



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

AREA 5

Ricerca clinica ed epidemiologica



Progetto FFC #13/2022

Una strategia terapeutica combinata per il trattamento di infezioni da *Mycobacterium abscessus*



Chi ha condotto la ricerca:

Responsabile: **Maurizio Fraziano**
(Dipartimento di Biologia, Università di Roma "Tor Vergata")



Partner:

Daniela Maria Cirillo (Unità Patogeni Batterici Emergenti, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano)



Ricercatori coinvolti: 10



Qual è la durata dello studio: 2 anni

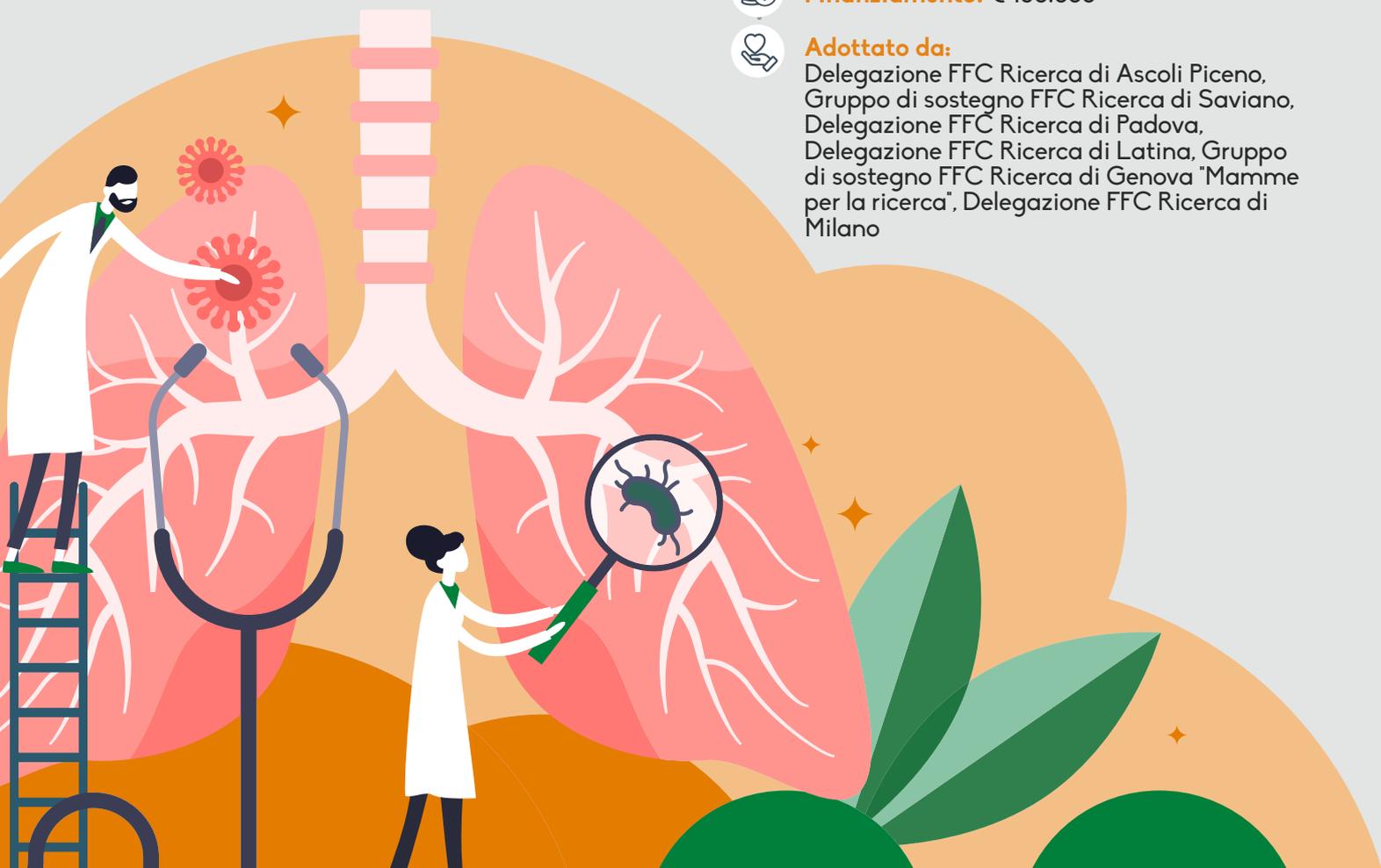


Finanziamento: € 130.000



Adottato da:

Delegazione FFC Ricerca di Ascoli Piceno, Gruppo di sostegno FFC Ricerca di Saviano, Delegazione FFC Ricerca di Padova, Delegazione FFC Ricerca di Latina, Gruppo di sostegno FFC Ricerca di Genova "Mamme per la ricerca", Delegazione FFC Ricerca di Milano





Perché è importante

Mycobacterium abscessus (Mab) è un batterio resistente a molti antibiotici; è spesso coinvolto nelle infezioni polmonari croniche delle persone con fibrosi cistica (FC) ed è una delle cause di mortalità in questa malattia. La complessa gestione terapeutica delle infezioni da Mab necessita lo sviluppo di nuove strategie. Un ruolo importante nel processo di eliminazione batterica è svolto da particolari cellule del sistema immunitario chiamate macrofagi. Si è visto che i macrofagi sono difettivi in FC.

I ricercatori si propongono di trovare una nuova formulazione terapeutica combinata che ripristini la risposta immunitaria della persona con FC infettata dal batterio ed elimini Mab tramite antibiotici.



Che cosa hanno usato i ricercatori

In precedenza sono stati sviluppati liposomi (piccole vescicole somministrabili per via aerosolica) contenenti lipidi bioattivi, che sono in grado di aumentare la funzionalità immunitaria contro le infezioni polmonari dovute a batteri multiresistenti. In questo studio sono stati usati liposomi composti da fosfatidilserina e/o fosfatidil inositolo 5-fosfato (ABL/PS o ABL/PI5P).

Inoltre, sono stati usati macrofagi isolati da donatori sani e da persone con FC; due varianti di Mab (dette ATCC19977 e CP285); modelli animali (topi) per gli esperimenti *in vivo*; antibiotico amikacina (AMK); Kaftrio per trattamento *in vitro*.



Che cosa hanno fatto i ricercatori

I macrofagi, derivati da donatori sani o da persone con FC trattate o no con Kaftrio, sono stati infettati con le due varianti di Mab. Le cellule sono state poi trattate con i due tipi di liposomi in combinazione o meno con Kaftrio o amikacina. Gli effetti dei singoli stimoli o delle loro combinazioni sono stati valutati quantificando la replicazione di Mab all'interno delle cellule, la maturazione di fagolisosomi (vescicole che inglobano ed eliminano il batterio) e lo sviluppo di infiammazione. Il trattamento combinato ABL/PS-AMK è stato valutato *in vivo* in termini di eliminazione del micobatterio e reclutamento dei macrofagi, coinvolti processo di infiammazione.



Che cosa hanno ottenuto

I ricercatori hanno osservato che i liposomi ABL/PI5P e ABL/PS inducono una diminuzione della vitalità di Mab in macrofagi provenienti sia da persone con FC trattate con Kaftrio che non trattate, senza interferire con l'effetto del farmaco *in vitro*. La combinazione dei liposomi con AMK si è dimostrata efficace sia *in vivo* che *in vitro* nel controllo dell'infezione.

I risultati mostrano che il trattamento con i liposomi ABL/PI5P e ABL/PS, in combinazione con antibiotici, può rappresentare una valida strategia terapeutica alternativa per il controllo dell'infezione da Mab, sia in persone con FC che ricevono il trattamento terapeutico con il Kaftrio ma, soprattutto, in tutte le persone con FC che non possono beneficiare di tale trattamento farmacologico.



Che cosa succederà ora

Considerato lo sviluppo avanzato dei liposomi usati, la cui efficacia è stata validata sia *in vitro* che *in vivo*, le prospettive future prevedono l'avvio di studi preclinici più approfonditi per raccogliere dati sulla sicurezza dei liposomi ABL/PS e ABL/PI5P in previsione di studi clinici di fase I.

Per saperne di più



Obiettivi

Testare una nuova formulazione terapeutica combinata per contrastare l'infezione da batteri resistenti e migliorare l'efficacia del Kaftrio attraverso l'uso di liposomi

In questo progetto i ricercatori sfruttano l'esperienza acquisita grazie ai precedenti finanziamenti (FFC#21/2019, FFC#14/2017, FFC#17/2013) sull'uso di liposomi per contrastare gli effetti dell'infezione da *Mycobacterium abscessus* (Mab) e migliorare l'efficacia del farmaco Kaftrio nel trattamento della fibrosi cistica (FC). Un ruolo importante nel processo di eliminazione batterica è svolto da particolari cellule del sistema immunitario chiamate macrofagi. Il progetto prevede il coinvolgimento di persone con FC in terapia col Kaftrio dalle quali verranno isolati i macrofagi infettati da Mab per identificare *in vitro* la migliore formulazione di liposomi/Kaftrio/antibiotico amikacina in grado di eliminare *M. abscessus*. La combinazione più efficiente verrà poi testata *in vivo* su modelli sperimentali di FC. Il gruppo di ricerca, attraverso esperimenti *in vitro*, *ex vivo* e *in vivo*, propone un approccio combinato diretto sia verso l'ospite (persona con FC) sia verso il batterio patogeno. Il progetto potrebbe fornire importanti informazioni circa un nuovo approccio terapeutico per una migliore risoluzione delle infezioni polmonari croniche nelle persone con FC in cura col Kaftrio, limitando al tempo stesso la risposta infiammatoria. I risultati potrebbero aprire la strada a una sperimentazione clinica della formulazione terapeutica combinata.



Risultati

La terapia combinata di liposomi e amikacina è in grado di contrastare l'infezione da *Mycobacterium abscessus* e ridurre l'infiammazione in modelli *in vitro* e *in vivo*

Mycobacterium abscessus (Mab) è un batterio resistente a molti antibiotici; è spesso coinvolto nelle infezioni polmonari croniche delle persone con fibrosi cistica (FC) ed è una delle cause di mortalità in questa malattia. La complessa gestione terapeutica delle infezioni da Mab necessita lo sviluppo di nuove strategie.

Inoltre, si è visto che i macrofagi, cellule del sistema immunitario deputate a eliminare i batteri, sono difettivi in FC.

I ricercatori si propongono di trovare una nuova formulazione terapeutica combinata che ripristini la risposta immunitaria della persona con FC infettata dal batterio ed elimini Mab tramite antibiotici.

In precedenza sono stati sviluppati liposomi (piccole vescicole somministrabili per via aerosolica) contenenti lipidi bioattivi, che sono in grado di aumentare la funzionalità immunitaria contro le infezioni polmonari dovute a batteri multiresistenti. In questo studio sono stati usati liposomi composti da fosfatidilserina e/o fosfatidil inositolo 5-fosfato (ABL/PS o ABL/PI5P).

I macrofagi, derivati da donatori sani o da persone con FC trattate o no con Kaftrio, sono stati infettati con due varianti di Mab (dette ATCC19977 e CP285). Le cellule sono state poi trattate *in vitro* con i liposomi in combinazione o meno con Kaftrio o con l'antibiotico amikacina (AMK). Gli effetti dei singoli stimoli o delle loro combinazioni sono stati valutati quantificando la replicazione di Mab all'interno delle cellule, la maturazione di fagolisosomi (vescicole che inglobano ed eliminano il batterio) e lo sviluppo di infiammazione.

Il trattamento combinato ABL/PS-AMK è stato valutato *in vivo* in termini di eliminazione del micobatterio e reclutamento dei macrofagi, uno degli step del processo di infiammazione.

I ricercatori hanno osservato che i liposomi ABL/PI5P e ABL/PS inducono una diminuzione della vitalità di Mab in macrofagi provenienti sia da persone con FC trattate con Kaftrio che non trattate, senza interferire con l'effetto del farmaco *in vitro*. La combinazione dei liposomi con AMK si è dimostrata efficace sia *in vivo* che *in vitro* nel controllo dell'infezione.

I risultati mostrano che il trattamento con i liposomi ABL/PI5P e ABL/PS, in combinazione con antibiotici, può rappresentare una valida strategia terapeutica alternativa per il controllo dell'infezione da Mab, sia in persone con FC che ricevono il trattamento terapeutico con il Kaftrio ma, soprattutto, in tutte le persone con FC che non possono beneficiare di tale trattamento farmacologico.

Considerato lo sviluppo avanzato dei liposomi usati, la cui efficacia è stata validata sia *in vitro* che *in vivo*, le prospettive future prevedono l'avvio di studi preclinici più approfonditi per raccogliere dati sulla sicurezza dei liposomi ABL/PS e ABL/PI5P in previsione di studi clinici di fase I.

Pubblicazioni



Phosphatidylserine liposomes induce a phagosome acidification-dependent and ROS-mediated intracellular killing of *Mycobacterium abscessus* in human macrophages

Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2024

 | Frontiers in Cellular and Infection Microbiology

TYPE Brief Research Report
PUBLISHED 19 August 2024
DOI 10.3389/fcimb.2024.1443719

 Check for updates

OPEN ACCESS

EDITED BY
Shaojuan Liu,
South China Agricultural University, China

REVIEWED BY
Rania Bouzeyen,
University of California, San Francisco,
United States
Ana-Maria Dragoi,
Ochsner LSU Health, United States

*CORRESPONDENCE
Maurizio Fraziano
[✉ fraziano@bio.uniroma2.it](mailto:fraziano@bio.uniroma2.it)

RECEIVED 04 June 2024
ACCEPTED 31 July 2024
PUBLISHED 19 August 2024

CITATION
Olimpieri T, Poerio N, Poncecchi G,
Di Lallo G, D'Andrea MM and Fraziano M
(2024) Phosphatidylserine liposomes
induce a phagosome acidification-
dependent and ROS-mediated intracellular
killing of *Mycobacterium abscessus*
in human macrophages.
Front. Cell. Infect. Microbiol. 14:1443719.
doi: 10.3389/fcimb.2024.1443719

COPYRIGHT
© 2024 Olimpieri, Poerio, Poncecchi, Di Lallo,
D'Andrea and Fraziano. This is an open-access
article distributed under the terms of the
[Creative Commons Attribution License \(CC BY\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).
The use, distribution or reproduction in other
forums is permitted, provided the original
author(s) and the copyright owner(s) are
credited and that the original publication in
this journal is cited, in accordance with
accepted academic practice. No use,
distribution or reproduction is permitted
which does not comply with these terms.

Phosphatidylserine liposomes induce a phagosome acidification-dependent and ROS-mediated intracellular killing of *Mycobacterium abscessus* in human macrophages

Tommaso Olimpieri¹, Noemi Poerio¹, Greta Poncecchi^{1,2},
Gustavo Di Lallo¹, Marco Maria D'Andrea¹
and Maurizio Fraziano^{1*}

¹Department of Biology, Tor Vergata University of Rome, Rome, Italy, ²PhD Program in Evolutionary Biology and Ecology, Department of Biology, Tor Vergata University of Rome, Rome, Italy

Mycobacterium abscessus (Mab) is an opportunistic nontuberculous mycobacterium responsible of difficult-to-treat pulmonary infections in vulnerable patients, such as those suffering from Cystic Fibrosis (CF), where it represents a major cause of morbidity and mortality. Additionally, due to the intrinsic extensive antimicrobial resistance spectrum displayed by this species and the side effects reported for some available antibiotics, the therapeutic management of such infections remains extremely difficult. In the present study, we show that phosphatidylserine liposomes (PS-L) enhance intracellular mycobacterial killing of Mab infected human macrophages with functional or pharmacologically inhibited cystic fibrosis conductance regulator (CFTR), by a mechanism involving phagosome acidification and reactive oxygen species (ROS) production. Additionally, PS-L significantly reduce proinflammatory response of Mab infected macrophages in terms of NF- κ B activation and TNF- α production, irrespective of CFTR inhibition. Altogether, these results represent the proof of concept for a possible future development of PS-L as a therapeutic strategy against difficult-to-treat Mab infection.

Rendiconto economico



AREA 5

Ricerca clinica ed epidemiologica

Progetto FFC #13/2022

Una strategia terapeutica combinata per il trattamento di infezioni da *Mycobacterium abscessus*

	Responsabile: Maurizio Fraziano (Dipartimento di Biologia, Università di Roma "Tor Vergata")	
	Periodo:	01/09/22 - 31/08/24
	Grant assegnato:	€ 130.000,0
	Usato per:	
	-Materiale di consumo	€ 84.198,7
	-Spese viaggio/convegni	€ 3.800,2
	-Borse di studio	€ 31.429,0
	-Spedizioni	€ 483,7
	-Utilizzo Facilities FFC Ricerca	€ 5.690,8
	-Pubblicazioni	€ 2.395,5

		€ 127.997,9
	Saldo (usato per altri progetti):	€ 2.002,1