

## Assegnazione 5 per mille - Anno 2021 - Ministero della Salute - Fondazione Telethon ETS

Erogazione pari a Euro 932.022,46 del 27/09/2022

Fondazione Telethon ETS

Cf e P.Iva 04879781005

Sede legale Via Varese 16/b - 00185 Roma (RM)

[info@telethon.it](mailto:info@telethon.it)

Direttore Generale - Dott.ssa Francesca Pasinelli

Titolo Progetto	Descrizione Progetto	Personale	Materiali di consumo	Totale	Importo complessivo Progetto	PI	Inizio Progetto	Fine progetto
Utilizzo di nuove piattaforme di terapia genica e modelli pre-clinici umani per comprendere la biologia e migliorare il trattamento di malattie genetiche neurodegenerative e demielinizanti	Le leucodistrofie (leucodistrofia metacromatica, MLD; leucodistrofia a cellule globoidi, GLD) e le gangliosidosi GM2 sono malattie da accumulo lisosomiale (LSD) in cui la mancanza/ridotta attività di enzimi lisosomiali provoca accumulo di macromolecole non degradate con conseguente alterazione della funzionalità cellulare. Molte LSD presentano un grave coinvolgimento del sistema nervoso centrale e conseguente neurodegenerazione. I nostri studi mirano a comprendere i meccanismi di malattia e a sviluppare nuovi approcci di terapia genica per queste malattie che, pur condividendo alcuni tratti patologici, presentano caratteristiche uniche che potrebbero giustificare la necessità di approcci diversificati, o un esito diverso dello stesso trattamento. Il nostro obiettivo a lungo termine è di aumentare e rendere più efficaci le attuali strategie di terapia genica per trattare le LSD che attualmente non hanno opzioni terapeutiche. Per raggiungere questo obiettivo, stiamo agendo su due fronti principali: 1) modificare gli enzimi lisosomiali in modo da renderli più biodisponibili per i tessuti e cellule affetti; 2) modulare la neuroinfiammazione e promuovere il riparo del danno tissutale. Per avere una conoscenza più approfondita dei meccanismi alla base della patologia e della correzione terapeutica a seguito dei trattamenti ci avvantaggiamo di numerosi modelli sperimentali in vivo e in vitro, tra cui le cellule staminali neurali, cellule mieloidi, e cellule staminali pluripotenti indotte ottenute da pazienti (utilizzando modelli 2D e 3D), che rappresentano un sistema ideale per studiare i meccanismi patologici e per sperimentare l'efficacia e la sicurezza di terapie innovative.	129.437,93	92.949,50	222.387,43	660.000,00	Gritti A.	01/01/2022	31/12/2024
Sviluppo di una piattaforma di editing epigenetico per il trattamento della malattia di Huntington.	La Malattia di Huntington (MD) è una patologia fatale causata da mutazioni nel gene dell'Huntingtina (HTT). Negli individui sani, la sequenza del gene HTT contiene da 10 a 26 ripetizioni delle stesse tre lettere del DNA, ovvero CAG. Al contrario, nei pazienti Huntington, queste ripetizioni sono maggiori di 27. Questa espansione determina l'acquisizione di funzioni tossiche alla proteina HTT, portando infine alla perdita di neuroni, un tipo di cellula rilevante nel sistema nervoso. Negli ultimi due decenni sono stati sviluppati diversi approcci per trattare l'MD, sia imitando il messaggero che porta alla produzione della proteina HTT mutata, sia inattivando il gene stesso. Sebbene dati promettenti siano stati ottenuti in studi preclinici, queste strategie sono state poco efficaci nei pazienti o potrebbero non raggiungere i test clinici a causa dei potenziali rischi associati con questi trattamenti. In questo progetto, miriamo a sviluppare una nuova strategia per inattivare il gene HTT mutato, che prometta di essere più efficace e più sicura delle precedenti. In particolare, utilizzeremo l'editing dell'epigenoma per alterare il codice che regola l'attività del gene HTT mutato, in modo che questo gene non sia più espresso nelle cellule. Condurremo studi su modelli rilevanti di malattia di Huntington per dimostrare l'efficacia e la sicurezza di questa nuova strategia terapeutica.	84.200,24	40.866,92	125.067,16	570.000,00	Lombardo A.	01/01/2022	31/12/2024
Studio della patogenesi e sviluppo della terapia genica per il deficit di adenosina deaminasi 2	I deficit di adenosina deaminasi 2, o DADA2, è una malattia genetica rara causata da mutazioni autosomiche recessive nel gene ADA2. Uno studio di prevalenza ha stimato che 1 persona su 222.164 potrebbe averne DADA2. Ciò significa che ci sono oltre 30.000 persone con DADA2 in tutto il mondo. Le presentazioni cliniche includono la vasculopatia cutanea e cerebrale, l'ictus, l'infiammazione sistemica, e la mancanza di uno o più tipi cellulari del sangue (citopenia). L'esordio della malattia avviene generalmente nell'infanzia e una percentuale significativa (circa l'8%) dei pazienti con DADA2, se non diagnosticati e trattati, muore entro i 30 anni. Trattamenti specifici per DADA2 non sono attualmente disponibili e il beneficio clinico dei trattamenti esistenti è insoddisfacente. La terapia anti-TNF, utilizzata come trattamento di prima linea, riduce l'incidenza di ictus, ma non è curativa e non corregge la citopenia. Il trapianto di cellule staminali progenitrici ematopoietiche allogeniche (HSPC) è stato applicato con successo in alcuni pazienti. Purtroppo, questa terapia non è priva di rischi ed è disponibile solo per quei pazienti che hanno un donatore compatibile. Quindi, rimane un enorme bisogno di terapie per DADA2 che possano raggiungere risultati clinici significativi e sostenuti nel tempo. Ad oggi, i meccanismi responsabili di DADA2 non sono completamente conosciuti, poiché la malattia è stata scoperta solo recentemente. Gli obiettivi di questo progetto sono l'identificazione dei meccanismi cellulari e molecolari alla base della patologia di DADA2, e lo sviluppo di terapie innovative mediate da cellule staminali ematopoietiche geneticamente corrette ex vivo con un vettore lentivirale esprime ADA2.	117.363,15	26.687,81	144.050,96	540.000,00	Mortellaro A.	01/01/2022	31/12/2024
Analisi della funzionalità della nicchia midollare nell'osteopetrosi e implicazioni della terapia cellulo-mediate per la cura della osteopetrosi da difetto del gene TCIRG1	L'osteopetrosi maligna infantile causata da difetti nel gene TCIRG1 è una malattia severa caratterizzata da fibrosi ossea, epatosplenomegalia e progressiva fibrosi del midollo osseo con conseguente immunodeficienza e aumentata suscettibilità a sviluppare infezioni. La malattia porta a morte nel primo anno di vita se non trattata da trapianto ematopoietico che rimane il trattamento di scelta e il cui successo rimane limitato dato il numero ristretto di donatori compatibili, gli effetti severi della terapia di condizionamento che precede il trapianto e gli eventi avversi legati alla fase post-trapianto. Per curare questa malattia e superare tali difficoltà, abbiamo sviluppato una piattaforma innovativa di terapia genica sfruttando un nuovo protocollo di trasduzione ed espansione di cellule staminali ematopoietiche che circolano spontaneamente nel sangue periferico di questi pazienti. In questo progetto, ci proponiamo di studiare il profilo molecolare e cellulare delle cellule staminali ematopoietiche circolanti nel sangue dei pazienti e gli effetti della terapia genica sul loro profilo trascrizionale oltre a valutare l'impatto che la malattia ha sulla staminalità di queste cellule e sulla loro quiescenza. In parallelo, valuteremo la fattibilità e l'efficacia della mobilitazione in assenza di una nicchia del midollo e la efficacia di nuovi condizionamenti non genotossici sfruttando il modello murino della malattia. In parallelo, ci proponiamo di generare un nuovo modello murino osteopetrotico umanizzato da utilizzare come strumento per lo studio della biologia delle cellule staminali ematopoietiche circolanti corrette dalla terapia genica. In conclusione, ci aspettiamo che i risultati di questo studio permettano una maggior implementazione della piattaforma di terapia genica da offrire ai pazienti per la cura di questa severa malattia.	11.236,73	111.984,51	123.221,24	480.000,00	Villa A.	01/01/2022	31/12/2024
Espansione ex vivo di cellule ematopoietiche staminali e progenitrici geneticamente modificate	L'espansione delle cellule ematopoietiche staminali e progenitrici (CSE/CPE) è uno degli obiettivi di fondamentale importanza per ampliare l'applicazione della terapia genica ex vivo a nuovi gruppi di pazienti e nuove tecnologie. Utilizzando CSE CD34+ mobilizzate nel sangue periferico (mPB) di donatori sani e pazienti affetti da malattie genetiche, stiamo applicando dei protocolli di ingegneria genica all'avanguardia, in grado di correggere >90% delle cellule, seguito da una procedura di espansione delle CSE in coltura ex vivo. A tale scopo, stiamo adattando dei protocolli innovativi attualmente in sperimentazione clinica per il trapianto allogenico di CSE da cordone ombelicale ( <a href="https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31704264/">https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31704264/</a> ). Abbiamo dimostrato con i saggi più stringenti che, in questo modo, le CSE/CPE geneticamente corrette possono essere espanso fino a 3 volte ( <a href="https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28330619/">https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28330619/</a> ) garantendo un'alta diversità (policonalità) all'interno del prodotto, una caratteristica favorevole per quanto riguarda l'efficacia e la sicurezza di queste cellule se utilizzate per un trapianto. Tuttavia, per effettuare un'analisi multipla e dettagliata delle varie condizioni di coltura è stato necessario ideare delle procedure in vitro che fossero in grado di quantificare le CSE in coltura. Abbiamo quindi fatto un investimento in nuove tecnologie all'avanguardia, quale il sequenziamento di RNA a singola cellula (scRNAseq) che permette non solo una identificazione più fedele delle CSE in coltura, ma anche l'esplorazione di nuovi target molecolari da manipolare per incrementare l'entità della loro espansione in futuro (protocolli di next generation). Il protocollo attuale si è dimostrato molto promettente per lo sviluppo di una terapia genica per l'osteopetrosi infantile maligna ( <a href="https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31949009/">https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31949009/</a> ), una possibile prima applicazione clinica per i lavori svolti. La prossima frontiera sarà l'applicazione dei protocolli next generation nell'ambito della correzione genica tramite "genome editing".	77.382,23	104.789,10	182.171,33	600.000,00	Gentner B.	01/01/2022	31/12/2024
Comprensione e targeting dell'emopoiesi e delle interazioni HSC-nicchia nelle malattie associate allo stress eritropoietico.	L'analisi molecolare a livello di singola cellula ha permesso di delineare una nuova immagine del differenziamento ematopoietico, rivelando un modello a flusso cellulare dinamico, basato su diversi stati di transizione, piuttosto che un modello statico di differenziazione. Pertanto, l'organizzazione delle sottopopolazioni ematopoietiche è stata ridefinita nel midollo osseo normale (MO) ma rimane ancora poco esplorata nelle malattie che colpiscono la progenie delle cellule staminali ematopoietiche (CSE). Come paradigma di una condizione di stress naturale, ci concentreremo sulla β-talassemia (Bthal) dove abbiamo già dimostrato un difetto delle CSE causato da una nicchia midollare difettosa. La terapia genica (TG) di Bthal basata sul trapianto di CSE trasdotte con il vettore lentivirale (VL) GLOBE ha portato all'indipendenza dalla trasfusione nei pazienti più giovani con una correlazione positiva tra la proporzione di CSE corrette e rippopolanti in vivo e il grado di correzione dell'anemia. Tuttavia, la correzione dell'eritropoiesi inefficace, che è associata a complicanze cliniche, non è stata completamente raggiunta. La variabilità in termini di trasduzione delle CSE e ricostituzione in vivo risulta limitante per il risultato clinico e lo stato del microambiente midollare sia influenza la qualità delle CSE raccolte dai pazienti, che supporta la sua capacità di attecchimento e ricostituzione una volta trapiantate. Pertanto, la comprensione della gerarchia ematopoietica e delle interazioni reciproche tra la componente cellulare della nicchia e le CSE nelle malattie non maligne, offre nuove strade per migliorare la TG e sviluppare approcci di trapianto combinati. In questo progetto mireremo a: 1) identificare i fattori molecolari e cellulari che regolano l'emopoiesi nelle malattie eritropoietiche, fornendo preziosi indizi per progettare approcci terapeutici che combinino la correzione genetica con il ripristino della maturazione eritroide, consentendo una completa correzione delle stigmate patologiche della malattia; 2) definire gli elementi chiave (cellulari e molecolari) dell'alterata regolazione della nicchia delle CSE in Bthal e in altre anemie, per lo sviluppo di strategie per il ripristino della normale omeostasi del MO; 3) migliorare l'esito della TG sfruttando strategie combinate basate su nuove conoscenze della biologia della nicchia midollare delle CSE.	85.592,50	49.531,84	135.124,34	660.000,00	Ferrari G.	01/01/2022	31/12/2024
<b>Totale</b>					<b>932.022,46</b>			