Ospedale San Paolo, Università di Milano)

Costo: € 70.000. Adottato totalmente da: *Gruppo di Sostegno FFC di Vercelli* (€ 16.000), *Gruppo di Sostegno FFC di Genova "Mamme per la ricerca"* (€ 30.000), *Delegazione FFC Valle Scrivia Alessandria* (€ 8.000), *Delegazione FFC di Olbia* (€ 16.000)

• **FFC#12/2016**

Proprietà del muco delle vie aeree in fibrosi cistica: modifiche dovute a cambiamenti nell'attività di CFTR e dopo l'applicazione di bicarbonato

Responsabile: **Loretta Ferrera** (U.O.C. Genetica Medica, Istituto Giannina Gaslini, Genova)

Costo: € 45.000. Adottato totalmente da: *Delegazione FFC di Genova* (€ 15.000), *Delegazione FFC di Pomezia Roma* (€ 15.000), *Delegazione FFC di Massafra con Delegazione FFC di Taranto e Gruppo di Sostegno FFC di Alberobello* (€ 15.000)

• **FFC#13/2016**

Messa a punto di un modello single-cell e di un modello animale per lo studio della patogenesi dell'infezione da membri del *Mycobacterium abscessus* complex in pazienti con fibrosi cistica

Responsabile: **Enrico Tortoli** (Unità Batteri Patogeni Emergenti, Divisione di Immunologia, Trapianti e Malattie Infettive, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano)

Costo: € 50.000. Adottato totalmente da: *Gruppo di Sostegno FFC di Ascoli Piceno* (€ 15.000), *"Amici di Laura" Casnigo* (€ 13.000), *Delegazione FFC della Valdadige* (€ 8.000), *Gruppo di Sostegno FFC di Magenta Milano* (€ 14.000)

• **FFC#14/2016**

Ruolo di sistemi regolati da piccoli RNA non codificanti nell'infezione da *Pseudomonas aeruginosa* delle vie aeree di malati FC: una nuova frontiera nell'identificazione di bersagli molecolari per antibatterici innovativi

Responsabile: **Giovanni Bertoni** (Dipartimento di Bioscienze, Università degli Studi di Milano)

Costo: € 25.000. Adottato totalmente da: *Delegazione FFC di Reggio Calabria* (€ 12.000), *Gruppo di Sostegno FFC di Vigevano* (€ 13.000)

• **FFC#15/2016**

Geni Modificatori legati alla malattia polmonare da *Pseudomonas aeruginosa* in fibrosi cistica

Responsabile: **Alessandra Bragonzi** (Unità Infezioni e Fibrosi cistica, Divisione di Immunologia, Trapianti e Malattie Infettive, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano)

Costo: € 45.000. Adottato totalmente da: *Delegazione FFC della Valpolicella* (€ 25.000), *Delegazione FFC di Manciano Grosseto e Famiglia Catalano* (€ 10.000), *Gruppo di Sostegno FFC di Riola Sardo* (€ 10.000)

• **FFC#16/2016**

Terapia fagica per combattere le infezioni da *Pseudomonas aeruginosa* in pazienti con fibrosi cistica

Responsabile: **Daniela Erica Ghisotti** (Dipartimento di Bioscienze, Università di Milano)

Costo: € 15.000. Adottato totalmente da: *LIFC Toscana Onlus*

• **FFC#17/2016**

Sviluppo di particelle inalabili per la somministrazione ottimale di una potente molecola antimicrobica nelle infezioni polmonari dovute a *Pseudomonas aeruginosa*

Responsabile: **Alessandro Pini** (Dipartimento di Biotecnologia Medica, Università di Siena)

Costo: € 50.000. Adottato totalmente da: *Delegazione FFC di Siena* (€ 15.000), *Delegazione FFC di Sassari Castelsardo* (€ 27.000), *Gruppo di Sostegno FFC di Siniscola Nuoro* (€ 8.000)

• **FFC#18/2016**

Valutazione preclinica dell'efficacia di composti che competono con i glicosaminoglicani polmonari nel ridurre l'infiammazione e il danno al tessuto causati dall'infezione cronica da *Pseudomonas aeruginosa*

Responsabile: **Cristina Cigana** (Unità Infezioni e FC, Divisione Immunologia, Trapianto e Malattie infettive, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano)

Costo: € 60.000. Adottato totalmente da: *Delegazione FFC di Palermo* (€ 12.000), *Delegazione FFC di Vittoria, Ragusa e Siracusa* (€ 12.000), *Delegazione FFC di Catania Mascalucia* (€ 12.000), *Delegazione FFC di Messina* (€ 12.000), *Gruppo di Sostegno FFC di Tremestieri* (€ 12.000)

• **FFC#19/2016**

Ruoli e meccanismi della Resolvina D1 per il trattamento dell'infiammazione, dell'infezione cronica e del danno polmonare in fibrosi cistica

Responsabile: **Antonio Recchiuti** (Dipartimento di Scienze Mediche, Orali e Biotecnologie - Centro di Eccellenza delle Scienze dell'Invecchiamento, Università G. D'Annunzio, Chieti-Pescara)

Costo: € 100.000. Adottato totalmente da: *Delegazione FFC di Cecina e Rosignano* (€ 30.000), *Raffaele Madonna* (€ 10.000), *Delegazione FFC di Fabriano Ancona e Gruppo di Sostegno FFC di Umbertide Città di Castello Perugia* (€ 20.000), *Delegazione FFC di Foggia* (€ 8.000), *LIFC - Lega Italiana Fibrosi Cistica* (€ 24.000), *Delegazione FFC di Novara* (€ 8.000)

• **FFC#20/2016**

Studio multicentrico italiano dei deficit di tolleranza glicemica in fibrosi cistica

Responsabile: **Alberto Battezzati** (Centro Internazionale per Inquadramento dello Stato Nutrizionale-ICANS, DeFENS, Università degli Studi di Milano)

Costo: € 80.000. Adottato totalmente da: *Delegazione FFC di Latina* (€ 20.000), *Delegazione FFC di Villa D'Almè* (€ 8.000),

Ma.Gia srl (€ 10.000), **Associazione Trentina Fibrosi Cistica in ricordo di Marika Tomasi** (€ 20.000), **Delegazione FFC di Milano** (€ 22.000)

• **FFC#21/2016**

La realtà virtuale per ridurre il dolore e l'ansia del prelievo venoso nei bambini con fibrosi cistica

Responsabile: Sofia Bisogni (Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli Studi di Firenze)

Costo: € 15.000. **Adottato totalmente da:** *Delegazione FFC di Sondrio Valchiavenna*

• **FFC#22/2016**

Serbatoi ambientali e umani di *Pseudomonas aeruginosa* e altre specie batteriche in grado di colonizzare le basse vie respiratorie di pazienti con fibrosi cistica

Responsabile: Caterina Signoretto (Dipartimento di Diagnosi e Salute Pubblica, Sezione di Microbiologia, Università di Verona)

Costo: € 25.000. **Adottato totalmente da:** *Delegazione FFC di Treviso Montebelluna*

• **FFC#16/2013**

Fosfodiesterasi tipo-4 (PDE4) e recettori β 2 adrenergici come potenziali bersagli farmacologici per ridurre l'infiltrazione neutrofilica e il danno polmonare nella fibrosi cistica. Studi preclinici e identificazione di biomarcatori di efficacia

Responsabile: Virgilio Evangelista (Dipartimento di Scienze Sperimentali e Cliniche, Laboratorio di Medicina Molecolare, Università di Chieti)

Costo: € 90.000. **Adottato totalmente da:** *LIFC con Associazioni Regionali per la Campagna Nazionale FFC* (€ 65.000), *Delegazione FFC di Lecce* (€ 10.000), *LIFC Associazione Emiliana Onlus* (€ 15.000)

• **FFC#1/2017**

SpliceFix: riparare difetti di splicing del gene CFTR tramite tecnologia CRISPR/Cas9

Responsabile: Anna Cereseto (Centro per la Biologia Integrata - CIBIO, Università degli Studi di Trento)

Costo: € 90.000. **Adottato totalmente da:** *Associazione Trentina Fibrosi Cistica in ricordo di Maria Cainelli e Romana Petrolli* (€ 10.000), *Delegazione FFC di Imola e Romagna* (€ 40.000), *Delegazione FFC di Alberobello* (€ 25.000) *Delegazione FFC di Lucca* (€ 15.000)

• **FCC#2/2017**

Identificazione di deubiquitinasi e ubiquitina-ligasi che influenzano la correzione della proteina CFTR mutata

Responsabile: Luis Galletta (Istituto Telethon di Genetica e Medicina - TIGEM, Napoli)

Costo: € 90.000. **Adottato totalmente da:** *Delegazione FFC di Bologna* (€ 80.000), *Delegazione FFC di Ferrara* (€ 10.000)

• **FFC#3/2017**

Ottimizzazione di una nuova molecola per il superamento delle mutazioni di stop e il recupero della proteina CFTR in cellule umane FC

Responsabile: Laura Lentini (Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche Chimiche e Farmaceutiche, Sez. Biologia Cellulare, Università degli Studi di Palermo)

Costo: € 57.000. **Adottato totalmente da:** *Delegazione FFC di Palermo* (€ 19.000), *Delegazione FFC di Vittoria, Ragusa e Siracusa* (€ 19.000), *Delegazione FFC di Catania Mascalucia* (€ 19.000)

• **FFC#4/2017**

Caratterizzazione di nuovi modelli animali che rispecchiano la complessità della malattia fibrosi cistica

Responsabile: Nicola Ivan Lorè (Unità di Infezioni e Fibrosi cistica, Divisione di Immunologia, Trapianti e Malattie Infettive, Ospedale San Raffaele, Milano)

Costo: € 92.000. **Adottato totalmente da:** *Delegazione FFC di Milano*

• **FFC#5/2017**

Caratterizzazione dei mesoangioblasti umani per una nuova terapia cellulare della fibrosi cistica

Responsabile: Graziella Messina (Dipartimento di Bioscienze, Università degli Studi di Milano)

Costo: € 30.000. **Adottato totalmente da:** *Delegazione FFC di Roma Pomezia per Sara, Andrea e Michol*

• **FFC#6/2017**

Analisi farmacoforica per la progettazione e sintesi di nuovi derivati tiazolici e ibridi del VX-809 come correttori della mutazione F508del

Responsabile: Enrico Millo (Centro di Eccellenza per la Ricerca Biomedica - CEBR, Università degli Studi di Genova)

Costo: € 35.000. **Adottato totalmente da:** *Delegazione FFC di Verona Valpolicella*

• **FFC#8/2017**

Un nuovo modello di fibrosi cistica in chip microfluidico per lo studio dei meccanismi patogenetici e la valutazione di strategie terapeutiche

Responsabile: Paolo Netti (Centro per Biomateriali avanzati per la Sanità - CRIB, Istituto Italiano di Tecnologia, Napoli)

Costo: € 75.000. **Adottato totalmente da:** *Delegazione FFC di Napoli San Giuseppe Vesuviano* (€ 8.000), *Delegazione FFC di Cosenza Sud* (€ 8.000), *Delegazione FFC di Valle Scrivia Alessandria* (€ 8.000), *Delegazione FFC di Foggia* (€ 8.000), *Gruppo di Sostegno FFC di Genova "Mamme per la ricerca"* (€ 19.000), *Con Cecilia amici della ricerca* (€ 16.000), *Gruppo di Sostegno FFC di Reggello Firenze* (€ 8.000)

• **FFC#9/2017**

Gli inibitori di RNF5 quali potenziali farmaci per il difetto di base in fibrosi cistica

Responsabile: Nicoletta Pedemonte (Istituto G. Gaslini, U.O.C. Genetica Medica, Genova)

Costo: € 90.000. **Adottato totalmente da:** *Delegazione FFC di Genova e Gruppo di Sostegno FFC di Savona Spotorno* (€ 50.000), *"Un fiore per Valeria" Assemmini - Cagliari* (€ 8.000), *Gruppo di Sostegno FFC di Vigevano* (€ 15.000), *Delegazione FFC della Valdadige* (€ 8.000), *Delegazione FFC di Lodi* (€ 9.000)

• **FFC#10/2017**

Strategie alternative per il ripristino funzionale del F508del-CFTR: nuovi target per lo sviluppo di farmaci contro la fibrosi cistica

Responsabile: Giorgio Cozza (Dipartimento di Medicina Molecolare, Università degli Studi di Padova)

Costo: € 31.000. **Adottato totalmente da:** *Gruppo di Sostegno FFC Verona Val d'Alpone*

• **FFC#11/2017**

Sviluppo di un peptide derivato dall'enzima PI3K γ come nuovo ed efficace potenziatore del canale mutato CFTR-F508del

Responsabile: Alessandra Ghigo (Dipartimento di Biotecnologie Molecolari e Scienze per la Salute, Università degli Studi di Torino)

Costo: € 60.000. **Adottato totalmente da:** *Lifc Toscana Onlus*

• **FFC#12/2017**

Modulazione delle proteinchinasi per regolare le molecole chaperoniche che controllano il destino della proteina F508del-CFTR

Responsabile: Mauro Salvi (Dipartimento di Scienze Biomediche, Università degli Studi di Padova)

Costo: € 30.000. **Adottato totalmente da:** *Delegazione FFC di Fabriano Ancona con il Gruppo di Sostegno FFC di Umbertide Città di Castello Perugia*

• **FFC#13/2017**

Ruolo degli antibiotici nell'induzione di forme vitali ma non coltivabili (potenziali responsabili del fallimento della terapia) di *Pseudomonas aeruginosa* in modelli di biofilm in vitro

Responsabile: Francesca Biavasco (Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università Politecnica delle Marche)

Costo: € 27.000. **Adottato totalmente da:** *Lifc Toscana Onlus*

• **FFC#14/2017**

Studio preclinico di un nuovo approccio immunoterapeutico basato sulla combinazione Metformina e liposomi bioattivi per il controllo delle infezioni antibiotico-resistenti causate da *P. aeruginosa*

Responsabile: **Maurizio Fraziano** (Dipartimento di Biologia, Università di Roma Tor Vergata)

Costo: € 40.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Treviso Montebelluna**

• **FFC#15/2017**

Peptidi a pellenirana per il trattamento di infezioni polmonari da *Pseudomonas aeruginosa* e riepitelizzazione della mucosa bronchiale: caratterizzazione *in vitro* e *in vivo* e sviluppo di nanoparticelle polimeriche per la loro veicolazione a livello polmonare

Responsabile: **Maria Luisa Mangoni** (Dipartimento di Scienze Biochimiche, Università La Sapienza)

Costo: € 60.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Palermo** (€ 12.000), **Delegazione FFC di Vittoria, Ragusa e Siracusa** (€ 12.000), **Delegazione FFC di Catania Mascalucia** (€ 12.000), **Delegazione FFC di Messina** (€ 12.000), **Gruppo di Sostegno FFC di Tremestieri** (€ 12.000)

• **FFC#16/2017**

Analisi preclinica di tre peptidi antibiofilm di origine umana (GVF27, HVA36 e IMY47): efficacia contro patogeni polmonari e studi *in vivo* su modelli animali

Responsabile: **Eliodoro Pizzo** (Dipartimento di Biologia, Università di Napoli Federico II)

Costo: € 26.000. Adottato totalmente da: **Gruppo di Sostegno FFC di San Giovanni Rotondo** (€ 10.000), **Guadagnin srl** (€ 8.000), **Delegazione FFC di Reggio Calabria** (€ 8.000)

• **FFC#17/2017**

Identificazione di nuovi inibitori delle pompe di efflusso in grado di contrastare le infezioni di micobatteri non tubercolari in pazienti con fibrosi cistica

Responsabile: **Stefano Sabatini** (Dipartimento Scienze Farmaceutiche, Università degli Studi di Perugia)

Costo: € 20.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Sondrio Valchiavenna**

• **FFC#18/2017**

Utilizzo del gallio come antibatterico nel trattamento delle infezioni polmonari da *Pseudomonas aeruginosa*

Responsabile: **Paolo Visca** (Dipartimento di Scienze, Lab. Microbiologia Clinica e Virologia, Università Roma Tre)

Costo: € 21.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Torino**

• **FFC#19/2017**

Un'analisi metagenomica longitudinale per scoprire le firme microbiche della malattia polmonare FC: verso la comprensione della complessità delle interazioni ospite-microbiota negli esseri umani e in modelli animali

Responsabile: **Annamaria Bevivino** (ENEA, Divisione Biotecnologie e Agroindustria, Lab. Sostenibilità, Qualità e Sicurezza delle Produzioni Agroalimentari, Centro Ricerche Casaccia, Roma)

Costo: € 60.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Lago di Garda**

• **FFC#20/2017**

Messa a punto di un modello animale per lo studio della patogenesi dell'infezione da membri del *Mycobacterium abscessus* complex in pazienti con fibrosi cistica

Responsabile: **Enrico Tortoli** (Unità Batteri Patogeni Emergenti, Divisione di Immunologia, Trapianti e Malattie Infettive, Istituto San Raffaele, Milano)

Costo: € 55.000. Adottato totalmente da: **Gruppo di Sostegno FFC di Ascoli Piceno** (€ 20.000), **Delegazione FFC di Olbia** (€ 20.000), **Delegazione FFC di Vercelli** (€ 15.000)

• **FFC#21/2017**

Studio degli effetti antinfiammatori degli inibitori di metalloproteasi Iloprost e Marimastat in topi CFTR-knockout con infezione da *P. aeruginosa* tramite tecniche di *in vivo* imaging

Responsabile: **Federico Boschi** (Dipartimento di Informatica, Università degli Studi di Verona)

Costo: € 45.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Boschi Sant'Anna Minerbe "Alla fine esce sempre il sole"** (€ 30.000), **Delegazione FFC di Massafra** (€ 15.000)

• **FFC#22/2017**

Uso del pesce Zebrafish come nuovo modello di FC per confermare *in vivo* la terapia fagica contro le infezioni da *Pseudomonas aeruginosa*

Responsabile: **Anna Silvia Pistocchi** (Dipartimento di Biotecnologie Mediche e Medicina Traslazionale, Università degli Studi di Milano)

Costo: € 15.000. Adottato totalmente da: **Associazione "Gli amici della Ritty" Casnigo**

• **FFC#23/2017**

Somministrazione polmonare di siRNA nel trattamento dell'infiammazione polmonare in fibrosi cistica: potenziale terapeutico di nanoparticelle ibride a base di lipidi e polimeri

Responsabile: **Francesca Ungaro** (Dipartimento di Farmacia, Università degli Studi di Napoli Federico II)

Costo: € 56.000. Adottato totalmente da: **Elena e Federico Fratini** (€ 8.520), **Delegazione FFC di Pesaro** (€ 23.480), **Gruppo di Sostegno FFC di Melilli Siracusa** (€ 8.000), **Delegazione FFC di Manciano Grosseto insieme alla Famiglia Catalano** (€ 8.000), **Emanuela Cricri e amici della ricerca** (€ 8.000)

• **FFC#24/2017**

Fotoferesi extracorporea come terapia d'induzione per prevenire il rigetto acuto in pazienti affetti da fibrosi cistica e trapiantati di polmone

Responsabile: **Mario Nosotti** (Università degli Studi di Milano, IRCCS Fondazione Ca' Granda Ospedale Maggiore di Milano, U. O. di Chirurgia Toracica e Trapianto di Polmone)

Costo: € 110.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Como Dongo** (€ 65.000), **Delegazione FFC di Belluno con Rocciatori Fonzaso** (€ 35.000), **Delegazione FFC di Pesaro con il Gruppo di Sostegno FFC di Fidenza** (€ 10.000)

• **FFC#1/2018**

Nuovi bersagli per il trattamento della FC dall'analisi approfondita del proteoma F508del-CFTR

Responsabile: **Andrea Armirotti** (Analytical Chemistry Facility, Fondazione Istituto Italiano di Tecnologia, Genova)

Costo: € 44.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Genova e Gruppo di Sostegno FFC di Savona Spotorno**

• **FFC#2/2018**

Stabilizzazione della F508del-CFTR sulla membrana mediante ganglioside GM1

Responsabile: **Massimo Aureli** (Dip. Biotecnologie mediche e Medicina traslazionale, Università di Milano)

Costo: € 78.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC di Cuneo Alba**

• **FFC#3/2018**

Analisi del meccanismo d'azione dei correttori della proteina CFTR

Responsabile: **Debora Baroni** (Istituto di Biofisica, CNR, Genova)

Costo: € 50.000. Adottato totalmente da: **Delegazione FFC Valle Scrivia Alessandria** (€ 8.000), **Gruppo di Sostegno FFC di Genova "Mamme per la Ricerca"** (€ 42.000)

• **FFC#4/2018**

Verso l'identificazione di nuovi correttori basati su sistemi eterociclici azotati

Responsabile: **Paola Barraja** (Università degli Studi di Palermo, Dip. di Scienze e Tecnologie Biologiche, Chimiche e Farmaceutiche - STEBICEF, Lab. Sintesi degli Eterocicli)

Costo: € 82.000. Adottato totalmente da: **Associazione Trentina Fibrosi Cistica in ricordo di Fabiola Menguzzo** (€ 20.000), **Delegazione FFC di Vercelli** (€ 30.000), **Gruppo di Sostegno FFC di Acqui Terme** (€ 16.000), **Gruppo di Sostegno FFC di Nichelino** (€ 16.000).

• **FFC#5/2018**

Correzione di mutazioni stop del gene CFTR mediante modifica (editing) dell'RNA messaggero

Responsabile: **Aldo Di Leonardo** (Università degli Studi di Palermo, Dip. di Scienze e Tecnologie Biologiche, Chimiche e Farmaceutiche - STEBICEF)

Costo: € 21.000. *Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Palermo*

• **FFC#6/2018**

Organoidi intestinali per la valutazione e la correzione farmacologica di anomalie nel trasporto di fluidi e correnti anioniche in pazienti affetti da pancreatite

Responsabile: **Luca Frulloni** (Università degli Studi di Verona, Dip. Medicina, Unità di Gastroenterologia)

Costo: € 81.000. *Adottato parzialmente da: Delegazione FFC di Taranto Massafra* (€ 15.000), *Delegazione FFC Cosenza Sud* (€ 8.000)

Adottabile per € 58.000.

• **FFC#7/2018**

Caratterizzazione della rete dei fattori di trascrizione microRNA in fibrosi cistica: dalla "terapia microRNA" alla medicina di precisione (CF-miRNA-THER)

Responsabile: **Roberto Gambari** (Università degli Studi di Ferrara, Dip. di Scienze della Vita e Biotecnologia, Sez. Biochimica e Biologia molecolare)

Costo: € 76.000. *Adottato parzialmente da: Delegazione FFC di Vigevano* (€ 39.000), *Delegazione FFC di Verbania e V.C.O.* (€ 20.000). Adottabile per € 17.000.

• **FFC#8/2018**

Caratterizzazione dettagliata dei meccanismi molecolari di regolazione del CFTR da parte di PI3K γ

Responsabile: **Emilio Hirsch** (Università degli Studi di Torino, Dip. Biotecnologia molecolare e Scienze per la Salute, Centro di Biotecnologia Molecolare)

Costo: € 98.000. *Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Verona* (€ 30.000), *Delegazione FFC di Sondrio Valchiavenna* (€ 20.000), *Delegazione FFC di Lecco Valsassina* (€ 48.000)

• **FFC#9/2018**

Studio del potenziale terapeutico di una DNasi polmonare ad azione prolungata per il trattamento della fibrosi cistica

Responsabile: **Gianfranco Pasut** (Università degli Studi di Padova, Dip. Scienze Farmaceutiche e Farmacologiche)

Costo: € 40.000. *Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Imola e Romagna*

• **FFC#10/2018**

Capire il meccanismo d'azione dell'inibitore della TG2, cisteamina, sulla fibrosi cistica

Responsabile: **Mauro Piacentini** (Università Roma Tor Vergata, Dip. Biologia)

Costo: € 40.000

Adottato totalmente da Delegazione FFC di Napoli San Giuseppe Vesuviano (€ 20.000), *Associazione "Gli amici della Ritty" Casnigo* (€ 20.000)

• **FFC#11/2018**

Riposizionamento del farmaco, studi computazionali, risonanza plasmonica di superficie e saggi biologici con culture cellulari: un approccio multidisciplinare per l'identificazione di nuovi farmaci ad azione correttiva su CFTR

Responsabile: **Marco Rusnati** (Università degli Studi di Brescia, Dip. Medicina Molecolare e Traslazionale, Sez. Oncologia e Immunologia)

Costo: € 39.000. *Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Torino*

• **FFC#12/2018**

Generazione di culture di cellule staminali delle vie aeree condizionalmente riprogrammate dall'epitelio nasale di pazienti con fibrosi cistica: valutazione della risposta a farmaci modulatori del CFTR e correlazione con il profilo genetico (theratyping) e ripristino della funzione del CFTR mediante approcci di modificazione genica

Responsabile: **Adriana Eramo** (Dip. Oncologia e Medicina Molecolare, Istituto Superiore di Sanità)

Costo: € 71.000. *Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Cecina e Rosignano* (€ 40.000), *Delegazione FFC di Alberobello* (€ 31.000)

• **FFC#13/2018**

Analisi di organoidi intestinali per la predizione della risposta a potenziatori e correttori di CFTR utilizzati in clinica

Responsabile: **Claudio Sorio** (Università degli Studi di Verona, Dip. di Medicina)

Costo: € 36.000. *Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Tradate Gallarate*

• **FFC#14/2018**

Studio ex vivo della risposta mediata dagli interferoni tipo I e III ed interazioni virus-batteri nei pazienti con fibrosi cistica: un nuovo approccio per lo sviluppo di strategie terapeutiche alternative

Responsabile: **Guido Antonelli** (Dip. Medicina Molecolare, Lab. Virologia, La Sapienza Roma; Unità di Microbiologia e Virologia, Policlinico Umberto I)

Costo: € 70.000. *Adottato totalmente da: Delegazione FFC del Lago di Garda*

• **FFC#15/2018**

Effetti non CFTR-dipendenti dei modulatori di CFTR in modelli preclinici di infezione polmonare

Responsabile: **Cristina Cigana** (Unità Infezioni e Fibrosi Cistica, divisione di Immunologia, Trapianti e Malattie Infettive, Istituto San Raffaele Milano)

Costo: € 98.000. Adottabile.

• **FFC#16/2018**

Studio preclinico in vivo di un approccio immunoterapico basato su liposomi bioattivi per il controllo dell'infezione causata da *Mycobacterium abscessus*

Responsabile: **Daniela Maria Cirillo** (Unità patogeni batterici emergenti, Div. di immunologia, trapianti e malattie infettive, Istituto San Raffaele Milano)

Costo: € 80.000. *Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Vittoria Ragusa e Siracusa* (€ 40.000), *Delegazione FFC di Catania Mascalucia* (€ 40.000)

• **FFC#17/2018**

Vecchi farmaci con una nuova attività antivirulenza contro *Pseudomonas aeruginosa*

Responsabile: **Livia Leoni** (Università Roma Tre, Dip. Scienze, Lab. Microbiologie dei microrganismi)

Costo: € 31.000. *Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Sassari con Gruppo di Sostegno FFC di Siniscola Nuoro*

• **FFC#18/2018**

Efficacia in vitro e in vivo di un peptidomimetico antimicrobico e antibiofilm contro patogeni polmonari rilevanti nella fibrosi cistica

Responsabile: **Eugenio Notomista** (Università degli Studi di Napoli Federico II, Dip. di Biologia)

Costo: € 70.000. *Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Imola e Romagna*

• **FFC#19/2018**

Nuove armi contro *Mycobacterium abscessus* e altri micobatteri non tubercolari

Responsabile: **Maria Rosalia Pasca** (Università degli Studi di Pavia, Dip. di Biologia e Biotecnologia Lazzaro Spallanzani, Lab. Microbiologia molecolare)

Costo: € 58.000. *Adottato da: Delegazione FFC di Ascoli Piceno* (€ 20.000), *Delegazione FFC di Novara* (€ 12.000). Adottabile per € 26.000.

• **FFC#20/2018**

Nanoparticelle biocompatibili ed inalabili funzionalizzate con peptidi antimicrobici per contrastare la formazione di biofilm e l'antibiotico resistenza: verso una nuova potenziale terapia per le infezioni correlate alla FC

Responsabile: **Maurizio Sanguinetti** (Divisione Microbiologia clinica, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma)

Costo: € 50.000. Adottabile.

• **FFC#21/2018**

Studio su Timosina alfa 1 nella fibrosi cistica

Responsabile: **Marina Maria Bellet** (Università degli Studi di Perugia, Dip. Medicina Sperimentale)
Costo: € 40.000. *Adottato da: Latteria Montello* (€ 15.000).
Adottabile per € 25.000.

• **FFC#22/2018**

Efficacia in modelli preclinici di fibrosi cistica di una molecola già nota e riscoperta come inibitore di HMGB1

Responsabile: **Marco Emilio Bianchi** (Div. Genetica e Biologia Cellulare, Unità dinamica della cromatina, Ospedale San Raffaele, Milano)

Costo: € 65.000. *Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Pesaro*

• **FFC#23/2018**

Studio di trattamenti antinfiammatori per la patologia polmonare della fibrosi cistica, in modelli murini di infezione delle vie aeree

Responsabile: **Maria Cristina Dehecchi** (Dip. Patologia e Diagnostica, Lab. Patologia Molecolare, AOUI Verona)

Costo: € 50.000. *Adottato parzialmente da: Emanuela Cricri e amici della ricerca* (€ 10.000), *Delegazione FFC di Villa d'Almè – Bergamo* (€ 15.000)

Adottabile per € 25.000

• **FFC#24/2018**

Uso e sviluppo di derivati indolici, quali attivatori del recettore AhR, per via inalatoria nella fibrosi cistica

Responsabile: **Luigina Romani** (Università degli Studi di Perugia, Dip. Medicina Sperimentale)

Costo: € 60.000. *Adottato da: Gruppo di Sostegno FFC di Saviano* (€ 40.000), *Gruppo di sostegno di Martinsicuro – Teramo* (€ 12.000).

Adottabile per € 8.000

• **FFC#25/2018**

Veicolazione polmonare di siRNA nel trattamento dell'infiammazione polmonare in fibrosi cistica: potenziale terapeutico di nanoparticelle ibride a base di lipidi e polimeri

Responsabile: **Francesca Ungaro** (Università degli Studi di Napoli Federico II, Dip. Farmacia)

Costo: € 35.000. *Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Montebelluna*

• **FFC#26/2018**

Malattia polmonare da *Aspergillus* nei pazienti affetti da fibrosi cistica: studio multicentrico osservazionale prospettico

basato sull'utilizzo di nuovi test diagnostici per valutare il ruolo prognostico sulla malattia polmonare dei pazienti con FC

Responsabile: **Alessandro Bartoloni** (Unità Infezione e Malattie Tropicali, Azienda Ospedaliero-Universitaria Careggi, Firenze)

Costo: € 75.000. *Adottato totalmente da: Delegazione FFC Valle Scivia Alessandria* (€ 8.000), *Delegazione FFC Como Dongo* (€ 25.000), *Delegazione FFC di Fermo* (€ 8.000), *Delegazione FFC di Catania Paternò* (€ 10.000), *Gruppo di Sostegno FFC di Casarile Milano* (€ 24.000)

• **FFC#27/2018**

La risonanza magnetica multivolume come tecnica di *imaging* non ionizzante nella sorveglianza dei pazienti con fibrosi cistica sottoposti a trapianto di polmone

Responsabile: **Alessandro Palleschi** (Fondazione IRCCS Ca' Granda – Ospedale Maggiore Policlinico, Milano)

Costo: € 40.000. *Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Como Dongo*

• **FFC#28/2018**

Identificazione di biomarcatori molecolari precoci del rigetto acuto e cronico nei pazienti con fibrosi cistica sottoposti a trapianto polmonare mediante l'uso delle tecnologie omiche

Responsabile: **Federico Rea** (Dip. Scienze Cardiologiche, Toraciche e Vascolari, Div. Chirurgia toracica, AOU Padova)

Costo: € 35.000. *Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Boschi Sant'Anna Minerbe*

• **FFC#29/2018**

Identificazione e validazione dell'analisi di microvescicole circolanti come un nuovo metodo *ex vivo* per monitorare la fibrosi cistica

Responsabile: **Mario Romano** (Dip. Scienze Mediche, Orali e Biotecnologiche, Lab. Medicina Molecolare, CeSIMeT Università Chieti-Pescara)

Costo: € 55.000

Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Franciacorta

• **FFC#30/2018**

***Cystic fibrosis screen positive inconclusive diagnosis* (CFSPID): studio osservazionale multicentrico per valutare prevalenza, dati clinici, gestione ed outcomes in 6 centri italiani di riferimento regionale**

Responsabile: **Vito Terlizzi** (Centro FC, AOUA. Meyer, Firenze)

Costo: € 42.000. *Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Siena* (€ 25.000), *Delegazione FFC di Monterotondo Roma* (€ 9.000), *Delegazione FFC di Olbia* (€ 8.000)

NOTES



Fondazione Ricerca Fibrosi Cistica - Onlus

italian cystic fibrosis research foundation

Presso Ospedale Maggiore B.go Trento
P.le A. Stefani, 1 - 37126 Verona

Presidenza e Segreteria

Tel. 045 8123438 - fax 045 8123568
e-mail: fondazione.ricercafc@aovr.veneto.it
Codice fiscale 93100600233

Consiglio di Amministrazione

Presidente: Matteo Marzotto
Presidente emerito: Vittoriano Faganelli
Vice Presidenti: Paolo Faganelli, Michele Romano
Consiglieri: Michele Bauli
Sandro Caffi
Francesco Cobello
Paolo Del Debbio
Francesco Ernani
Gianni Mastella
Michele Romano
Donatella Treu
Luciano Vettore
Patrizia Volpato

Direzione Scientifica

– Direttore Scientifico: Gianni Mastella
Tel. 045 8123567 / e-mail: gianni.mastella@aovr.veneto.it
– Vicedirettore Scientifico: Graziella Borgo
Tel. 045 8127027 / e-mail: graziella.borgo@fibrosicisticaricerca.it
– Assistente: Flaminia Malvezzi
Tel. 045 8127027 / flaminia.malvezzi@fibrosicisticaricerca.it

Comitato di Consulenza Scientifica

Presidente: Giorgio Berton
Consulenti: Paolo Bernardi
Paola Bruni
Roberto Buzzetti
Gian Maria Rossolini

Per donazioni:

- SWIFT-BIC code (per pagamenti dall'estero)
UNCRITM1N58
- Bonifico Unicredit Banca:
IT 47 A 02008 11718 000102065518
- Bonifico BPM:
IT 92 H 05034 11708 000000048829
- On-line sul sito: www.fibrosicisticaricerca.it
- 5 x mille dell'IRPEF: Cod. Fisc. 93100600233

Nella denuncia dei redditi per i privati, le donazioni a FFC sono deducibili fino al 10% del reddito complessivo e comunque non oltre 70.000 euro/anno (art. 14 legge n. 80/2005). Per le aziende la deducibilità è totale e senza limiti.

www.fibrosicisticaricerca.it

Redazione:

Gianni Mastella, Graziella Borgo,
Federica Lavarini, Tecla Zarantonello,
Flaminia Malvezzi

Grafica:

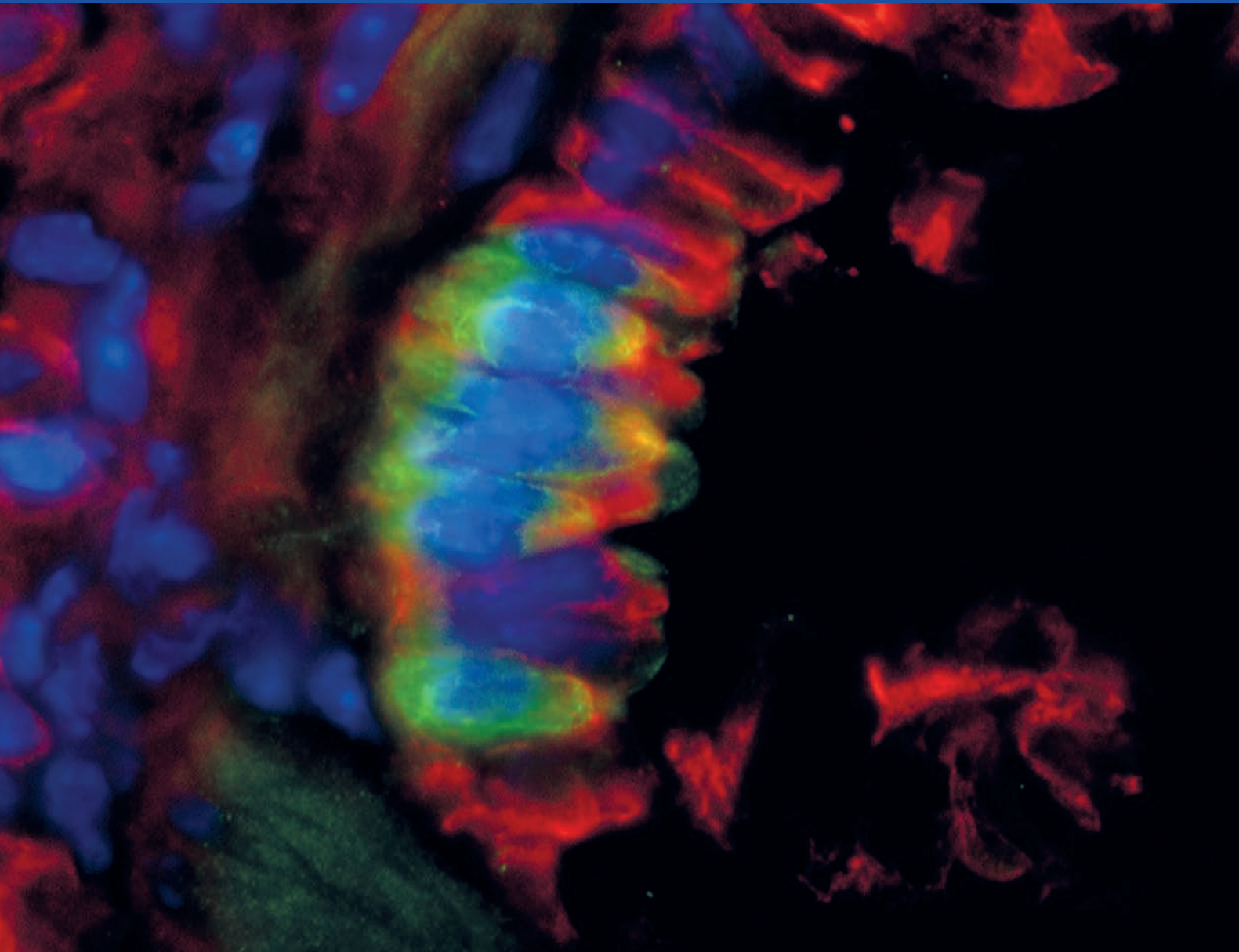
Ada Frapporti

Stampa:

Tipolitografia Artigiana snc
San Giovanni Lupatoto (VR)
Stampato il 14 novembre 2018



Certificazione IID 2008/10
Aderiamo agli standard
della Carta della Donazione



**Fondazione Ricerca
Fibrosi Cistica - Onlus**
italian cystic fibrosis research foundation

In collaborazione con



Azienda Ospedaliera
Universitaria Integrata
Verona



Con il patrocinio di

Camera di Commercio
Verona

