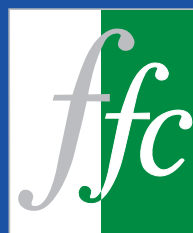


XVII CONVENTION D'AUTUNNO DEI RICERCATORI IN FIBROSI CISTICA

17th Convention of Investigators in Cystic Fibrosis

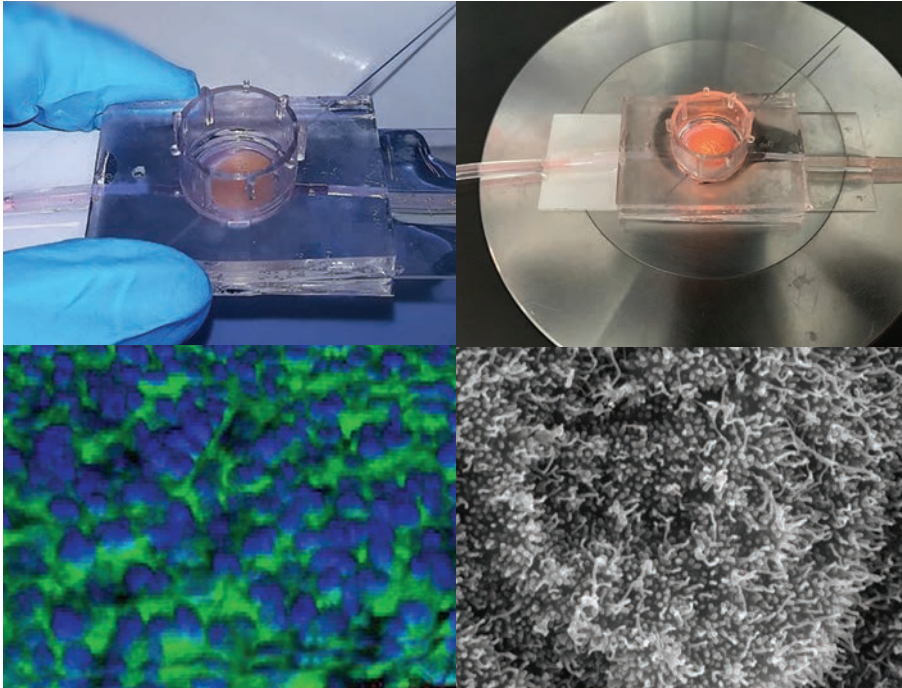
14-16 November 2019

Verona, Camera di Commercio, Congress Center



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

In copertina / On the cover



Un modello di fibrosi cistica in chip microfluidico

In alto

A sinistra. Un circuito microfluidico (chip) sviluppato per la coltura di modelli di tessuti sani e tessuti affetti da fibrosi cistica. È un dispositivo di dimensioni minime, costituito da una complessa rete di microcanali che interagiscono con il tessuto coltivato al suo interno. Nel caso della fibrosi cistica il tessuto riproduce le tre componenti di un bronco affetto da FC: cellule epiteliali (che rivestono la sua superficie interna), cellule mucipare (che producono muco) e tessuto connettivale. Il tessuto può essere esposto all'azione di stimoli di varia natura, a batteri patogeni o a farmaci (infusi attraverso i canali o somministrati per aerosol). Le modificazioni elettrofisiologiche indotte possono essere misurate attraverso speciali sensori ed elettrodi.

A destra. Lo stesso chip posto su tavolino di un microscopio ottico invertito.

In basso

A sinistra. Immagine a fluorescenza ottenuta con un microscopio confocale ad alta risoluzione, che mostra il tappeto di cellule epiteliali bronchiali (in verde il citoscheletro della cellula, in blu il nucleo) che riveste la superficie del tessuto nel chip.

A destra. Immagine ottenuta con microscopio a scansione elettronica, mostra un particolare del tessuto bronchiale contenuto nel chip: una cellula epiteliale bronchiale dotata di cilia vibratili per la rimozione di muco e altro materiale.

A Cystic Fibrosis model on a microfluidic chip

Above

Left. A microfluidic chip developed to cultivate cystic fibrosis airway tissue models. The device makes possible the tissue culture in controlled fluid-dynamic and appropriately modulated conditions, so that bronchial epithelial cells from CF patients are induced to differentiate in a thickness stratified mucociliated epithelium on a connective layer. The model can be exposed to various inflammatory or infective agents and is implemented with an aerosol system for drug delivery and analysis of the airways surface liquid (ASL). Induced electrophysiological changes can be measured by special sensors and electrodes.

Right. The same chip placed on a small table of inverted optical microscope.

Below

Left. Fluorescence image obtained with a high resolution confocal microscope, showing the layer of bronchial epithelial cells (in green the cytoskeleton of the cell, in blue the nucleus) that covers the tissue surface inside of the chip.

Right. Image obtained with an electronic scanning microscope, shows a detail of the bronchial tissue inside of the chip: a bronchial epithelial cell equipped with vibratile cilia for removing mucus or other materials.

17th CONVENTION OF FFC INVESTIGATORS IN CYSTIC FIBROSIS

XVII Convention d'Autunno dei Ricercatori in Fibrosi Cistica

Centro Congressi Camera di Commercio di Verona
Verona, 14-16 Novembre 2019

Progress of research projects funded by FFC (2017-2019)

**Presentazione dello stato di avanzamento dei progetti
finanziati dalla Fondazione Ricerca Fibrosi Cistica
(2017-2019)**



In collaborazione con



Azienda Ospedaliera
Universitaria Integrata
Verona



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

Con il patrocinio di



CAMERA DI COMMERCIO
INDUSTRIA ARTIGIANATO
AGRICOLTURA VERONA

Program at a glance

■ Thursday, November 14th

- 09:00 - 10:30 *Registration and poster display*
- 10:30 - 10:50 *Introduction and greetings from FFC Foundation and Authorities*
- 10:50 - 12:50 **Plenary Session 1**
- DISEASE MODELS & PREDICTIVE TESTINGn
- 12:50 - 14:00 *Lunch bag and Poster view*
- 14:00 - 16:00 **Plenary Session 2**
- CLINICAL ISSUES
- ALTERNATIVE ANTIMICROBIAL STRATEGIES
- 16:00 - 16:30 *Coffee break & Poster view*
- 16:30 - 18:30 **Plenary Session 3**
- LUNG TRANSPLANTATION
- CLINICAL MONITORING & CARE
- 18:30 - 19:30 *Small group meetings*

■ Friday, November 15th

- 08:30 - 11:00 **Plenary Session 4**
- POSSIBLE TARGETS AND MECHANISMS OF CFTR MODULATORS
- 11:00 - 11:30 *Coffee break and Poster view*
- 11:30 - 13:30 **Plenary Session 5**
- SEARCH FOR CFTR MODULATORS AND ITS IMPLICATIONS FOR CARE
- 13:30 - 14:30 *Lunch bag and Poster view*
- 14:30 - 16:15 **Plenary Session 6**
- POSSIBLE NEW MODULATORS OF MUTANT CFTR
- 16:15 - 16:45 *Coffee break and Poster view*
- 16:45 - 18:10 **Plenary Session 7**
- GENE AND RNA EDITING
- 18:10 - 19:00 *Small group meetings*
- 20:00 - 23:00 *Welcome dinner*

■ Saturday, November 16th

- 09:00 - 10:40 **Plenary Session 8**
- NON TUBERCOLOUS MYCOBACTERIA
- ADVANCES IN CF MICROBIOLOGY
- 10:40 - 11:10 *Coffee break and Poster view*
- 11:10 - 13:25 **Plenary Session 9**
- CF INFLAMMATION: THERAPEUTICAL APPROACHES?
- 13:25 - 13:30 *Closing remarks*
- 13:30 - 14:00 *Poster detachments*

Program /Index

Thursday, November 14th

09:00 - 10:30 Registration and poster display

10:30 - 10:50 Introduction and greetings from the FFC Foundation

10:50 - 12:50

Plenary Session 1

DISEASE MODELS & PREDICTIVE TESTING

Chairmen: **Lucarelli M., Cresta F.**

1. **Netti P., Di Bernardo D.** 9
A novel Full Thickness Cystic Fibrosis model on a microfluidic chip to study pathogenic mechanisms and evaluate therapeutic strategies (FFC#8/2017. Concluded – FFC#14/2019. Extension) (20')
2. **Eramo A., Lucarelli M.** 10
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 (therotyping) and restoring CFTR function through gene editing approaches (FFC#12/2018. Ongoing) (8')
- Discussion (10')
3. **Sorio C.** 11
Testing intestinal organoids for the prediction of response to CFTR potentiators and correctors used in clinic (FFC#13/2018. Ongoing) (8')
4. **Frulloni L., Lucidi V., de Jonge H.** 12
Intestinal organoids for assessment and pharmacological correction of abnormalities in fluid transport and anion currents in patients affected by pancreatitis (FFC#6/2018. Ongoing) (8')
- Discussion (8')
5. **Averna M., Marengo E.** 13
Proteomic approach for the identification of new leukocytes biomarkers directly related to a restored CFTR activity following ex vivo treatment with VX-770 (FFC#12/2019. New, pilot) (8')
6. **Laudanna C.** 14
Monocyte integrin activation as a cystic fibrosis drug evaluation test (FFC#13/2019. New)(8')
- Discussion (8')
7. **Lorè NI.** 15
Phenotyping new genetically-diverse mouse models mirroring the complexity of the Cystic Fibrosis pathology (FFC#4/2017. Concluded) (15')
8. **Bragonzi A.** 15
Bridging airway mucus-microbiota-host genotype to define novel cystic fibrosis animal models (FFC#2/2019. New) (8')
- Discussion (11')

12:50 - 14:00 Lunch bag & Poster view/discussion

14:00 - 16:00

Plenary Session 2

CLINICAL ISSUES

Chairmen: **Mangoni ML., Cimino G.**

9. **Terlizzi V., Padoan R., Tosco A., Claut LE.** 16
Cystic Fibrosis screen positive inconclusive diagnosis (CFSPID): an italian multicenter survey evaluating prevalence, clinical data, management and outcome(FFC#30/2018. Ongoing) (8')
10. **Battezzati A., Colombo C., Lucidi V., Lucanto MC., Mari A.** 17
Early Derangements of Glucose Tolerance in Cystic Fibrosis: effect of CFTR Modulators (FFC#24/2019. New)(8')
11. **Pasut G, Percudani R.** 18
Therapeutic potential of a long-acting lung-specific DNase (DNase2b) for the treatment of CF(FFC#9/2018. Ongoing) (8')
- Discussion (10')

ALTERNATIVE ANTIMICROBIAL STRATEGIES

12. **Antonelli G.** 19
Ex vivo study on Type I and III interferon response and virus–bacteria interactions in cystic fibrosis patients: a new approach to try to develop alternative therapeutic strategy (FFC#14/2018. Ongoing) (8')
13. **Leoni L.** 20
Drug repurposing for antivirulence therapy against Pseudomonas aeruginosa (FFC#17/2018. Concluded) (15')
- Discussion (12')
14. **Bevivino A., Mengoni A., Segata N.** 21
A longitudinal metagenomic analysis to uncover microbial signatures of CF lung disease: unravelling host-microbial community interactions in humans and animal models (FFC#19/2017. Concluded) (15')
15. **Visca P.** 21
Gallium as an antibacterial agent in cystic fibrosis: animal studies for the delivery of inhalable formulations to the clinic (FFC#19/2019. New) (8')
16. **Ascenzioni F.** 22
Pharmacological inhibition of colistin resistance in gram-negative cystic fibrosis pathogens (FFC#15/2019. New) (8')

Discussion (13')

16:00 - 16:30 Coffee break & Poster view/discussion

16:30 - 18:30

Plenary Session 3

LUNG TRANSPLANTATION

Chairmen: Romano M., Messori B.

17. **Nosotti M.** 23
Extracorporeal photopheresis as induction therapy to prevent acute rejection after lung transplantation in cystic fibrosis patients (FFC#24/2017. Concluded) (15')
18. **Rea F., Schena P.** 24
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. Concluded) (15')
19. **Scaravilli V.** 25
Right ventricle dysfunction in cystic fibrosis patients undergoing lung transplantation (FFC#27/2019. New) (8')
20. **Palleschi A., Aliverti A.** 25
Use of multivolume MRI instead of ionizing imaging techniques for surveillance in young patients after lung transplantation for cystic fibrosis (FFC#27/2018. Ongoing) (8)

Discussion (13')

CLINICAL MONITORING AND CARE

21. **Bartoloni A., Viscoli C., Cariani L., Fiscarelli EV.** 26
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. Ongoing) (8')
22. **Romano M., Lanuti P.** 27
Identification and validation of circulating microvesicles analysis as a new ex vivo assay to monitor cystic fibrosis disease (FFC#29/2018. Ongoing) (8')
23. **Morana G.** 28
Standardized Ventilation Inflammation Perfusion and Structure (VIPS) MRI platform for monitoring Cystic Fibrosis Lung Disease (FFC#26/2019. New) (8')
24. **Lleò M.** 29
Investigating Achromobacter xylosoxidans pathogenicity and clinical role in CF lung infection (FFC#18/2019. New) (8')
25. **Casciaro R., Graffigna G.** 30
Patient Engagement in Cystic Fibrosis: a cross-sectional multi-stakeholder study(FFC#25/2019. New) (8')

Discussion (10')

18:30 - 19:30 Small group meetings (on individual and self-managed initiative, Poster hall)

Friday, November 15th

08:30 - 11:00

Plenary Session 4

POSSIBLE TARGETS AND MECHANISMS OF CFTR MODULATORS

Chairmen: Bandiera T., Pisi G.

26. **Armirotti A.** 31
Proteomic profiling of F508del-CFTR cells to identify new pharmacological targets for CF (FFC#1/2018. Concluded – FFC#1/2019. Extension) (20')
27. **Baroni D.** 31
Dissecting the rescue mechanisms mediated by CFTR correctors(FFC#3/2018. Ongoing) (8')
28. **Galiotta LJV.** 32
Identification of deubiquitinases and ubiquitin ligases that affect mutant CFTR rescue (FFC#2/2017. Concluded – FFC#6/2019. Extension) (20')
29. **Gambari R., Corradini R.** 33
Revealing the microRNAs-transcription factors network in cystic fibrosis: from microRNA therapeutics to precision medicine (CF-miRNA-THER) (FFC#7/2018. Ongoing) (8')
30. **Cozza G., Esposito S., Raia V.** 34
Restoring defective proteostasis in Cystic Fibrosis: novel strategies for F508del-CFTR repair(FFC#4/2019. New) (8')
31. **Piacentini M., Maiuri L., Delogu G.** 35
Dissecting the mechanism of action of the TG2 inhibitor cysteamine on Cystic Fibrosis (FFC#10/2018. Concluded) (15')
32. **Duga S.** 36
Small molecules modulating splicing as novel CFTR amplifier drugs (FFC#5/2019. New) (8')
33. **Salvi M.** 37
Functional role of post-translational modifications in F508del-CFTR correction (FFC#11/2019. New, pilot) (8')

34. Luini A., Tamanini A., Borgatti M.	38
<i>Targeting the signalling network controlling proteostasis and inflammation to rescue F508del-CFTR (FFC#7/2019. New) (8')</i>	
35. Cigana C.	38
<i>Off-target effects of CFTR-modulators in preclinical infection models(FFC#15/2018, Ongoing) (8')</i>	
Discussion (13')	

11:00 - 11:30 Coffee break and **Poster view/discussion**

11:30 - 13:30

Plenary Session 5

SEARCH FOR CFTR MODULATORS AND ITS IMPLICATIONS FOR CARE

Chairmen: **Galiotta LJV., Buzzetti R.**

36. Lee T.	40
<i>State of the art and perspectives on CFTR modulators. (Lecture, 40')</i>	
Discussion (20')	
37. Garattini S.	41
<i>The social cost of new drugs and its implications for research and care. (Lecture, 40')</i>	
Discussion (20')	

13:30 - 14:30 Lunch bag & **Poster view/discussion**

14:30 - 16:15

Plenary Session 6

POSSIBLE NEW MODULATORS OF MUTANT CFTR

Chairmen: **Cabrini G., Bresci S.**

38. Bandiera T., Pedemonte N., Galiotta LJV.	42
<i>Preclinical development of the ARN23765 corrector and search for its backup (FFC/TFCE extension 1, 2, 3. Ongoing) (15')</i>	
39. Pedemonte N., Cavalli A.	42
<i>RNF5 inhibitors as potential drugs for Cystic Fibrosis basic defect (FFC#9/2017. Concluded) (15')</i>	
40. Barraja P., Scudieri P.	43
<i>Towards the discovery of new correctors based on nitrogen heterocyclic systems (FFC#4/2018. Ongoing) (8')</i>	
Discussion (20')	
41. Hirsch E.	44
<i>In depth-characterization of the molecular mechanisms underlying PI3Ky-mediated regulation of CFTR (FFC#8/2018. Ongoing) (8')</i>	
42. Aureli M., Tamanini A.	45
<i>Development of ganglioside GM1-based therapy to improve F508delCFTR rescue approaches (FFC#2/2018. Ongoing) (8')</i>	
43. Rusnati M., Fossa P., Orro A.	46
<i>Rescuing defective CFTR applying a drug repositioning strategy based on computational studies, surface plasmon resonance and cell-based assays (FFC#11/2018. Concluded – FFC#10/2019. Extension) (20')</i>	
Discussion (20')	

16:15 - 16:45 Coffee break and **Poster view/discussion**

16:45 - 18:10

Plenary Session 7

GENE AND RNA EDITING

Chairmen: **Sorio C., Majo F.**

44. Di Leonardo A.	46
<i>Investigating CRISPR-CAS13b as a tool for the RNA editing of CFTR mRNA with premature stop codon (FFC#5/2018. Concluded) (15')</i>	
45. Cereseto A., Debyser Z., Arosio D.	47
<i>SpliceFix: fixing splicing defects in the CFTR gene through CRISPR/Cas9 technology (FFC#1/2017. Concluded) (15')</i>	
46. Cereseto A., Arosio D.	48
<i>Harnessing CRISPR/Cas9 technology to revert F508del-CFTR defect (FFC#3/2019. New) (8')</i>	
Discussion (14')	

TARGETING NON F508del-CFTR MUTATIONS

47. Lentini L., Pibiri I.	49
<i>Optimization of a new lead promoting the readthrough of nonsense mutations for the CFTR rescue in human CF cells (FFC#3/2017. Concluded) (15')</i>	
48. Mangoni ML.	50
<i>Antimicrobial peptides from amphibian skin for treatment of lung pathology in cystic fibrosis: advanced in vitro and in vivo functional characterization (FFC#8/2019. New) (8')</i>	
49. Pedemonte N., Cavalli A.	51
<i>Therotyping orphan mutations in Italian cystic fibrosis patients: efficacy of CFTR modulators and RNF5 inhibitors (FFC#9/2019. New) (8')</i>	
Discussion (14')	

18:10 - 19:00 **Small group meetings** (on individual and self-managed initiative, Poster hall)

20:00 - 23:00 **Welcome dinner** (*Osteria da Ugo, vic. dietro S. Andrea, Verona*)

Saturday, November 16th

09:00 - 10:40

Plenary Session 8

NON TUBERCOLOUS MYCOBACTERIA

Chairmen: Visca P., Delfino E.

- 50. Fraziano M.** 52
Preclinical study of a combined host- and pathogen directed approach based on bioactive liposomes and bacteriophages against Mycobacterium abscessus infection (FFC#21/2019, New) (8')
- 51. Cirillo DM.** 52
Preclinical evaluation of liposomes carrying bioactive lipids as an immune therapeutic tool against in vivo infection with Mycobacterium abscessus (FFC#16/2018. Concluded – FFC#17/2019. Extension) (20')
- 52. Pasca MR.** 53
New weapons against Mycobacterium abscessus and other nontuberculous mycobacteria (FFC#19/2018, Ongoing) (8')
- Discussion (12')

ADVANCES IN CF MICROBIOLOGY

- 53. Notomista E., Pizzo E.** 54
In vitro and in vivo efficacy of an antimicrobial and antibiofilm designed peptidomimetic against CF lung pathogens (FFC#18/2018. Ongoing) (8')
- 54. Sanguinetti M., Vitali A., Iafisco M., Catalucci D.** 55
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. Ongoing) (8')
- 55. Biavasco F.** 56
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. Concluded - FFC#16/2019. Extension) (20')
- Discussion (12')

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

11:10 - 13:25

Plenary Session 9

CF INFLAMMATION: THERAPEUTICAL APPROACHES?

Chairmen: Bruni P., Cigana C., Lucanto MC

- 56. Bellet MM.** 57
Thymosin alpha 1 in cystic fibrosis: from the lung to the gut (FFC#21/2018. Concluded) (15')
- 57. Bianchi ME.** 58
Preclinical testing in cystic fibrosis of a repurposed molecule targeting HMGB1 (FFC#22/2018. Concluded) (15')
- Discussion (10')
- 58. Dehecchi MC., Guaragna A.** 58
Evaluation of anti-inflammatory treatments for CF lung disease in murine models of lung infection in vivo (FFC#23/2018. Concluded - FFC#20/2019. Extension) (20')
- 59. Romani L.** 60
Pharmacology and therapeutics of inhaled indoles, as aryl hydrocarbon receptor ligands, in cystic fibrosis (FFC#24/2018. Ongoing) (8')
- 60. Lampronti I., Chilin A.** 60
Multi-task evaluation of TMA analogues as anti-inflammatory treatments for CF lung disease (FFC#22/2019. New) (8')
- Discussion (10')
- 61. Pistocchi AS.** 61
Potential action of phages as immunomodulators in cystic fibrosis (FFC#23/2019. New) (8')
- 62. Ungaro F., Merkel OM.** 62
Enabling pulmonary delivery of siRNA in cystic fibrosis lung inflammation: therapeutic potential of hybrid lipid/polymer nanoparticles (FFC#25/2018. Concluded) (15')
- 63. Ferrera L.** 63
Properties of airway mucus in cystic fibrosis: their modification by changes in the activity of CFTR and after application of bicarbonate (FFC#12/2016. Concluded) (15')
- 64. Boschi F.** 64
Testing the anti-inflammatory effects of matrix metalloprotease inhibitors in P. aeruginosa-infected CFTR-knockout mice by in vivo imaging techniques (FFC#21/2017. Concluded Dec 31, 2018. Presentation only with poster no. 63)

Discussion (10')

13:25 - 13:30 Closing remarks

13:30 - 14:00 Poster detachment

APPENDICES

Archive of Publications & Congress Abstracts from FFC Projects (2009-2019)	65
Institutes and Laboratories involved in FFC Projects	94
International Reviewers of FFC Projects	98
2002-2019 FFC Projects: Funding and Publications	100
Research Funding by FFC (1997-2019)	101
FFC Projects (2017-2019) adopted by Supporters	102

ABSTRACTS OF PRESENTATIONS

Thursday, November 14th

09:00 - 10:30 Registration and poster display

10:30 - 10:50 Introduction and greetings from the FFC Foundation

10:50 - 12:50

Plenary Session 1

DISEASE MODELS & PREDICTIVE TESTING

1. 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 Interdipartimentale sui Biomateriali, Università degli Studi di Napoli Federico II (FFC#8/2017, Concluded - FFC#14/2019, Extension)



Paolo Netti, secondo da sinistra, con il suo gruppo di ricerca, il partner Diego di Bernardo e Luis Galieta, collaboratore esterno (nei riquadri)

Background and rationale. Cystic Fibrosis (CF) is a highly heterogeneous disease. Several airway epithelial *in vitro* models have been developed to better understand pathogenic mechanisms underlying CF, to investigate the patient-specific prognosis and response to therapeutics. 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/dysfunction of the epithelium.

Hypothesis and objectives. The project aimed to build up a novel 3D CF model (called Full Thickness model) featured by the presence of the lung epithelial and connective compartments. Moreover, we designed and fabricated a microfluidic device for the culture of CF models, for monitoring tissue function and for administering drugs.

Essential methods. The normal and CF connective airway tissues (CAT) were produced by using a bottom up approach starting from the assembly of pulmonary engineered micro-tissues. In order to build up the full thickness model, normal and CF epithelial cells were seeded on the top of the normal or CF CAT and differentiated at the Air Liquid Interface. The engineered tissues were characterized by morphological, functional and molecular analysis. The microfluidic chip was designed in Autocad and fabricated in Poly Dimethyl Siloxane using a Micromilling.

Results. The CF CAT showed significant differences compared to the normal one. Specifically, CF lung fibroblasts proliferated faster and produced more elements of the extracellular matrix, featured by a higher elastic modulus. Epithelial cells developed a differentiated epithelium on the surface of the CAT and penetrated the matrix forming glandular-like structures resembling submucosal glands. The viscosity of the mucus of the CF was higher than the normal model. At the same time, the microfluidic device was developed for the culture of CF models. The chip was equipped with electrodes and

an aerosol for monitoring tissue function and administering substances in the apical side.

Conclusions. The novel 3D model well recapitulated complications occurring during CF both in the connective and epithelial compartments. For this reason, we expect it could be used to investigate the role epithelial-stroma crosstalk in CF. Moreover, the fabricated microfluidic chip could be used for the culture of CF models, for administering drugs in the apical or serosal side of the sample and to monitor their efficacy.

Extension Project FFC#14/2019. The extension project has the purpose to use the fabricated model to understand pathophysiological mechanisms underlying CF. In particular, the role of epithelial stromal crosstalk in CF progression will be investigated. To this aim each part of the model (epithelium, stroma and glands) will be characterized from a morphological and molecular point of view. Moreover, we plan to use the microfluidic chip to mimic infection and trigger inflammation through the delivery of bacterial supernatants in the apical part of the sample via aerosol. Further, tissue rescue after treatment with VX-809 +/- VX-770 will be studied in order to validate the model using drugs of known effects. We believe that the full thickness model on chip will represent a reliable platform to study the human lung pathology in CF and effective CFTR pharmacotherapy.

Un nuovo modello di fibrosi cistica a tutto spessore su un chip microfluidico per studiare i meccanismi patogeni e valutare le strategie terapeutiche

Problema e ragioni dello studio. La fibrosi cistica (FC) è una malattia altamente eterogenea. Diversi modelli di epitelio bronchiale *in vitro* sono stati sviluppati per comprendere i meccanismi patogenetici associati alla FC, per studiare la progressione paziente-specifica della FC e la risposta alle terapie. Nonostante l'efficacia di questi modelli, essi non ricapitolano la comunicazione tra epitelio e stroma (trama connettivale, ndr) polmonare e le conseguenze che questa interazione può avere nell'evoluzione della patologia.

Ipotesi e obiettivi. L'obiettivo principale del progetto è stato realizzare un nuovo modello 3D FC (detto a tutto spessore) caratterizzato dalla presenza non solo dell'epitelio ma anche dello stroma polmonare. Inoltre, il progetto ha portato alla realizzazione di un chip microfluidico utile per la coltura in dinamico di modelli FC, per il monitoraggio delle funzioni tissutali e per la somministrazione di farmaci.

Metodi essenziali. Il tessuto connettivo equivalente delle vie aeree (normale di controllo e FC) è stato prodotto utilizzando un approccio di ingegneria dei tessuti, che prevede l'assemblaggio di unità di micro-tessuti polmonari per ottenere tessuti di dimensioni più grandi. Al fine di costruire il modello a tutto spessore, le cellule epiteliali normali e FC sono state seminate sulla superficie del tessuto connettivo normale o FC e differenziate all'interfaccia aria-liquido. I tessuti ingegnerizzati sono stati caratterizzati mediante analisi morfologiche, funzionali e molecolari. Il chip microfluidico per coltura tissutale è stato progettato in Autocad e fabbricato in poli-dimetil-silossano utilizzando una micro-fresatrice.

Risultati. Il tessuto connettivo FC ha mostrato differenze significative rispetto a quello normale. In particolare, i fibroblasti

polmonari FC hanno proliferato più rapidamente e prodotto più elementi della matrice extracellulare, caratterizzata da un modulo elastico più elevato. Le cellule epiteliali sono state in grado di sviluppare un epitelio differenziato sulla superficie del tessuto connettivo e penetrare nella matrice formando strutture simili alle ghiandole sottomucose. La viscosità del muco era più alta per il modello FC rispetto a quello normale, come previsto a causa della mutazione CFTR. Allo stesso tempo, è stato sviluppato il dispositivo microfluidico per la cultura di modelli FC. Il chip è stato dotato di elettrodi e aerosol per il monitoraggio delle funzioni tissutali e la somministrazione di sostanze nella porzione apicale del campione.

Conclusioni. Il nuovo modello 3D ha ricapitolato bene alcune delle complicazioni che si verificano durante la FC a livello del connettivo e dell'epitelio polmonare. Per questo motivo, prevediamo che il modello possa essere utilizzato per studiare il ruolo della comunicazione tra stroma ed epitelio in FC. Inoltre, il chip microfluidico fabbricato potrebbe essere utilizzato per la coltura di modelli FC, per la somministrazione di farmaci nel lato apicale o serosale (la parte che si affaccia verso il sangue, n.d.r.) del campione e per la valutazione della loro efficacia.

Progetto di estensione FFC#14/2019. Il progetto di estensione ha lo scopo di utilizzare il modello fabbricato per comprendere meccanismi fisiopatologici alla base della FC. In particolare, sarà studiato il ruolo della comunicazione tra epitelio e stroma nella progressione della FC. A tal fine ogni parte del modello (epitelio, stroma e ghiandole) sarà caratterizzata dal punto di vista morfologico e molecolare. Inoltre, intendiamo utilizzare il chip microfluidico per mimare l'infezione e innescare l'infiammazione attraverso il rilascio di surnatanti batterici nella parte apicale del campione tramite aerosol. Infine, sarà studiato il recupero delle funzioni tissutali in seguito a trattamento con farmaci ad effetto noto quali VX-809 +/- VX-770, al fine di validare il modello. Riteniamo che il modello a tutto spessore su chip rappresenterà una piattaforma affidabile per studiare la patologia polmonare umana in FC e la farmacoterapia che mira al ripristino di CFTR.

2. 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, Ongoing)



Adriana Eramo, al centro in alto, responsabile, e Marco Lucarelli, primo in basso da sinistra, partner del progetto con i collaboratori

Background and rationale. CF is caused by mutations of the CFTR gene. The CFTR protein is a chloride channel expressed in many epithelial cells, thus CF is a multi-system disease affecting organs and tissues where CFTR is expressed, particularly respiratory system. Advances in the understanding of molecular genetics of CF (more than 2000 CFTR gene mutations have been reported and grouped into 6 classes) have led to development of clinically approved mutation-specific therapies. However, the potential success of CF personalized therapy is hampered by the scarce characterization of CFTR variants and low number of mutational classes studied, as experimental models are lacking and clinical trials are difficult to realize, particularly for the rare genetic variants, due to limited patient availability. Various cellular models for drug testing and gene therapy approaches used so far are still unsatisfactory and clinical trials are difficult to perform for the rare genetic variants, due to scarce number of patients. Thus, efficient establishment of patient-derived disease models highly reliable for drug testing are strictly required.

Hypothesis and objectives. We proposed to expand airway epithelial stem cells (AESC) from nasal epithelia of cystic fibrosis (CF) patients with different CFTR gene defects, through the highly efficient, "culture reprogramming condition" (CRC) methodology, and to generate CF-CRC-derived disease models to test the response of patient-derived cells to clinical therapeutics with the aim to predict drug response for different CF genetic variants (theratyping). Our objective is also to assess the efficacy of a combined gene editing approach based on Small Fragment Homologous Replacement (SFHR) and CRISPR/Cas9 methodologies to correct CFTR gene.

Essential methods. We established AESC cultures from nasal brushing of CF patients, using the CRC methodology (CF-CRC) and validated them for AESC phenotype and properties. We set up two CRC-derived CF models in vitro suitable for CFTR studies: 1) Air Liquid Interface (ALI) culture of CRC generating 2D differentiated respiratory tissue and 2) CRC culture in matrigel/ALI medium to generate 3D organoids. Both models are validated by analysis of stem and differentiated cell markers and for CFTR expression and function (immunoblot in the 2D model and forskolin-induced swelling, FIS, in organoids). Response to CFTR-targeting drugs is assessed in the two models: in ALI-cultures, through immunoblot (evaluation of the increased corrected CFTR form, higher molecular weight band) and in organoids through FIS assay. Concerning the gene editing, the specific CFTR defects are replaced with wild-type sequence in CF-CRC through a combination of SFHR and Crispr/Cas9 gene editing approaches.

Results. We established 14 CF-CRC cultures derived from affected patients and carriers with different CFTR defects. We validated all cultures for the presence of the patient CFTR gene defect, AESC phenotype and properties. CFTR transcript and protein analysis revealed low levels of CFTR in the CRC cells and higher levels in CRC-derived ALI-differentiated cells, therefore the latter may constitute a highly suitable CF model for in vitro CFTR experimentation. We optimized a second CF model consisting in 3D CRC-derived organoids mimicking the respiratory tissue in terms of structure and properties. The two optimized CRC-derived CF models proved highly suitable for the project aims of testing CFTR variants activity and pharmacological response. ALI model was validated for the pharmacological correction assays using positive control cells carrying F508del pathogenic variant (responsive patients) that proved highly responsive to Lumacaftor and Tezacaftor (marked CFTR band shift in immunoblot). We set up the organoid FIS assay in responsive carrier cells (marked swelling) and are currently optimizing the procedures to evaluate and quantify the ability of correctors to rescue defective CFTR function. For gene editing evaluation, a Droplet Digital PCR assay able to detect 1 wild type copy among 20000 F508del mutated copies of DNA has been setup.

Conclusions. During the last year, we expect to optimize the quantification of CFTR correction in FIS assays in organoids, and to exploit the two CRC-derived CF models as complementary approaches to achieve reliable results on pharmacological response of CFTR variants. Our approaches represents powerful tools toward the introduction of more effective, patient-specific therapeutic op-

tions as well as to predict response to specific therapies for patients with rare mutations. The possibility to test cell response from each CF patient, to pharmacologic and genetic approaches may be of great translational impact, in the direction of therotyping and gene therapy, with particular relevance for rare CF variants.

Generazione di colture di cellule staminali delle vie aeree condizionalmente riprogrammate provenendo da epitelio nasale di pazienti con Fibrosi Cistica: valutazione della risposta a farmaci modulatori del CFTR e correlazione con il profilo genetico (therotyping) e ripristino della funzione del CFTR mediante approcci di modificazione genica

Ragioni del progetto. La fibrosi cistica (FC) è causata da mutazioni del gene CFTR. La proteina codificata è espressa in molte cellule epiteliali, pertanto la FC è una malattia multi-organo che colpisce diversi tessuti e organi, particolarmente il sistema respiratorio. Avanzamenti nella comprensione della genetica molecolare della FC (più di 2000 mutazioni identificate e raggruppate in 6 classi) hanno portato allo sviluppo di terapie mutazione-specifiche clinicamente approvate. Tuttavia, il potenziale successo della terapia personalizzata per la FC è ostacolato dalla scarsa caratterizzazione delle varianti del CFTR e dal ridotto numero di classi mutazionali studiate, a causa della mancanza di modelli sperimentali e della difficoltà di realizzazione degli studi clinici particolarmente per le varianti rare, a causa della scarsità di pazienti. Pertanto, la disponibilità di modelli di malattia ottenuti dai pazienti, adeguati, innovativi e altamente affidabili per test farmacologici sarebbero di notevole beneficio per la FC.

Ipotesi e Obiettivi. Ci siamo proposti di utilizzare la efficiente metodologia di "condizioni di coltura riprogrammanti" (CRC) per espandere cellule staminali delle vie respiratorie (AESC) dall'epitelio nasale di pazienti con diverse varianti patogenetiche di fibrosi cistica (FC) allo scopo di utilizzare le FC-CRC e modelli della malattia (inclusi gli organoidi) da esse derivati per valutare la loro risposta a farmaci di uso clinico e predire la risposta delle diverse varianti genetiche a terapie mirate (therotyping). Inoltre ci proponiamo di correggere geneticamente il gene CFTR mutato mediante un approccio combinato di "gene editing" basato sulle metodologie di Small Fragment Homologous Replacement (SFHR) e CRISPR/Cas9.

Metodi. Le colture di AESC da brushing nasale di pazienti con FC vengono ottenute usando la metodologia CRC (FC-CRC). Le FC-CRC sono validate per il genotipo, fenotipo e proprietà funzionali. Abbiamo generato due modelli in vitro di CF derivati dalle CRC adatti per studi del CFTR: 1) La coltura 2D di Air Liquid Interface (ALI) che genera cellule respiratorie funzionalmente differenziate e 2) la coltura 3D delle CRC in matrigel e terreno di coltura ALI che genera gli organoidi che mimano il tessuto respiratorio anche strutturalmente. Entrambi i modelli vengono validati mediante analisi di espressione di marcatori di staminalità e differenziamento e per l'espressione e funzione del CFTR (immunoblot nelle colture 2D e Forskolin-induced swelling, FIS, negli organoidi). La risposta farmacologica ad agenti terapeutici di uso clinico viene valutata nelle colture ALI, mediante immunoblot (valutazione dell'incremento della forma matura/corretta di CFTR) e negli organoidi mediante saggio FIS, correlata al profilo genetico dei pazienti. I difetti genici di CFTR vengono riparati mediante una combinazione di 2 approcci di gene editing (SFHR e CRISPR-CAS9).

Risultati. Abbiamo generato 14 colture FC-CRC da pazienti affetti e portatori sani con diverse alterazioni del gene CFTR. Le colture sono state validate a livello genetico, per fenotipo e per le proprietà di AESC. L'espressione del CFTR (RNA e proteina) è risultata a livelli basali nelle CRC e a livelli molto più alti nelle cellule CRC dopo differenziamento ALI. Abbiamo realizzato un secondo modello di FC che consiste nella generazione di organoidi 3D, derivati da CRC, che mimano strutturalmente e funzionalmente il tessuto respiratorio. Entrambi i modelli di FC riteniamo siano al-

tamente adeguati per gli obiettivi del progetto ovvero per saggi di attività residua e risposta farmacologica delle diverse varianti di CFTR, nonché esperimenti di gene editing. Il modello ALI si è mostrato ottimale per la variante patogenetica F508del in omozigosi (considerato il controllo positivo di risposta ai correttori), in quanto ha mostrato, come atteso, un forte incremento della forma matura/corretta del CFTR in immunoblot dopo il trattamento con Lumacaftor o Tezacaftor. Abbiamo messo a punto il saggio di FIS negli organoidi da portatori sani (controlli positivi/responsivi) che hanno mostrato un marcato rigonfiamento dopo il trattamento con forskolin e stiamo ottimizzando le procedure per valutare e quantificare l'entità del rigonfiamento sul singolo organoide e quindi l'effetto dei correttori e la loro capacità di ripristinare la funzione del CFTR mutato. Entrambi i saggi saranno utilizzati in modelli con varianti CFTR di controllo e sperimentali già disponibili o che verranno ottenute nel corso del secondo anno di progetto, in modo da definire funzionalità e risposta farmacologica di ogni variante disponibile. Per la valutazione degli approcci di gene editing, è stato messo a punto un saggio di Droplet Digital PCR in grado di misurare, nel DNA, la presenza di una singola copia sana tra 20000 copie mutate di F508del.

Conclusioni. Durante l'ultimo anno utilizzeremo i due modelli di FC ottenuti come approcci complementari per ottenere risultati sempre più affidabili sulla risposta farmacologica delle varianti del CFTR. La possibilità di ottenere grandi quantità di FC-CRC da ogni paziente rappresenta un potente strumento per predire la risposta a terapie mirate per pazienti con mutazioni rare come anche per l'introduzione di opzioni terapeutiche paziente-specifiche, compreso il gene editing, più efficaci.

3. Testing intestinal organoids for the prediction of response to CFTR potentiators and correctors used in clinic

Sorio C

Università degli Studi di Verona, Dipartimento di Medicina (FFC#13/2018, Ongoing)



Claudio Sorio con le ricercatrici del suo gruppo di ricerca

Background and rationale. Prediction of individual drug responses in CF is challenging, mainly because of a 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 (OG) are a new research tool with remarkable basic and translational potential. Human intestinal OG could be useful for assessing the efficacy of new therapies, and provide personalized therapies for CF subjects other than representing 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

Essential methods. Crypts have been isolated and cultured from human intestinal biopsies following established protocols al-

ready set in the laboratory. We measured CFTR activity by forskolin induced swelling (FIS) assay. Established functional tests (Gibson-Cooke and FEV1 tests) were recorded before the treatment and at indicated times after treatment. Patients with indication of treatment with Ivacaftor and Orkambi and one with unknown response potential have been tested.

Preliminary results. Eighteen Organoids were derived from 19 patients biopsies, of these 17 carry a F508Del mutation. One is a carrier of a unique combination of variants (W57G/A234D) whose response to CFTR correctors is unknown. We provide evidence that OG derived from this patient respond to Ivacaftor. Responses to VX-661 and VX-809 (+ VX770) was recorded for a patient carrying the F508del/N1303K variant while data for other two patients await analysis. Additional FIS Assays for the other genotypes are planned pending access to instruments available within common facilities.

Conclusions. Thank to this project we have had the possibility to study and describe the response of the rare variants W57G/A234D to Ivacaftor, thus suggesting that treatment with this drug might be beneficial for this patient other than providing a proof-of-principle of a personalized medicine approach in Italy based on organoid isolation an analysis. Training of highly specialized personnel has been carried on and permitted to establish the standardized procedures.

Analisi di organoidi intestinali per la predizione della risposta a potenziatori e correttori di CFTR utilizzati in clinica

Problema e ragioni dello studio. Prevedere la risposta dei pazienti FC ai farmaci disponibili per il trattamento di questa patologia risulta una vera sfida, soprattutto per la disponibilità molto limitata di modelli basati su cellule primarie che permettano lo screening di composti capaci di recuperare la funzione difettiva della CFTR. Questo spianerebbe la strada all'efficacia clinica, alla preselezione di pazienti/farmaci, all'identificazione di sottogruppi che rispondono ai farmaci e alla registrazione di farmaci. Gli organoidi sono un nuovo strumento di ricerca con un notevole potenziale sia di base che traslazionale. Infatti, gli organoidi intestinali umani potrebbero essere utili al fine di valutare l'efficacia di nuove trattamenti e provvedere a terapie personalizzate per soggetti malati di FC oltre che costituire uno strumento permanente per testare l'attività della CFTR.

Ipotesi e obiettivi. Il nostro scopo è quello di sviluppare un approccio di medicina personalizzata in pazienti FC mediante la raccolta, l'espansione, la conservazione ed analisi di organoidi intestinali umani.

Metodi essenziali. Le cripte intestinali sono state isolate e coltivate da biopsie intestinali umane, seguendo protocolli già messi a punto in laboratorio. L'attività di CFTR è stata analizzata mediante il test del rigonfiamento indotto dalla forskolina (FIS-Forskolin Induced Swelling). I test funzionali clinici stabiliti (test Gibson-Cooke e FEV1) sono stati registrati prima del trattamento e nei momenti indicati dopo il trattamento. Verranno analizzati pazienti con indicazione per il trattamento con Ivacaftor e Orkambi.

Risultati preliminari. Diciotto linee di organoidi sono state estratte con successo da 19 biopsie di pazienti. Di questi, 17 sono portatori in eterozigosi della mutazione F508del. Un paziente particolare è portatore di una combinazione di varianti unica (W57G/A234D), la cui risposta al correttore della CFTR è sconosciuta. I nostri dati preliminari rivelano che gli organoidi di questo paziente rispondono a Ivacaftor. Le risposte a VX-661 e VX-809 (+ VX770) sono state registrate per un paziente portatore delle varianti F508del / N1303K, mentre le risposte di altri due pazienti sono in corso di analisi. Ulteriori saggi FIS per gli altri genotipi sono pianificati in base alla disponibilità degli strumenti condivisi.

Conclusioni. Grazie a questo progetto abbiamo avuto la possibilità di studiare e descrivere la risposta a Ivacaftor della variante rara W57G/A234D suggerendo una possibile efficacia clinica di un eventuale trattamento, oltre che fornire un esempio tangibile di approccio di medicina personalizzata in Italia basato sull'isolamento e l'analisi di organoidi. La formazione continua di persona-

le altamente specializzato ha permesso lo stabilirsi di procedure standardizzate.

4. 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, Ongoing)



Luca Frulloni, responsabile del progetto di ricerca

Background and rationale. Most of the patients with idiopathic pancreatitis (IP) in our population carry at least one mutation in cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) protein, but the role of the dysfunction of CFTR in their disease and treatment is not yet clear. Moreover, the diagnostic procedure in these patients is often very challenging and is mainly based on CFTR measurements in vivo, with borderline results for the Gibson and Cooke (GCST) classic sweat test or normal chloride transport, detected by nasal potential difference (NPD) and/or the measurement of intestinal current (ICM). Unfortunately, no-one of the outcome parameters currently monitored for diagnosis and in clinical trials so far provides direct information on HCO₃⁻ and mucin secretion in CFTR expressing epithelia. New informations are needed to better understand the contribution of CFTR mutations on the bicarbonate transport function in the pathogenesis of pancreatitis in non-CF patients.

Hypothesis and objectives.

- 1) To investigate epithelial ion transport in patients affected by idiopathic pancreatitis with at least one CFTR mutation (IPC) or phenotyped as CFTR related pancreatitis (CRP):
 - (a) by functional analysis: ICM on rectal biopsies, 3D cultures of rectal organoids and by establishing an optical technique to measure fluid transport in parallel to anion currents in 2D intestinal organoids;
 - (b) by GCST and imaged ratiometric sweat rate test ("bubble" sweat test, BST);
- 2) to search for mutations related to pancreatic function with possible functional relevance in IPC and CRP;
- 3) to investigate if and to what extent novel CFTR targeted drugs, known to restore chloride transport in CF, are also capable of restoring ion transport in IPC or CRP.

Essential Methods. Patients affected by IPC or CRP will be tested electrophysiologically for intestinal CFTR-dependent chloride and bicarbonate ions transport by ICM (rectal biopsies; 2D cultures of rectal organoids) and for CFTR-driven fluid transport by FIS in 3D organoids and by confocal reflectometry test in 2D organoids. Sequencing of CFTR and of genes coding for ion channels expressed in the pancreas will be performed. CFTR function tested by standardized methods as GCST, NPD and ICM (performed according to ECFS SOPs) will be correlated with clinical data, including lung function tests.

Preliminary results. In the first year we have set the procedures

and started the collection of human derived material. Patients have been recruited and measurements of the planned parameters have been performed. We obtained organoids from 10 out of 11 biopsies; shipment of the material to Prof. De Jonge's laboratory is planned within the next few weeks.

Conclusions. We successfully organized the analysis of functional parameters from patients affected by recurrent pancreatitis, including the development of rectal organoids. Within the next year the material will be subjected to functional tests as planned.

Organoidi intestinali per la valutazione e la correzione farmacologica di anomalie nel trasporto di fluidi e correnti anioniche in pazienti affetti da pancreatite

Problema e ragioni dello studio. La maggior parte dei pazienti con pancreatite idiopatica (PI) porta almeno una mutazione del regolatore della conduttanza transmembrana della fibrosi cistica, ma il ruolo della (dis) funzione della CFTR nella loro malattia e il trattamento di questa non sono ancora chiari. Per giunta, la procedura diagnostica in questi pazienti è spesso molto impegnativa e si basa principalmente su misurazioni della funzione della CFTR *in vivo* con risultati "borderline", quali per esempio quelle che si ottengono con il classico test del sudore di Gibson e Cooke (TSGC) o con il trasporto dello ione cloruro rilevato dal potenziale nasale (DPN) e/o con la misurazione della corrente intestinale (MCI). Sfortunatamente nessuno dei parametri attualmente monitorati, sia per la diagnosi che per gli studi clinici, fornisce informazioni dirette sulla secrezione di HCO₃⁻ e mucine nell'epitelio che esprime CFTR. Quindi sono necessarie nuove informazioni per capire meglio la relazione tra le mutazioni che coinvolgono il gene CFTR e la funzione di trasporto del bicarbonato nella patogenesi della pancreatite in pazienti non-afetti da fibrosi cistica.

Ipotesi e obiettivi.

- 1) Investigare il trasporto ionico epiteliale in pazienti affetti da pancreatite idiopatica con almeno una mutazione della CFTR (PIC) o fenotipizzato come pancreatite correlata a CFTR (PRC)
 - (a) mediante analisi funzionale: MCI su biopsie rettali, colture 3D di organoidi rettali e tramite una tecnica ottica che permette di misurare negli organoidi intestinali 2D il trasporto di fluidi in parallelo alle correnti anioniche;
 - (b) mediante test del sudore TSGC e test ottico beta-adrenergico del sudore (bubble test, BST);
- 2) Ricercare mutazioni correlate alla funzione pancreatica con possibile rilevanza funzionale in PIC e CRP
- 3) Verificare se nuovi farmaci mirati contro CFTR, noti per ripristinare il trasporto di cloruro nella Fibrosi Cistica, siano anche in grado di ripristinare il trasporto di ioni in PIC o CRP

Metodi essenziali. I pazienti affetti da PIC o CRP saranno testati elettrofisiologicamente per la misura a livello intestinale dello ione cloruro CFTR-dipendente e del trasporto di bicarbonato tramite misurazione della corrente intestinale (biopsie rettali, colture bi-dimensionali di organoidi rettali) e per il trasporto di fluidi dipendente da CFTR mediante saggio FIS in organoidi e mediante test di riflettometria confocale in organoidi 2D. Verrà eseguito il sequenziamento del CFTR e dei geni codificanti per i canali ionici espressi nel pancreas. La funzione CFTR, testata con metodi standardizzati come TSGC, DPN e MCI (eseguiti secondo le SOP ECFS), sarà correlata ai dati clinici, inclusi i test di funzionalità polmonare.

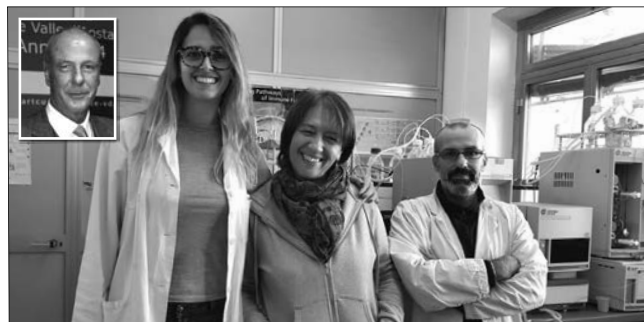
Risultati preliminari. Durante il primo anno abbiamo messo a punto le procedure e iniziato la raccolta di materiale di derivazione umana. Abbiamo reclutato i pazienti ed eseguito la misurazione dei parametri stabiliti. Il lavoro è poi proseguito con l'estrazione di 10 linee di organoidi da 11 biopsie conferite e a breve è prevista la spedizione del materiale al laboratorio del Prof. DeJonge.

Conclusioni. Abbiamo analizzato vari parametri funzionali nei pazienti. Dalle biopsie conferite abbiamo anche ricavato organoidi che verranno sottoposti a test funzionali secondo i programmi stabiliti.

5. Proteomic approach for the identification of new leukocytes biomarkers directly related to a restored CFTR activity following ex vivo treatment with VX-770

Franchi A¹, Pedrazzi M¹, Castellani C², Casciaro R², Cresta F², Patrone M³, Manfredi M⁴, Marengo E³, Aversa M¹

DIMES, University of Genova; ²Hospital, IRCCS G.Gaslini, Genova; ³DISIT, University of Piemonte Orientale; ⁴DiMeT, University of Piemonte Orientale (FFC#12/2019. New, pilot)



Monica Aversa, al centro, con il suo gruppo di ricerca, e il partner del progetto, Emilio Marengo (nel riquadro)

Background and rationale. Leukocytes are recognized in the scientific literature not only as key components of the pathogenetic events associated to cystic fibrosis but also as a valuable source of cellular biomarkers to be evaluated during the progress of treatment response. Shotgun proteomic analysis is a powerful technique that is able to identify and quantify thousands of proteins in a biological sample. Several researchers, by using a proteomic approach, have already demonstrated that some protein networks are significantly altered by CF and also that new altered proteins, not previously known, are related to CF.

Hypothesis and objectives. Our project aims to identifying proteomic changes as a direct consequence of a restored CFTR activity in CF leukocytes, by combining together HS-YFP fluorescence assay of CFTR activity with proteomic analysis on CF leukocytes before and after ex vivo treatment with the potentiator VX770. For this purpose, we are especially focusing on the PM-associate proteome because these proteins mediate immune functions and may provide new information on disease mechanisms.

Essential methods. PBMCs and/or monocytes, isolated from patients carrying class III gating mutations and non-gating mutation with residual functioning CFTR predicted responding to VX770, are used for the CFTR activity assay and proteomic analyses. Label-free proteomics was performed through nano-LC chromatography and high-resolution mass spectrometry.

Preliminary Results. Our preliminary results show that the developed approach is able to identify a specific proteomic profile related to a restored CFTR activity. Besides the identification of potential biomarkers, the analysis highlighted the presence of specific pathways and biological functions that could improve the knowledge of cystic fibrosis treatment.

Conclusions. In case of successful experimental results, we could perform these analyses directly on leukocytes from the same CF patients submitted to Ivacaftor therapy at the Regional CF Center of IRCCS G. Gaslini. Actually, the identification of biochemical markers, associated with drug response in a readily available source of primary cells, could be used for the evaluation/prediction of the efficacy of new therapies targeting the defect of Cl⁻ transport in cystic fibrosis.

Approccio multiomico per l'identificazione di nuovi biomarkers leucocitari correlati al recupero di funzionalità del canale CFTR dopo trattamento ex vivo con il potenziatore VX770

Problema e ragioni dello studio. Recentemente è stato dimostrato e riportato in letteratura che i globuli bianchi ed in particolare i monociti dei pazienti FC presentano attività difettose. Mediante un approccio di tipo proteomico, atto a valutare i cambiamenti delle espressioni delle varie proteine cellulari, alcuni ricercatori hanno già dimostrato che varie reti proteiche sono significativamente alterate dalla FC. Tramite questo studio intendiamo verificare se il farmaco che recupera la normale funzione di CFTR recupera anche le funzioni dei monociti FC e se questo è dimostrabile attraverso le modifiche del proteoma monocitario.

Ipotesi e obiettivi. Il nostro progetto si propone di identificare nel globulo bianco, in particolare nel monocita, i cambiamenti proteomici direttamente correlati al recupero di attività di CFTR, in seguito al loro trattamento col potenziatore VX770.

Metodi essenziali. Le analisi sono effettuate su globuli bianchi e/o monociti isolati da campioni di sangue periferico di pazienti FC con mutazioni di classe III (difetto di *gating*) e mutazioni con funzione residua, tutti pazienti potenzialmente responsivi alla terapia con ivacaftor, mediante cromatografia nano-LC e spettrometria di massa ad alta risoluzione.

Risultati preliminari. I nostri risultati preliminari mostrano che l'approccio sviluppato è in grado di identificare un profilo proteomico specifico correlato a un'attività CFTR ripristinata.

Conclusioni. Ci attendiamo di identificare nuovi biomarker che riflettano un cambiamento nel pattern proteico del monocita come diretta conseguenza del recupero dell'attività di CFTR in seguito al trattamento con VX770. In caso di successo sperimentale, potremmo condurre queste analisi sui globuli bianchi degli stessi soggetti successivamente sottoposti a terapia con ivacaftor al Centro Regionale Fibrosi Cistica IRCSS G.Gaslini. Questo tipo di approccio sperimentale rivolto ad identificare biomarker correlati alla risposta al farmaco in una tipologia di cellula primaria facilmente reperibile potrà essere usato per la valutazione dell'efficacia di nuove terapie mirate al recupero della funzionalità di CFTR difettoso.

6. Monocyte integrin activation as a cystic fibrosis drug evaluation test

Laudanna C

Università di Verona, Dipartimento di Medicina, Sez. Patologia Generale (FFC#13/2019. New)



Background and rationale. Persistent lung inflammation is a major cause of decline in respiratory function in cystic fibrosis (CF) patients, and is a leading cause of morbidity and mortality. In this context, activation of integrin mediated adhesion mediates PMNs pro-inflammatory recruitment into the lung. We discovered that CFTR regulates integrin activation by chemoattractants in monocytes. Monocytes integrin activation is severely impaired in CF, leading to unbalanced recruitment of phagocytes into lung parenchyma, with exacerbated accumulation of PMNs. Since CF is a hereditary defect, our discovery identifies CF as a new type of Leukocyte Adhesion Deficiency (LAD) disease (LAD-IV). This highlights that a LAD background characterizes the pathogenesis of CF.

Hypotheses and objectives. By using specific monoclonal antibodies, we have shown that CFTR controls LFA-1 affinity triggering by chemoattractants in monocytes. Restoration of CFTR function by targeted treatments restores LFA-1 activation in CF monocytes. Thus, quantification of LFA-1 activation in monocytes may represent a specific marker of CFTR activity and can be exploited to monitor the efficacy of CFTR-correcting compounds. The objective of this project is thus to demonstrate that measurement of LFA-1 integrin activation in monocytes can be exploited to monitor the outcome of patient treatments with Ivacaftor and Orkambi CFTR correcting drugs.

Essential methods. Peripheral blood will be collected from a minimum of 10 controls and 10 selected CF patients for each type II or III mutations, before and after therapy. KIM127 and 327C-327A monoclonal antibodies will detect, respectively, LFA-1 low-intermediate and high affinity conformational epitopes. Integrin triggering will be induced with classical chemoattractants (fMLP, C5a, LTB4). Quantification of integrin activation will be evaluated by flow cytometry and in standard adhesion assays.

Expected results and spin-off. We will validate a novel approach to CF patient monitoring, based on analysis of LFA-1 activation states in CF monocytes. The new approach, exploiting minimally invasive tissue procurement and highly sensitive assays, has the potential of greatly improving the predictive and monitoring capability for novel CFTR corrector/potentiator therapies, thus allowing a personalized approach to CF treatment.

Attivazione integrinica monocitaria come test di valutazione di farmaci per la Fibrosi Cistica

Premesse. L'infiammazione polmonare persistente è una delle principali cause di declino della funzione respiratoria nei pazienti con fibrosi cistica (CF) ed è una delle cause di morbidità e mortalità. In questo contesto, l'attivazione integrinica media il reclutamento pro-infiammatorio dei PMNs (leucociti polimorfocellulari) nel polmone. Recentemente, abbiamo scoperto che CFTR regola l'attivazione delle integrine nei monociti. L'attivazione integrinica è bloccata nei monociti CF, portando a un reclutamento squilibrato dei fagociti nel parenchima polmonare, con accumulo esacerbato di PMNs. Poiché la CF è un difetto ereditario, la scoperta identifica la CF come un nuovo tipo di malattia da insufficienza di adesione dei leucociti (LAD-IV), indicando che un contesto LAD caratterizza la patogenesi della fibrosi cistica.

Ipotesi. Usando anticorpi monoclonali specifici, abbiamo dimostrato che CFTR controlla l'attivazione di LFA-1 da parte di chemoattractanti nei monociti. Il ripristino della funzione CFTR mediante trattamenti mirati ripristina l'attivazione di LFA-1 nei monociti CF. Pertanto, la quantificazione dell'attivazione di LFA-1 nei monociti può costituire un marcatore specifico dell'attività di CFTR e può essere sfruttata per monitorare l'efficacia dei farmaci che correggono la CFTR.

Obiettivo. Dimostrare che la misurazione dell'attivazione di LFA-1 nei monociti può essere utilizzata per monitorare l'esito dei trattamenti dei pazienti con i farmaci correttivi Ivacaftor e Orkambi.

Pazienti, materiali e metodi. Sangue periferico da un minimo di 10 controlli e 10 pazienti CF selezionati per mutazioni di tipo II o III, prima e dopo la terapia. Anticorpi monoclonali KIM127 e 327C-327A che rilevano, rispettivamente, epitopi conformazionali LFA-1 di bassa-intermedia ed alta affinità. Attivazione di LFA-1 sarà indotta con fattori chemiotattici (fMLP, C5a, LTB4). La quantificazione dell'attivazione di LFA-1 sarà misurata mediante citometria a flusso e saggi di adesione.

Risultati attesi e sviluppi. Convalida di un nuovo metodo di monitoraggio dei pazienti CF, basato sull'analisi degli stati di attivazione di LFA-1 nei monociti CF. Il nuovo approccio, che si basa su ottenimento minimamente invasivo di campioni da pazienti e analisi altamente sensibile, ha il potenziale di migliorare notevolmente la capacità predittiva e di monitoraggio per nuove terapie correttive di CFTR, consentendo così un approccio personalizzato al trattamento della CF.

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

Lorè NI^{1,2}, Sipione B¹, Rizzo G², Caslini G¹, Ferreira ML³, Norata R⁴, Sitia G³, Rossi G⁵, Sanvito F⁴, Bragonzi A¹

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, ⁴Pathological Anatomy Unit, IRCCS San Raffaele Scientific Institute, Matelica, Italy, ⁵School of Biosciences and Veterinary Medicine, University of Camerino, Matelica, Italy. (FFC#4/2017. Concluded)



Nicola Ivan Lorè, primo da destra, responsabile del progetto, con il suo gruppo di ricerca

Background. In addition to the cystic fibrosis (CF) transmembrane conductance regulator (CFTR) gene defect, the severity of pulmonary disease correlates 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 (which we have named CC06_CFTRtm1kth and CC037_CFTRtm1kth) carrying the $\Delta F508$ mutation in the different genetic background 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 murine models.

Methods. CC_CF murine lines have been characterized for spontaneous pathology and for susceptibility to *P. aeruginosa* lung infection. Disease phenotypes have been dissected by monitoring survival rate, body weight, hematological analysis and multiorgans histopathology.

Results. Breeding of CC06_ $\Delta F508$ /+ heterozygotes does not produce homozygotes mice CC06_ $\Delta F508$ /- indicating potential premature death in utero for this line. However, CC37_ $\Delta F508$ /+ produces 10% of vital homozygotes mice CC37_ $\Delta F508$ /-. CC37_ $\Delta F508$ /- mice (CF) showed a significantly lower survival rate post birth with reduced body weight in comparison to the congenic WT mice. Hematological analysis showed significantly higher neutrophil in CF than WT, indicating an ongoing systemic inflammation. Histopathology indicated that CF mice exhibit both the expected CF-related gut pathology and, different from previous models, alterations in the lungs. Bronchial epithelium of CF mice was diffusely hyperplastic with multiple-layers of epithelial and increased of goblet cells. Muco-obstructive alterations in the lungs were observed in the trachea and major bronchi of CF mice. Additional pathological phenotypes have been observed in other organs including pancreas, heart, reproductive tract, spleen, thymus and bone marrow.

Conclusions. CC lines greatly expanded the range of disease phenotypes relative to classical inbred strains and may lead to the generation of disease specific mouse model that potentially reproduce the CF human disease.

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

Ragioni dello studio. Ad oggi 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 una nuova popolazione murina chiamata 'Collaborative Cross' (CC). Rispetto ai modelli usati fino ad ora, i CC rappresentano la diversità genetica della popolazione umana.

Ipotesi e obiettivo. L'ipotesi di questo progetto è che la mutazione del CFTR in popolazioni con profili genetici differenti possa causare diverse alterazioni patologiche non descritte fino ad ora. L'obiettivo finale è di caratterizzare le manifestazioni di malattia in due nuovi ceppi murini di FC aventi la mutazione $\Delta F508$ (chiamati rispettivamente CC06_CFTRtm1kth e CC037_CFTRtm1kth).

Metodi. Le linee murine CC_CF sono state caratterizzate per patologia spontanea e suscettibilità all'infezione polmonare da *P. aeruginosa*. I fenotipi della malattia sono stati analizzati monitorando il tasso di sopravvivenza, il peso corporeo, l'analisi ematologica e la necropsia multiorgano.

Risultati. L'incrocio di topi CC06_ $\Delta F508$ /+ eterozigoti non produce topi omozigoti CC06_ $\Delta F508$ /- indicando una potenziale morte prematura in utero in questa linea. Tuttavia, la linea CC37_ $\Delta F508$ /+ produce il 10% dei topi omozigoti CC37_ $\Delta F508$ /- vitali. I topi CC37_ $\Delta F508$ /- (FC) hanno mostrato un tasso di sopravvivenza significativamente più basso con un peso corporeo ridotto rispetto alla controparte WT. L'analisi ematologica indica presenza di neutrofili significativamente più numerosi nella FC rispetto al WT, indicando un'inflammation sistemica basale. L'analisi istopatologica ha mostrato che i topi FC presentano sia l'attesa patologia intestinale correlata alla FC sia, a differenza dei modelli precedenti, alterazioni nei polmoni. L'epitelio bronchiale di topi FC è diffusamente iperplastico con strati multipli di cellule epiteliali e aumento delle cellule calciformi. Alterazioni muco-obstruttive nella trachea e nei bronchi principali sono state osservate nei topi FC. Altri fenotipi patologici sono stati rilevati nel pancreas, cuore, tratto riproduttivo, milza, timo e midollo osseo.

Conclusioni. Le linee CC hanno ampliato la gamma di fenotipi di malattia rispetto ai ceppi murini utilizzati fino ad ora e hanno portato alla generazione di modelli murini specifici della malattia che riproducono potenzialmente la malattia umana FC.

8. Bridging airway mucus-microbiota-host genotype to define novel cystic fibrosis animal models

Sipione B¹, Rossi G², Sanvito F³, Livraghi A⁴, Pedemonte N⁵, Bragonzi A¹

¹Infection and Cystic Fibrosis Unit, San Raffaele Scientific Institute, Milan, Italy, ²School of Biosciences and Veterinary Medicine, University of Camerino, Matelica, Italy, ³Pathological Anatomy Unit, IRCCS San Raffaele Scientific Institute, ⁴Cystic Fibrosis/Pulmonary Research and Treatment Center, The University of North Carolina at Chapel Hill, USA, ⁵UOC Genetica Medica, IRCCS Istituto Giannina Gaslini, Genova, Italy. (FFC#2/2019. New)

Background. In humans, absence of CFTR-mediated Cl⁻ secretion causes airway surface dehydration, which leads to mucus stasis, inflammation, infection and bronchiectasis. However, functional ablation of Cfr in mice has never produced an overt pulmonary phenotype. Since gene modifiers have been shown to modulate CF lung pathology, we leveraged the Collaborative Cross (CC) mice to recapitulate the allelic diversity of the human population and introduced *delF508* Cfr mutation to generate new CF mice. The CC37-



Alessandra Bragonzi, responsabile del progetto di ricerca

delF508 line, generated in the project FFC#04/2017, exhibits major muco-obstructive alterations in the lungs.

Hypothesis and objectives. The objectives of this project are to establish if the host genetic background directly impacts: 1) distribution of airway mucus-secretory cells and the abundance of secreted mucus; 2) airway ion transport and expression of CFTR; and 3) airway mucus composition through modification of the host microbiome.

Preliminary results. CC murine lines were screened for susceptibility to bacterial infection, and line CC37 was selected for exhibiting severe pneumonia. Next, the CFTR-delF508 mutation was introduced in the CC37-delF508 line by backcrossing with C57Bl/6 *Cfr^{tm1Kth}*. Expectedly, CC37-delF508 CF mice exhibits high lethality, failure to thrive and gut pathology. Different from previous models, they also show major muco-obstructive alterations in the lungs.

Methods. Longitudinal characterization of airway mucus, ion transport, and host microbiota will be performed in CC37-delF508 mice and upon antibiotics or laxative treatment.

Aim 1: the abundance/composition of airway mucus will be quantified by AB-PAS staining, *Muc5ac*, and *Muc5b* western blot and immunohistochemistry, and RNAscope analyses. **Aim 2:** modulation of epithelial ion transport will be tested by *ex vivo* bioelectric measurements and RNAscope localization of relevant mediators. **Aim 3:** the composition of the host lung microbiome will be determined by bacterial 16S ribosomal RNA gene quantification and sequencing.

Anticipated results. We will establish if the host genetic background affects: 1) abundance and/or composition of airways mucus; 2) epithelial ion transport components relevant to airway mucus clearance; 3) host microbiome as relevant in airways mucus alteration.

Conclusions. We will provide a highly-needed CF small animal model for basic and translational studies focused on disease mechanisms and causes of phenotypic variation.

Correlare muco-microbiota-genotipo per definire nuovi modelli animali di fibrosi cistica

Ragioni dello studio. Nei pazienti con FC, il gene difettivo CFTR provoca una malattia polmonare principalmente caratterizzata da: disidratazione delle vie aeree, stasi di muco, infiammazione, infezioni e bronchiectasie. Ulteriori fattori critici che possono influenzare la gravità della patologia polmonare FC sono i geni modificatori di CFTR. I modelli animali FC di piccola taglia generati fino ad ora, aventi mutazione funzionale di CFTR, hanno mostrato minori alterazioni patologiche nei polmoni. Nonostante nell'uomo vi siano evidenze che, oltre a mutazioni in CFTR, anche la diversità genetica individuale possa determinare una sostanziale variazione fenotipica, non sono stati generati modelli animali che replicano tali caratteristiche della popolazione umana. Pertanto, gli studi di base e traslazionali nel campo della FC sono stati ostacolati dalla mancanza di modelli adeguati che riproducano fedelmente la malattia dell'uomo. Questo ha lasciato senza risposta importanti domande sulla patogenesi e sulla possibilità di testare correttamente l'efficacia delle terapie.

Ipotesi e obiettivo. Sfruttando i topi *Collaborative Cross* (CC) per replicare le variazioni genotipiche/fenotipiche della popolazione umana abbiamo generato un nuovo modello murino con la mutazione CFTR-F508del. Questo modello mostra importanti alterazioni muco-ostruttive nei polmoni e potrebbe rispondere a molte questioni ancora aperte riguardanti la patologia FC.

Metodi. Quattro diversi gruppi di ricerca metteranno a disposizione le loro competenze e risorse utilizzando un approccio multidisciplinare. L'esperienza nello studio della patologia, le tecniche di elettrofisiologia, la fenotipizzazione del muco, la conoscenza del microbioma e padronanza del modello animale di malattia, saranno le competenze chiave fondamentali per il successo del progetto.

Risultati attesi. In questo progetto, stabiliremo se, come e in che misura il profilo genetico dell'ospite influisca: 1) sull'abbondanza e/o la composizione del muco delle vie aeree; 2) sul muco delle vie aeree attraverso la modulazione del trasporto ionico epiteliale; 3) sempre sul muco delle vie aeree attraverso l'alterazione del microbioma dell'ospite.

Conclusioni. Ci si aspetta che questi sforzi possano fornire un nuovo modello per la FC focalizzato sui meccanismi di malattia e sulle cause della variazione fenotipica. Inoltre, le conoscenze generate avranno una ricaduta sui pazienti FC, aprendo nuove ipotesi e contribuendo a comprendere meglio la fisiopatologia FC a diversi livelli.

14:00 - 16:00

Plenary Session 2

CLINICAL ISSUES

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

Terlizzi V¹, Padoan R², Tosco A³, 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, Ongoing)

Background and rationale: further research is needed to determine the prognosis and the appropriate follow up (FU) of Cystic Fibrosis (CF) screen positive inconclusive diagnosis (CFSPID).

Hypothesis and objectives: 1.(retrospective) to collect clinical data and information on FU of CFSPID subjects (CFSPIDs) from 6 Italian CF Centers; 2. (prospective) to standardize sweat testing (ST)



Vito Terlizzi, responsabile del progetto di ricerca

timelines, diagnostic criteria and genetic testing during CFSPIDs' FU.

Essential methods: NBS positive infants born from 01.01.2011 to 31.08.2018 and diagnosed CF or CFSPID were enrolled. CF patients (Cfp) diagnosed by meconium ileus were excluded. Data were retro-

spectively retrieved about ST, genetics, clinical course and FU features. Prospectively, we will follow CFSPIDs born in the period Sept. 2018-Dec. 2019, performing ST every 6 months and II and III level CFTR tests.

Preliminary results: data about 324 CFSPIDs and 181 CFp were collected. 20 CFSPIDs were diagnosed as CF (6.2%), 7 as CFTR-RD (2.2%), 27 were healthy carriers (8.3%) and 16 healthy (4.9%), after a mean FU of 487 days. 254 CFSPIDs were still in FU (78.4%). Only 15.5% CFSPIDs underwent a sweat test (ST) at least every 6 months. Chest X-ray was prescribed to 50.6% CFSPIDs and a CT scan to 3.2% of them. 27.8% CFSPIDs underwent respiratory FKT, mainly for prevention (85.4%). Pneumonia occurred in 5.1% of CFSPIDs, pancreatitis in 1.3% and hyponatremic hypochloremic dehydration in 1.3%. No CFSPIDs developed pancreatic insufficiency. Pharyngeal culture was performed in 65.5% CFSPIDs: non chronic *Pseudomonas aeruginosa* (Pa) was found in 20.2% subjects, MRSA in 10.6%. 137 out of 324 CFSPIDs (42.3%) had normal ST (group A): they received a definitive diagnosis less frequently (4.4% vs 16.9%), performed more often the throat swab (80.7% vs 57%) or presented more episodes of pneumonia (8.1% vs 2.9%) than CFSPIDs with ST in borderline range (group B). A great difference was found about the CFSPIDs' management during FU varying the length of FU (182.6-815.6 days), the frequency of ST at least every 6 months (0-34.8%) and the percentage of CFSPIDs without a final diagnosis (40.6-100%).

Conclusions: our data show a high number of CFSPIDs followed by 6 CF Italian centers and without a conclusive diagnosis. CFSPIDs have a better clinical course than CFp although they may develop complications such as pneumonia or pancreatitis. The FU management by CF centers is notably variable. A standardization of clinical approach to CFSPIDs is needed.

Diagnosi inconclusiva di fibrosi cistica da 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 neonaticon 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. Sono necessari ulteriori studi per definire la gestione, l'andamento clinico e la durata del follow-up.

Ipotesi ed obiettivi: il progetto nasce dall'ipotesi che i centri coinvolti seguano in follow up un elevato numero di soggetti CFSPID con grande variabilità nella gestione clinica, nella tempistica di esecuzione e nell'andamento del test del sudore. Il nostro obiettivo è raccogliere retrospettivamente dati sui lattanti CFSPID e sui soggetti FC e prospettivamente uniformare il comportamento dei centri nei soggetti CFSPID.

Metodi essenziali: dopo approvazione del progetto da parte dei comitati etici locali, abbiamo retrospettivamente raccolto dati clinici, laboratoristici, genetici e microbiologici dei bambini positivi allo screening neonatale, nati tra il 01.01.2011 e il 31.08.2018 e che hanno ricevuto diagnosi di FC o non conclusiva di CFSPID. 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 in modo univoco il TS ogni 6 mesi e il test genetico di II e III livello.

Risultati preliminari: sono disponibili i dati retrospettivi di 324 CFSPID e 181 pazienti FC. Al termine di un follow up medio di 487 giorni, 20 CFSPID hanno ricevuto diagnosi definitiva di FC (6.2%), 7 di patologia CFTR correlata (2.2%), 27 sono portatori sani (8.3%), 16 soggetti sono sani (4.9%). 254 CFSPID (78.4%) sono ancora in follow up. Soltanto il 15.5% ha effettuato il test del sudore almeno ogni 6 mesi. I soggetti CFSPID hanno sviluppato episodi di polmonite (5.1%), pancreatite (1.3%) o disidratazione (1.3%). La tendenza dei centri è di effettuare nei soggetti CFSPID esami radiologici (50.6%), microbiologici (65.5%) e prescrivere la fisioterapia respiratoria (27.8%) anche in assenza di sintomi o test del sudore nella norma.

Conclusioni: la gestione clinica dei soggetti CFSPID e la tempistica di esecuzione del test del sudore è molto variabile nei centri italiani coinvolti. I soggetti CFSPID, pur avendo un andamento clinico meno severo rispetto ai casi di FC, possono presentare complicanze quali episodi di disidratazione, polmonite o pancreatiti.

10. Early Derangements of Glucose Tolerance in Cystic Fibrosis: effect of CFTR Modulators

Battezzati A¹, Bertoli S¹, De Carlo GM¹, Foppiani A¹, Alicandro G¹, Colombo C², Russo MC², Dacco V², Lucidi V³, Ciciriello F³, Debiase RV³, Montemari AL³, Alghisi F³, Lucanto MC⁴, Quattromano E⁴, Cristadoro S⁴, Mari A⁵, Bizzotto R⁵, Grespan E⁵

¹International Center for the Assessment of Nutritional Status, DeFENS, University of Milan, Milan, Italy, ²Cystic Fibrosis Center, Fondazione Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico Ca' Granda, Ospedale Maggiore Policlinico, University of Milan, Milan, Italy, ³Unità Operativa Complessa di Fibrosi Cistica, Dipartimento Pediatrie Specialistiche, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Rome, Italy, ⁴Unità di Gastroenterologia Pediatrica e Fibrosi Cistica, Azienda Ospedaliera Universitaria Messina, Messina, Italy, ⁵Institute of Neuroscience, National Research Council, 27100 Padova, Italy. (FFC#24/2019. New)



Alberto Battezzati, primo da sinistra, e i partner del progetto di ricerca: Carla Colombo, Vincenzina Lucidi, Maria Lucanto e Andrea Mari

Background and Rationale. Diabetes (CFRD) is a frequent and serious complication in Cystic Fibrosis (CF), caused by defects in insulin secretion (Moran et al. 2009). New modulator therapies targeted at CFTR have become available raising hope to prevent or treat CFRD (Clancy et al. 2019). Current evidence does not support significant effects but several issues have complicated this assessment: the natural history of insulin secretory defects is unclear in early life according to CFTR genotypes, but therapy is offered earlier now than in initial studies and for few mutations.

Hypothesis and Objectives. We hypothesize that CFTR modulators can ameliorate insulin secretory defects, but, in previous studies, the endocrine pancreas damage may have been too advanced for therapy to be effective.

The objectives: to evaluate whether 1-yr modulators treatment ameliorates the insulin secretory, sensitivity and glucose tolerance parameters in 6-11 years old subjects compared to the course of children with the same mutations on conventional therapy; to begin a natural history study in the carriers of mutations still not eligible for modulators.

Essential methods. We will initiate a prospective multicenter study of glucose tolerance in a cohort of CF subjects 6-11 yr old using repeated OGTTs as previously developed to assess the insulin secretion parameters along with pulmonary, exocrine pancreatic and liver function and nutritional status assessment. Subjects who become

eligible to CFTR modulators will be studied at therapy onset. All subjects will repeat the OGTT after 1 yr.

Preliminary results. We have previously described the insulin secretory responses using a modified Oral Glucose Tolerance Tests (OGTT) protocol in CF patients followed at the CF center in Milan and are collaborating to build reference values at national and international level (Battezzati et al. 2015). Data on early glucose tolerance defects were not systematically collected.

Conclusions. Evaluation of modulators effects on insulin secretory, sensitivity and glucose tolerance parameters and initial description of natural history in patients still not receiving modulators, to provide valuable background data for future therapies assessment. This clinical study will evaluate the effectiveness of therapies targeted to the basic CFTR defect on an important CF complication and will fill gaps in knowledge in its natural history.

Alterazioni precoci della Tolleranza al Glucosio in Fibrosi Cistica: effetti dei Modulatori di CFTR

Problema e ragioni dello studio. Il diabete in fibrosi cistica (CFRD) è una complicanza frequente e severa causata da un deficit progressivo di secrezione insulinica. Nuovi farmaci, mirati a modulare il difetto genetico di base, sono diventati disponibili nella pratica clinica, aprendo la possibilità di prevenire o trattare il CFRD. Inizialmente non sono emersi effetti netti, ma mancano i dati nelle prime fasi della vita e per diversi genotipi. Oggi, la terapia con modulatori è offerta per poche mutazioni in età più precoce rispetto agli studi iniziali. Per poter dare una risposta bisogna conoscere al meglio il decorso dei deficit di secrezione insulinica in età precoce.

Ipotesi e obiettivi. Noi ipotizziamo che i farmaci modulatori possano migliorare la secrezione insulinica, ma che nei primi studi la terapia sia stata somministrata in fase troppo avanzata per risultare efficace. Ci poniamo quindi l'obiettivo di valutare se il trattamento con i modulatori possa migliorare la secrezione insulinica in pazienti più giovani, dai 6 agli 11 anni rispetto al decorso di chi non ha ancora l'opportunità di ricevere questi farmaci, anche perché portatori di mutazioni per cui non vi è ancora indicazione.

Metodi essenziali. Useremo il carico orale di glucosio (OGTT) come metodo sperimentale (già indicato come screening annuale dalle linee-guida) per identificare le alterazioni di secrezione insulinica e lo ripeteremo a distanza di un anno in tutti i bambini dai 6 ai 12 anni afferenti ai centri coinvolti. I pazienti per cui è indicata la terapia ma sono ancora in attesa ed i pazienti con mutazioni per cui non vi è ancora indicazione verranno inclusi ugualmente e se ne valuterà presenza e decorso naturale dei deficit secretori.

Risultati preliminari. In uno studio precedente abbiamo descritto la risposta secretoria dell'insulina utilizzando un protocollo modificato di OGTT in pazienti con fibrosi cistica seguiti presso il centro di Milano. Stiamo inoltre collaborando per elaborare valori di riferimento della secrezione insulinica a livello nazionale e internazionale.

Conclusioni. Lo studio permetterà di comprendere se i nuovi farmaci modulatori hanno un effetto sulle alterazioni che portano al diabete in FC e di aumentare le conoscenze sulle fasi precoci della sua storia naturale. Questo permetterà la valutazione dell'efficacia dei modulatori nel prevenire i meccanismi di diabete e un chiarimento del suo decorso naturale per una migliore previsione dell'effetto delle terapie future.

11. Therapeutic potential of a long-acting lung-specific DNase (DNase2b) for the treatment of CF

Grigoletto A¹, Danila Delfino D², Mori G², Bizzotto G¹, Rivetti C², Percudani R², Pasut G¹

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



In alto, Gianfranco Pasut, responsabile del progetto e, sotto, Riccardo Percudani, partner

Background/Rationale. CF respiratory symptoms can be treated with recombinant human deoxyribonuclease I (rhDNase, Pulmozyme®) thanks to its mucolytic activity. However, rhDNase has important issues: short residence time in the lungs and non-responders. Interestingly, other human DNases (DNase2b and DNase1L2) 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.

Hypothesis and Objectives. To develop and study long-acting forms of alternative DNases with improved catalytic properties to manage the pulmonary symptoms of CF. The obtained endonucleases 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 DNase and prevent its inhibition and degradation.

Essential Methods. Recombinant expression of DNase2b and DNase1L2 was carried out in bacterial and yeast systems. DNase2b was poorly soluble and with no detectable activity in both expression systems. DNase1L2 was obtained in soluble and active form in the methylotrophic yeast *Pichia pastoris* and was purified by anion-exchange chromatography. DNase activity was analysed by using supercoiled plasmid DNA as substrate. PEGylation of DNase has been firstly studied with commercial rhDNase. After unsuccessful attempts with enzymatic methods the three different conjugates were obtained by using PEG20kDa linked at the protein N-terminus, PEG2kDa-aldehyde linked to lysines or PEG1056Da-NHS linked to lysines. The activity retention was studied by Kunitz assay.

Preliminary results. DNase1L2 is active in a broad range of pH from 4 to 8.5, with optimum between 5 and 6, and requires two divalent cations (i.e. Ca²⁺ and Mg²⁺). The three different rhDNase conjugates were characterized regarding the number of PEG chains conjugated per protein unit and the residual activity. The conjugate with PEG2kDa had an average of 2.8 polymer chains per protein with a residual activity of 88.7% with respect to native rhDNase, the conjugate with PEG1056Da-NHS has an average of 2 chains per protein and an activity of 34.7% and the last with PEG20kDa has a single chain per protein and a residual activity of 16.6%.

Conclusions. In this first year i) we have produced and purified recombinant DNase1L2 and characterized its activity in vitro; ii) we have settled the conditions of PEGylation of DNase proteins with short polymer chains to favour the mucus penetration and retain the enzymatic activity on mucus thinning.

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

Problema e ragioni dello studio. I sintomi respiratori FC sono essere trattati con deossiribonucleasi umana ricombinante I (rhDNase, Pulmozyme®) grazie alla sua attività mucolitica. Tuttavia, rhDNase ha problemi importanti: il suo breve tempo di permanenza nei polmoni e non responsività al trattamento. È interessante notare che esistono altre DNasi umane, tra le quali due DNasi espresse in particolare in polmone ed epidermide (DNase2b e DNase1L2), che 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 loro forma attiva.

Ipotesi e obiettivi. i) Sviluppare e studiare forme a lungo effetto delle DNasi alternative con proprietà catalitiche più efficienti per gestire i sintomi polmonari della FC. Le endonucleasi ottenute promuoveranno la fluidificazione del muco tagliando il DNA dei neutrofilo morti. ii) Superare le attuali limitazioni della rhDNase mediante coniugazione del polimero PEG, che prolungherà l'azione delle DNasi e ne impedirà l'inibizione e la degradazione.

Metodi essenziali. DNase2b e DNase1L2 sono state espresse in forma ricombinante in batterio e lievito. DNase2b è risultata poco solubile e con attività non rilevabile in entrambi i sistemi di

espressione. DNase1L2 è stata ottenuta in forma solubile e attiva nel lievito metilotrofico *Pichia pastoris* e purificata per cromatografia a scambio anionico. L'attività DNasica è stata analizzata utilizzando DNA plasmidico superavvolto come substrato. La PEGilazione è stata in questo primo anno studiata su rhDNase ottenendo tre diversi coniugati, i quali sono stati caratterizzati per determinare l'attività enzimatica residua.

Risultati preliminari. DNase1L2 è attiva in un ampio range di pH da 4 a 8.5, con optimum tra 5 e 6, e necessita di due cationi divalenti (Ca²⁺ and Mg²⁺). I tre coniugati sono stati ottenuti con buone rese, e in un caso è stato possibile preservare oltre 88% dell'attività della proteina dornase, che però presenta i limiti sopraportati di una veloce perdita di efficacia. Questo coniugato permetterà una azione fluidificante sul muco per tempi più lunghi rispetto alla dornase attuale.

Conclusioni. In questo primo anno i) abbiamo prodotto e purificato DNase1L2 ricombinante e ne abbiamo caratterizzato l'attività in vitro; ii) abbiamo stabilito le condizioni di coniugazione del polimero PEG alle proteine DNasi e l'uso di catene polimeriche corte permetterà di favorire la penetrazione nel muco e mantenere l'attività enzimatica sulla fluidificazione del muco.

ALTERNATIVE ANTIMICROBIAL STRATEGIES

12. Ex vivo study on Type I and III interferon response and virus–bacteria interactions in cystic fibrosis 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, Ongoing)



Guido Antonelli, responsabile del progetto

Background and rationale. The dual effects of type I and III interferon (IFN-I/III) in tuning inflammation and tissue damage has been pursued in several respiratory diseases, but the IFN-signaling in cystic fibrosis (CF) is much less understood.

Hypothesis and objectives. IFN-I/III activity as well as innate immunity might be a double-edged sword which strives to strike a delicate balance between eradication of the infection/recovery and immunopathogenesis in CF disease. Our aims are: i) to assess the clinical value of IFN signature in CF progression; ii) to ascertain whether virus–bacteria coinfection compromises the IFN response and consequently affects disease severity.

Essential methods. Respiratory samples were collected from CF patients (n=309) enrolled at the regional reference center for Cystic Fibrosis at Sapienza University Hospital "Policlinico Umberto I" during clinical routine. Together with canonical microbiological investigation, human rhinovirus HRV and Merkel cell polyomavirus MCPyV were examined by current criteria in respiratory samples. Expression

of toll like receptors (TLRs) was also measured by real time PCR. Statistical analysis was performed using SPSS v.20.0.

Preliminary results. HRV positivity was found in 80 out of 515 respiratory samples (15.5%) with a similar rate in all age groups (0-10 years, 11-24 years, ≥25 years). Since TLRs are the triggers of a multifaceted network that promotes both the IFN-I/III and inflammatory response, expression of TLRs was compared between the above (60 out of 80) HRV infected patients and HRV negative CF patients. Results showed that HRV infected patients express higher airway levels of TLR2 and TLR4 compared to those without HRV infection. Interestingly, the level of expression of TLR2 and TLR4 correlates with high level of HRV viral load in CF patients. HRV positive patients coinfecting with *S. aureus* or *P. aeruginosa* showed enhanced amounts of TLR2 and TLR4-mRNAs expression. Moreover, in order to gain new insights into a potential pathogenic role played by viruses, other than HRV, in CF, we determined frequency of MCPyV in the upper respiratory tract of a subgroup of CF patients (n=249). MCPyV DNA was detected in 65 out of 249 samples analyzed (26%), a percentage that was higher than that recorded in individuals not affected by CF (0.8%). An association between the presence of MCPyV and the concurrent isolation of *S. aureus* was also found.

Conclusions. Although preliminary, our results gain new insights into the virus–bacteria coinfection in promoting a dysregulation of IFN signaling in CF patients. The final aim is to identify CF patients at risk of developing complications and to contribute to the development of new therapeutic approaches.

Studio ex vivo sulla risposta dell'interferon di tipo I/III e sull'interazione virus-batteri nei pazienti affetti da Fibrosi Cistica: un nuovo approccio nello sviluppo di strategie terapeutiche alternative

Ragioni dello studio. Gli interferon di tipo I e III (IFN) (proteine prodotte naturalmente dalle cellule, n.d.r.) 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 dell'IFN nei pazienti FC non è stato ancora definito.

Ipotesi e obiettivi. L'ipotesi del progetto è chiarire ruolo dell'attivazione del pathway (percorso) dell'IFN in FC considerando sia la sua azione come meccanismo di controllo delle infezioni microbiche sia la sua azione favorente la disregolazione della

risposta immune. In particolare, gli obiettivi che intendiamo perseguire sono i seguenti: i) caratterizzazione molecolare della *signature* (firma) dell'IFN in FC; ii) analisi delle interazioni dinamiche tra batteri e virus respiratori e del loro impatto sulla risposta IFN mediata nei pazienti FC.

Metodi essenziali. Durante il primo anno del progetto sono stati raccolti campioni respiratori da pazienti FC (n=309) afferenti al Centro di riferimento di fibrosi cistica dell'Ospedale Universitario "Policlinico Umberto I" di Roma. Oltre ai metodi di indagine microbiologica di routine, sui campioni respiratori sono stati eseguiti: rilevamento, quantificazione e tipizzazione di rinovirus e *Merkel cell polyomavirus* mediante tecniche di PCR. Inoltre, il profilo di espressione genica dei *Toll Like Receptors (TLR)*, coinvolti nel pathway degli IFN, è stato esaminato mediante Real time PCR.

Risultati preliminari. Una infezione da HRV è stata riscontrata in 80 dei 515 campioni respiratori (15.5%), raccolti durante l'anno di osservazione, con percentuali paragonabili nei diversi gruppi di età analizzati (0-10 anni, 11-24 anni, >= 25 anni). Dall'analisi dell'espressione dei TLRs emerge che nei pazienti con una infezione da HRV sono presenti livelli più elevati di TLR2 e TLR4. Inoltre, un'espressione maggiore di TLR2, TLR4 e TLR8 correla con una carica virale più elevata. I livelli dei TLRs sembrano variare anche in funzione delle specie batteriche, *S.aureus* e/o *P.aeruginosa*, che colonizzano il tratto respiratorio dei pazienti FC. I principali risultati ottenuti dalla ricerca del MCPyV-DNA indicano un'elevata positività al virus (26%) nei campioni respiratori dei pazienti FC, in particolare in quelli con una infezione da *S.aureus*.

Conclusioni. Sebbene preliminari, i risultati sono rilevanti al fine di comprendere gli effetti positivi e/o negativi della risposta IFN mediata che, come risvolto applicativo, ha quello di permettere di identificare i pazienti FC a rischio di sviluppare complicanze e di contribuire allo sviluppo di nuovi approcci terapeutici.

13. 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, Concluded)



Livia Leoni, quarta da destra, responsabile del progetto di ricerca con i collaboratori

Background and rationale. 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* (pqs) for their application to CF therapy.

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

Essential methods. The anti-virulence activity of each one of the three anti-pqs drugs was tested against a collection of 100 *P. aeruginosa* strains isolated from CF patients, having different antibiotic resistance profiles. The interaction of the anti-pqs drugs with antibiotics commonly used in CF therapy was studied in *P. aeruginosa* liquid and biofilm cultures.

Results. The anti-pqs drugs were significantly active against a large percentage of CF strains, even if to different extents, and showed no antagonistic effects toward antibiotics. In particular, multidrug resistant (MDR) strains seemed to be particularly susceptible to one of these drugs, named clofoctol.

Conclusions. This comparative analysis of three anti-pqs drugs, together with toxicity and pharmacokinetic considerations, support clofoctol as the most promising antivirulence drug for repurposing in CF therapy. However, additional confirmatory studies carried out with a larger number of MDR *P. aeruginosa* CF isolates should be carried out before proceedings with further studies in animal infection models.

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

Problema e ragioni dello studio. I farmaci anti-virulenza inibiscono la capacità di *Pseudomonas aeruginosa* di produrre l'infezione, costituendo una promessa per lo sviluppo di terapie innovative anti-*Pseudomonas* per la fibrosi cistica (FC). In precedenza abbiamo scoperto che tre "vecchi" antibiotici sviluppati per il trattamento di infezioni diverse da quelle causate da *P. aeruginosa*, hanno una attività anti-virulenza nei confronti di questo batterio. Poiché sono farmaci già approvati per uso nell'uomo, potrebbero giungere alla terapia più velocemente di molecole "nuove", non caratterizzate dal punto di vista tossicologico e farmacologico.

Ipotesi e obiettivi. I ceppi di *P. aeruginosa* isolati da pazienti con fibrosi cistica (ceppi FC) accumulano mutazioni che gli consentono di adattarsi e persistere nel polmone, nonostante le intense terapie antibiotiche. Questo implica che l'attività di un farmaco, attivo contro ceppi di *P. aeruginosa* da laboratorio, debba essere confermata contro una collezione di ceppi isolati dai pazienti FC, prima di passare a studi clinici. Lo scopo del progetto è stato selezionare, tra tre farmaci con chiara attività anti-*Pseudomonas*, quello più adeguato allo sviluppo di una terapia specifica per i malati di FC.

Metodi essenziali. L'efficacia dei tre farmaci anti-virulenza è stata testata in 100 ceppi di *P. aeruginosa*, diversi per suscettibilità agli antibiotici, isolati da pazienti FC con infezione intermittente o cronica. L'interazione di questi farmaci con antibiotici comunemente somministrati ai pazienti FC è stata testata usando modelli *in vitro* di biofilm.

Risultati. Ognuno dei tre farmaci è attivo contro una buona parte dei ceppi FC analizzati, soprattutto ceppi multiresistenti agli antibiotici (MDR). Nessuno di questi farmaci ha un'azione antagonista rispetto ad antibiotici comunemente usati nella terapia FC.

Conclusioni. Il confronto tra i tre farmaci anti-virulenza testati, insieme alle loro caratteristiche di tossicità e farmacocinetica, sembra identificare il clofoctol come quello con il più alto potenziale di trasferimento alla terapia dei malati FC. Questi dati dovrebbero essere confermati da ulteriori studi condotti utilizzando un maggior numero di ceppi MDR, prima di procedere con studi in modelli animali.

14. A longitudinal metagenomic analysis to uncover microbial signatures of CF lung disease: unravelling host-microbial community interactions in humans and animal models

Bevino A¹, Mengoni A², Segata N³

¹Department for Sustainability, Italian National Agency for New Technologies, Energy and Sustainable Economic Development, ENEA, Rome, Italy, ²Department of Biology, University of Florence, Sesto Fiorentino, Florence, Italy, ³Centre for Integrative Biology, University of Trento, Trento (FFC#19/2017. Concluded)



Annamaria Bevino con, a sinistra, Alessio Mengoni e, a destra, Giovanni Bacci.

Background and rationale. Although 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 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 proposal 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; evaluate the combined effect of *Cftr* mutation and infection by *P. aeruginosa* on gut-lung microbiome in wild type and CF mice.

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 *Cftr* tm1UNCTgN(FABPCFTR) and their WT congenic mice were sacrificed at seven days post-infection to track changes of the gut and lung microbiome during chronic infection.

Results. 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. CFTR-deficient and WT congenic mice do not cluster separately for lung following *P. aeruginosa* chronic infection, while a separation of the gut microbiota with respect to the mutation was found, suggesting that the CFTR genotype has more influence in our animal model for the gut microbiota than for lung microbiota.

Conclusions. 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. 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

Problema e ragioni dello studio. È ormai noto che la composizione delle comunità batteriche nelle vie aeree durante le esacerbazioni infettive FC subisce delle variazioni, tuttavia l'analisi dell'intero corredo genetico microbico (microbioma) e la relazione con lo stato di malattia polmonare del paziente non sono stati ancora investigati. Per comprendere pienamente le relazioni funzionali tra microbioma polmonare e malattia FC sono cruciali i modelli animali.

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; valutare l'effetto dell'associazione di mutazione del gene CFTR con infezione da *P. aeruginosa* sul microbioma polmonare ed intestinale in topi FC.

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 *Cftr* tm1UNCTgN (FABPCFTR) e wild type congenici sono stati sacrificati a sette giorni dall'infezione con *P. aeruginosa* per le successive analisi dei cambiamenti del microbioma polmonare ed intestinale durante l'infezione cronica.

Risultati preliminari. È stata osservata una complessa tassonomia del microbioma, sia negli espettorati provenienti dallo stesso paziente sia tra 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. Inoltre, ogni soggetto ha riportato una composizione specifica di geni e gruppi tassonomici. I risultati dagli esperimenti murini hanno rivelato che il microbioma polmonare nei topi FC e WT, infettati con *P. aeruginosa*, non presenta differenze significative a differenza del microbioma intestinale, suggerendo che in questo modello il genotipo FC abbia un'influenza maggiore sul microbioma intestinale rispetto a quello polmonare.

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 al microbioma 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 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".

15. Gallium as an antibacterial agent in cystic fibrosis: animal studies for the delivery of inhalable formulations to the clinic

Visca P¹, Sorrentino R²

¹Dipartimento di Scienze, Unità Microbiologia, Università Roma Tre, ²Dip. di Farmacia, Università di Napoli Federico II (FFC#19/2019. New)



Paolo Visca, responsabile del progetto, e Raffaella Sorrentino, responsabile dell'unità di ricerca partner

Background and rationale. Over the past 12 years, several works have shown that Gallium [Ga(III)] inhibits *Pseudomonas aeruginosa* (Pa) growth, acting as an iron mimetic^{1,2}. The perspective of bringing Ga(III)-based anti-Pa therapies to the clinic has recently been substantiated by a pilot clinical trial showing favourable pharmacokinetics, safety and tolerability profiles of intravenous (i.v.) administered Ganite® [FDA-approved Ga(NO₃)₃] in CF patients chronically infected by Pa².

Hypothesis and objectives. Drug delivery to the respiratory tract has become of choice for CF lung infections treatment. The main objective of this project is to provide evidence of *in vivo* anti-bacterial activity of novel inhalable Ga(III) formulations, to gain essential pre-clinical insights for the delivery of improved/novel Ga(III)-based drugs to the clinic.

Essential methods. New Ga-based formulations will be generated, and their activity assessed on a representative collection of PaCF isolates. Moreover, the immunomodulatory properties on human monocytes/macrophages and the *in vivo* toxicity after administration (intratracheal/intranasal) of Ga(III) formulations will be investigated in mice. The protective efficacy of the best Ga(III) formulation after single intratracheal administration or multiple intranasal instillations will be determined in a murine model of Palung infection.

Preliminary results. Our team has generated and *in vitro* tested novel formulations for Ga(III) inhalation therapy, and investigated Ga(III) pharmacology upon systemic (i.v.) and lung (local) administration in rats. Significant improvement of Ga(III) persistence in lungs (the target of the antibacterial therapy) and lower accumulation in kidney (the target of the adverse effect) have been achieved through inhalable dry powders embedding Ga(III)-loaded nanoparticles, compared with i.v. and intratracheal administration of Ga(NO₃)₃ solution.

Conclusions. In the worrying scenario of increasing antibiotic resistance in Pa, the perspective of bringing Ga(III)-based anti-Pa therapies in CF patients is highly desirable. The identification of suitable Ga(III) formulations and dosing regimens for successful treatment of Pa lung infection in mice will foster future clinical application of Ga(III) for inhalation therapy in CF patients.

Il gallio come agente antibatterico in fibrosi cistica: studi preclinici di formulazioni inalabili a base di gallio in modelli animali

Problema e ragioni dello studio. I pazienti con fibrosi cistica (FC) incorrono in frequenti infezioni polmonari causate da ceppi di *Pseudomonas aeruginosa* multi-resistenti a causa dei prolungati trattamenti antibiotici. Vi è quindi la necessità di sviluppare nuovi farmaci per contrastare l'infezione da *P. aeruginosa*. Studi del nostro ed altri gruppi di ricerca hanno dimostrato che il gallio [Ga(III)] inibisce la crescita di *P. aeruginosa* privando il batterio del ferro necessario per la sua crescita. Recentemente uno studio clinico condotto in pazienti FC con infezione cronica da *P. aeruginosa* ha dimostrato che la somministrazione i.v. di Ganite [soluzione acquosa di Ga(III)-citrato] è ben tollerata e non determina l'insorgenza di effetti collaterali.

Ipotesi e obiettivi. Nei pazienti FC è preferibile la somministrazione di farmaci attraverso le vie respiratorie al fine di raggiungere una maggiore concentrazione del farmaco a livello polmonare e ridurre gli eventuali effetti sistemici. Il presente progetto

(FFC#19/2019) è uno studio pre-clinico, condotto in modelli murini ed è finalizzato a dimostrare l'efficacia di formulazioni inalabili di Ga(III) per contrastare le infezioni polmonari causate da *P. aeruginosa*.

Metodi essenziali. Le formulazioni inalabili di Ga(III) verranno saggiate per le loro proprietà anti-batteriche *in vitro* su una collezione rappresentativa di ceppi di *P. aeruginosa* isolati clinici, inclusi pazienti FC. Saranno anche condotti studi *in vivo*, finalizzati a valutare la tossicità e la capacità delle formulazioni a base di Ga(III) di proteggere da infezioni di *P. aeruginosa* in un modello murino di infezione polmonare.

Risultati preliminari. Il nostro gruppo di ricerca ha già sviluppato nuove formulazioni inalabili di Ga(III). In un modello di ratto, tali formulazioni inalabili non hanno mostrato alcun effetto tossico rispetto alla Ganite, ed al contempo hanno anche determinato un significativo aumento della persistenza del Ga(III) nel polmone (organo bersaglio della terapia) e una riduzione della presenza di Ga(III) nei reni (principale bersaglio degli effetti tossici).

Conclusioni. Prevediamo di identificare la migliore formulazione di Ga(III) e la dose necessaria per il trattamento di infezioni polmonari in un modello murino d'infezione polmonare. Auspichiamo che questo progetto renda possibile la futura applicazione clinica delle formulazioni inalabili Ga(III) per il trattamento dell'infezione polmonare da *P. aeruginosa* nei pazienti FC.

16. Pharmacological inhibition of colistin resistance in gram-negative cystic fibrosis pathogens

Ascenzioni F¹, Imperi F², Botta B³

¹Dip. Biologia e Biotecnologie C. Darwin, Università La Sapienza, Roma, ²Dip. Scienze, Università Roma Tre, ³Dip. Chimica e Tecnologia del Farmaco, Università La Sapienza, Roma (FFC#15/2019. New)



Florentina Ascenzioni, seconda da destra, con i ricercatori del suo laboratorio

Background and rationale. Antibiotic resistance limits our ability to treat lung infections in CF. Old antibiotics, such as colistin, have been reintroduced to treat multidrug resistant Gram-negative infections. This has inevitably led to the spread of colistin-resistant isolates, which in some CF centers reached rates close to 50% (1). Colistin is a cationic peptide that interacts with the lipid A moiety of the lipopolysaccharide (LPS), causing membrane destabilization and cell death. Strong experimental evidence demonstrated that in *Pseudomonas aeruginosa* colistin resistance depends on the covalent addition of 4-amino-4-deoxy-L-arabinose (Ara4N) to lipid A, that reduces colistin affinity for LPS (2,3).

Hypothesis and objectives. Through a target-based drug discovery approach, we have recently identified a lead compound able to potentiate colistin activity *in vitro*. This project aims to develop derivatives with improved potency and/or specificity, and to investigate their mechanism of action, range of activity, toxicity and efficacy of the lead compound and/or its derivatives.

Essential methods. Compound optimization will be performed by iterative cycles of drug design and *in vitro* activity assessment. The mechanism of action will be verified by mass spectrometry analysis of the external membrane components and biochemical characteri-

zation of the interaction with the putative target. The range of activity of the most promising compounds will be determined using a panel of colistin-resistant clinical isolates, while their toxicity and efficacy will be assessed in different *in vitro* and *in vivo* model systems.

Preliminary results. Taking advantage of the resolved structure of ArnT (4), the last enzyme of the pathway leading to lipid A aminoarabinylation, we performed an *in silico* molecular docking approach that allowed to identify a compound capable to potentiate colistin activity against a colistin-resistant *P. aeruginosa* tester strain at relatively low concentrations. Based on computational and organic chemistry studies, some analogues have already been synthesized and will represent the starting point of the project.

Conclusions. We expect to develop small molecule(s) with drug-like features and with activity against colistin-resistant *P. aeruginosa* strains. As very few treatment options exist for colistin-resistant CF infections, drugs that restore sensitivity in colistin-resistant isolates would represent a valuable therapeutic tool for these difficult-to-treat infections.

Inibizione farmacologica della resistenza alla colistina in patogeni gram-negativi della fibrosi cistica

Problema e ragioni dello studio. La resistenza agli antibiotici complica il trattamento delle infezioni polmonari in fibrosi cistica. Vecchi antibiotici, come la colistina, sono stati reintrodotti per il trattamento delle infezioni multiresistenti ai farmaci, ma questo ha inevitabilmente portato alla diffusione di batteri insensibili anche a questi antibiotici. La colistina agisce destabilizzando la membrana esterna dei batteri Gram-negativi. *Pseudomonas aeruginosa*, il principale patogeno in fibrosi cistica, acquisisce resisten-

za alla colistina mediante una specifica modificazione della membrana esterna che la rende inattaccabile dall'antibiotico.

Ipotesi e obiettivi. Mediante un approccio di disegno razionale di nuovi farmaci, il nostro gruppo ha recentemente identificato un composto in grado di potenziare l'attività della colistina. L'obiettivo di questo progetto è l'ottimizzazione di questo composto, in termini sia di attività che di specificità. Inoltre, ci proponiamo di studiarne il meccanismo di azione, lo spettro di attività, la tossicità e l'efficacia.

Metodi essenziali. Il composto sarà ottimizzato mediante cicli successivi di sintesi di nuovi derivati e valutazione della loro attività. Il meccanismo d'azione sarà verificato investigandone l'effetto sulla struttura della membrana esterna e caratterizzandone l'interazione con il bersaglio molecolare. Lo spettro di attività sarà valutato su diversi isolati clinici resistenti alla colistina, mentre la tossicità e l'efficacia saranno verificate in sistemi modello sia *in vitro* che *in vivo*.

Risultati preliminari. Partendo dalla struttura tridimensionale dell'enzima responsabile della modificazione della membrana esterna responsabile della resistenza alla colistina, ed utilizzando sistemi informatici, abbiamo identificato un composto in grado di ristabilire l'attività della colistina contro un ceppo di *P. aeruginosa* colistina-resistente. Mediante approcci di chimica organica e computazionale, alcuni analoghi di questo composto sono già stati sintetizzati e rappresenteranno il punto di partenza del progetto.

Conclusioni. Ci aspettiamo di sviluppare molecole, con proprietà farmacologiche ottimali, attive contro i ceppi di *P. aeruginosa* resistenti alla colistina. Il raggiungimento di questo obiettivo contribuirà a mantenere in vita l'attività antibiotica della colistina, che ad oggi rappresenta una delle ultime risorse per il trattamento delle infezioni da *Pseudomonas* multiresistente.

16:30 - 18:30

Plenary Session 3

LUNG TRANSPLANTATION

17. 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, Fenizia 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 Cà Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milan. (Dipartimento di Fisipatologia Medico Chirurgica e dei Trapianti, Università degli studi di Milano), ²Laboratorio di Immunologia, Dipartimento di scienze biomediche cliniche L. Sacco, ³Pneumologia 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 (FFC#24/2017. Concluded)



Mario Nosotti, responsabile del progetto di ricerca

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 transplantation rejection (CTR) 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 rejections, both acute and chronic.

Hypothesis and objectives. This study aims to verify, in recipients suffering from 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 are in the study group (ECP and standard therapy) and 12 patients are in the control group (standard therapy). Analyses of immune cell functions (in presence/absence of polyclonal or allo-specific stimulus), inflammatory status and vesicles were 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. We recorded also every adverse event.

Results. The study started on 15th September 2018, and since then we enrolled 12 patients. Preliminary data on the first ten patients (6 ECP and 4 CTR) are reported. There was one drop-off due to psychological difficulties. One patient in the control group died for sepsis due to pneumonia on 10th post-operation day. No AR episodes were observed and no adverse events due to ECP were recorded. Immune parameters were evaluated at different time points in the

first year after LTx. In ECP compared to CTR patients: 1) regulatory T cells (Treg) as well as IL10 production by Treg were increased; 2) IL17-secreting Th17 as well as Th1 T cells were reduced; 3) CD107+/CD8+ (perforin-releasing CTL) T lymphocytes were reduced, 4) IL10-producing NK cells were increased; 5) LPS-stimulated IL-10 production was augmented whereas that of TNF α and IL-1 β was reduced. The expression of EV-associated markers CD63, CD9 and CD81 was detected. Upregulation of platelet (CD62p; $p < 0.05$ by t-test), lymphocytes (CD3, CD24) markers and integrins (CD29, CD49e) was observed in ECP-treated patient compared to the control group

Conclusions. This study is still into enrolling phase; the current interim analysis did not show any adverse effect in the study group. The immunological tests demonstrated a profound immunoregulation in the treated patients. We estimate to finish the enrolment before September 2020.

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

Problema e 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 allo stato di insufficienza respiratoria irreversibile. 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 fotofresi 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. Si tratta di uno 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 broncolavaggio. 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 (12) dal 15/09/18 non presentano rigetto acuto. Disponiamo di dati preliminari su 10 pazienti (6 del gruppo ECP e 4 del gruppo controllo). Un paziente è uscito dallo studio per difficoltà psicologiche legate al trapianto. Un paziente del gruppo "controllo" è deceduto per un episodio infettivo importante in 10^o giornata post operatoria. Il trattamento ECP è stato sempre ben tollerato e non si sono verificati eventi avversi. Le analisi immunologiche e biologiche hanno confermato l'effetto modulante dell'ECP sul sistema immunitario, che è la base della tolleranza nei confronti dell'organo trapiantato.

Conclusioni. Lo studio si presenta ancora in fase di arruolamento. I risultati di quest'analisi ad interim non hanno messo in evidenza alcun effetto sfavorevole rilevante nel gruppo di pazienti trattati. Le analisi immunologiche dimostrano un profondo riarrangiamento dell'immunocompetenza dopo ECP. Noi ci attendiamo di concludere l'arruolamento entro settembre 2020.

18. 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, Schena FP²

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



Federico Rea, a sinistra, responsabile di progetto, e Francesco Paolo Schena, partner

Background and rationale. About 16% of patients undergoing lung transplant (LT) account for end-stage cystic fibrosis (CF) patients. The first cause of LT failure is the development of acute rejection (AR) and then chronic lung allograft dysfunction (CLAD) that affects 50% of patients at 5 years post-transplantation. CLAD includes two entities: bronchiolitis obliterans syndrome and restrictive allograft syndrome. Both phenotypes have poor prognosis with a median survival of less than 2 years for RAS and less than 4 years for BOS. Since CLAD is irreversible, it is necessary to study the molecular mechanisms leading to such a condition with the ultimate goal of identifying early biomarkers for diagnosis and targeted therapy.

Hypothesis and Objective. Our project is the molecular study of rejection in CF patients that undergo lung transplant by performing RNA-Seq in transbronchial biopsy (TBB) specimens.

Essential methods. From August 2015 a certified biobank is available at the Pathological Anatomy Unit of the Padova University Hospital. For each of the follow-up time-points, TBB have been stored according to specific guidelines in order to perform omics analyses. Illumina NextSeq 500 has been used for sequencing RNA obtained from formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) TBB specimens. The quality of RNA has been checked before RNA-seq that has been sequenced in pair-end mode. Prior to further analysis, a quality check of the sequencing data has been performed.

Preliminary Results. In this retrospective study we have enrolled 18 patients who underwent lung transplant for end-stage CF and 10 cadaveric lung donors. TBBs have been evaluated for the presence of AR and CLAD according to the guidelines of the ISHLT. Transcriptomics has been performed in 40 TBB samples (11 CLAD, 6 AR, 13 samples with no rejection and 10 donor lungs obtained before transplantation). Statistical analysis, performed by the Bioconductor tool, generated a gene list of 7675 probes corrected with $p < 0.05$ for the AR and 4605 for the CLAD. Ingenuity Pathway Analysis (IPA) software that assesses biological relationships among genes and entities with a $FC > 1.5$ evidenced 5 different pathways and 3 genes (CACNA11, CERS3, FLG) that were common in AR and CLAD. Real-time PCR to validate differential gene expression data and immunohistochemistry on lung tissue specimens are in progress.

Conclusions. Integrating histological data and transcriptomics we may provide more information on the molecular mechanisms of AR and CLAD in end-stage CF patients with lung transplant.

Identificazione di biomarcatori precoci per la diagnosi di rigetto acuto e cronico nei pazienti con fibrosi cistica sottoposti a trapianto di polmone.

Problema e ragioni dello studio. Circa il 16.4% dei pazienti che ricevono un trapianto di polmone (TP) sono affetti da fibrosi

cistica. I pazienti trapiantati sono costantemente a rischio di rigetto dell'organo, sia in forma acuta (rigetto acuto, RA) che cronica (rigetto cronico, RC). La prima causa di perdita dell'organo trapiantato è il rigetto cronico che interessa circa il 50% dei pazienti dopo 5 anni dal trapianto. Il RC si presenta con due quadri clinico-patologici: una forma ostruttiva (bronchiolite obliterante, BO) e una restrittiva (RAS). Entrambi hanno una prognosi severa ed infausta. Poiché la RC è irreversibile, è necessario conoscere i meccanismi patogenetici molecolari ed individuare alcuni biomarcatori che possono permettere una diagnosi precoce ed una terapia possibilmente specifica.

Ipotesi e obiettivi. Scopo del nostro progetto è lo studio molecolare del rigetto acuto e cronico dopo trapianto di polmone in pazienti con fibrosi cistica.

Metodi essenziali. Dall'Agosto 2015 è presente nell'Anatomia Patologica dell'Università di Padova una biobanca certificata che colleziona tutto il materiale diagnostico che viene prelevato ai pazienti sottoposti a TP durante il follow-up, effettuato a periodi prestabiliti. Le biopsie polmonari eseguite routinariamente per il monitoraggio del rigetto, dopo lo studio istologico per la diagnosi, sono state utilizzate per eulire RNA, che è stato successivamente analizzato con il sequenziatore Illumina 500.

Risultati. Sono stati arruolati 18 pazienti con FC sottoposti a TP. Inoltre sono state utilizzate le biopsie polmonari effettuate sul parenchima polmonare dei donatori prima del TP. Lo studio di trascrittomico è stato effettuato su 11 biopsie con diagnosi di RC, 6 con RA, 13 polmoni di pazienti sottoposti a trapianto senza segni di rigetto e 10 biopsie polmonari su parenchima dei donatori prima del trapianto. L'analisi statistica ha evidenziato un pattern di geni disregolati, che costituiscono il pattern del RC. Questi geni saranno confermati con la RT-PCR e con l'immunostochimica effettuata sulle biopsie polmonari incluse nello studio.

Conclusioni. L'integrazione dei dati istologici con i dati derivanti dall'analisi trascrittomico può dare maggiori informazioni sui meccanismi molecolari che sono responsabili del rigetto cronico nei pazienti con FC che hanno ricevuto un trapianto polmonare.

19. Right ventricle dysfunction in cystic fibrosis patients undergoing lung transplantation

Scaravilli V

Department of Anesthesia, Critical Care and Emergency, Fondazione IRCCS Ca' Granda - Ospedale Maggiore Policlinico, Milan) (FFC#27/2019. New)



Vittorio Scaravilli, responsabile del progetto

Background and rationale. Patients with cystic fibrosis (CF) have subclinical right ventricle (RV) dysfunction. During lung transplantation (LUTX), several reasons (i.e., sequential pulmonary artery cross-clamping, hypoxia, hypercapnia) lead to pulmonary hypertension, RV failure, and shock. Emergent intraoperative extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) is used in these cases. ECMO is associated with a higher risk for postoperative cardiac failure, primary graft dysfunction (PGD), and graft rejection. Echocardiographic RV strain has been recently described as an accurate, non-invasive index of RV dysfunction, but has never been evaluated in FC patients. Levosimendan is a calcium-sensitizer drug used for cardiac failure, capable of improving RV function.

Hypothesis and objectives. We hypothesize that in CF patients undergoing LUTX: 1) RV strain is predictive of RV failure and the intraoperative need for ECMO; 2) in patients with RV dysfunction, pre-operative levosimendan is effective in reducing RV strain, and limit RV failure.

Essential methods. This study is composed of two 1-year consecutive phases: 1) prospective observational study to evaluate RV strain before, during, and after LUTX in CF patients; 2) prospective interventional trial to evaluate the efficacy of pre-operative levosimendan in reducing RV strain. The RV strain will be assessed by echocardiography throughout all the perioperative period (i.e., enrollment, pre-operative, intraoperative, ICU dismissal, and 3-months follow-up). During the second phase of the study, the patients at higher risk for intraoperative right ventricle failure (i.e., reduced RV strain) will undergo a pre-operative and intraoperative single course of levosimendan.

Preliminary Results. At the moment of this writing, the Institutional Ethical Committee has approved the prospective observational phase of the study. Patients' recruitment has commenced.

Conclusions. If our hypothesis will be confirmed, the care of CF patients undergoing LUTX could be improved since we will develop: a new accurate non-invasive repeatable index for identification of patients at high risk for intraoperative ECMO and a potential treatment to limit intraoperative RV failure, ECMO use, and its complications.

Disfunzione del ventricolo destro in pazienti con fibrosi cistica sottoposti a trapianto di polmoni

Problema e ragioni dello studio. I pazienti con fibrosi cistica (FC) che necessitano di trapianto polmonare spesso hanno una alterazione subclinica (asintomatica) della funzione del ventricolo destro, che si manifesta durante l'intervento, con deterioramento cardiaco acuto della funzione del ventricolo destro e necessità di circolazione extracorporea, che può essere associata a un peggioramento della prognosi del trapianto a breve termine. Il Levosimendan è un nuovo farmaco, usato fino ad ora per pazienti con malattie cardiache, che è capace di migliorare la funzione del ventricolo destro.

Ipotesi e obiettivi. Gli obiettivi sono: 1) validare nuove tecniche ecografiche non invasive per la diagnosi dei pazienti a più alto rischio di disfunzione intraoperatoria del ventricolo destro; 2) verificare se il trattamento con Levosimendan possa essere efficace nel ridurre tale rischio.

Metodi essenziali. Verranno inclusi nello studio i pazienti con fibrosi cistica candidati a trapianto di polmone presso l'Ospedale Maggiore Policlinico - Fondazione IRCCS Ca' Granda nell'arco di due anni. Vi sarà una prima fase osservazionale prospettica (studio del cuore destro con ecografia nel primo anno in soggetti in lista per il trapianto) e una seconda fase interventistica (trattamento con Levosimendan dei pazienti a rischio per disfunzione ventricolare destra nel secondo anno).

Risultati preliminari. Allo stato attuale lo studio osservazionale prospettico è stato approvato dal Comitato Etico istituzionale. Il reclutamento dei pazienti è in corso.

Conclusioni. Se positivo, questo studio permetterà di trovare nuovi indici ecografici predittivi di insufficienza ventricolare destra durante il trapianto polmonare di pazienti con FC, e valuterà l'efficacia di una terapia con Levosimendan nel limitarne l'incidenza.

20. 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, Ongoing)



Alessandro Palleschi, a sinistra, responsabile, e Andrea Aliverti, partner del progetto

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, this method 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 H-MRI of the lung. An innovative algorithm for CT and MR image processing will be developed in order to describe the ventilation distribution in the follow-up of lung-transplanted patients.

Preliminary results. The Ethics Committee approved a dedicated protocol. Between August 2018 and September 2019 we enrolled 27 subjects who underwent lung transplantation at our Centre. Patients performed the usual surveillance tests, with the addition of MRI. The Politecnico validated the method by comparison with the CT data on a sample of 10 subjects. Next year, we will proceed with the imaging analysis and with the statistical correlation with clinical-functional outcomes.

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

La risonanza magnetica come tecnica d'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, qual 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 d'insorgenza di complicanze, i pazienti eseguono TAC, prove di funzionalità respiratoria standard, sono sottoposti a fibrobroncoscopia con lavaggio bronco-alveolare e biopsie polmonari trans-bronchiali. Inoltre, per la finalità dello studio, saranno sottoposti a RMN convenzionale. I dati relativi alle caratteristiche pre-, intra- e post-trapianto saranno registrati su un database dedicato, già in uso nel nostro Centro. Le immagini TAC e RMN saranno rielaborate presso il Politecnico di Milano mediante approccio innovativo per lo studio funzionale e quantitativo del parenchima polmonare. Tali risultati saranno correlati con i classici dati di funzionalità respiratoria e le eventuali modificazioni saranno correlate con l'insorgenza di complicanze, in fase pre-clinica o clinica.

Risultati preliminari. Abbiamo elaborato uno specifico protocollo per approvazione del Comitato etico. Tra agosto 2018 e settembre 2019 abbiamo arruolato 27 soggetti trapiantati di polmone presso il nostro Centro, che sono stati sottoposti agli abituali esami di sorveglianza, con aggiunta della RMN. Presso il Politecnico, si è proceduto a validazione della metodica mediante confronto con i dati TAC su un campione di 10 soggetti. Il prossimo anno procederemo con l'analisi dell'imaging dei pazienti arruolati e l'analisi statistica per la correlazione con i dati clinico-funzionali.

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

CLINICAL MONITORING AND CARE

21. *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, Ongoing)

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.

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



Alessandro Bartoloni, responsabile del progetto di ricerca

Italian Cystic Fibrosis Center (Florence, Genoa, Milan, Rome). We will enroll CF patients, 18 years of age or older, with available demographic and clinical data from medical records. The enrolled patients will perform a sputum sample for microbiological culture, GM *Aspergillus* and RT-PCR *Aspergillus*, 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. So far, two centers started enrolling patients while the two remaining centers are still waiting for the final approval by the local Ethical Committee. We obtained the result of GM sputum in 17 patients (10 males and 7 female). The median age is 30 years old (standard deviation ± 10), median FEV1% is 50 (range 24-95%). Chronic respiratory pathogens are *Pseudomonas aeruginosa* (11, 64.7%), methicillin susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) (8, 47%), *Alcaligenes xylosoxidans* (4, 23.5%), methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) (2, 11.8%), *Staphylococcus aureus* small colony variant (2, 11.8%), *Stenotrophomonas maltophilia* (1, 5.9%). The GM sputum is positive in 11 patients (median index 4.32, range 1.87-5.9). Antifungal therapy was prescribed for 2 patients. We also enrolled about 80 patients and the microbiological exams are ongoing.

Conclusion. 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. 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 genere di funghi, ad alcune specie del 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 si potrebbero giovare di un trattamento antifungino.

Metodi essenziali. Saranno arruolati i 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, 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 preliminari. Fino ad oggi, solo 2 dei 4 centri hanno iniziato l'arruolamento dei pazienti, essendo gli altri in attesa dell'approvazione finale del Comitato Etico locale. Al momento il risultato del galattomannano su escreato è disponibile per 17 pazienti, di età media 30 anni (deviazione standard ± 10), con FEV1% medio di 50 (range 24-95%). Undici pazienti presentavano un'infezione cronica da *Pseudomonas aeruginosa* (64.7%), 8 da *Staphylococcus aureus* meticillino sensibile (MSSA) (47%), 4 da *Alcaligenes xylosoxidans* (23.5%), 2 da *Staphylococcus aureus* meticillino resistente (MRSA) (11.8%), 2 da *Staphylococcus aureus* small colony variant (11.8%), 1 da *Stenotrophomonas maltophilia* (5.9%). In 11 pazienti il GM su espettorato è risultato positivo, con index medio di 4.32 (range 1.87-5.9). Due pazienti hanno intrapreso terapia antifungina.

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.

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

Lanuti P^{1,2}, Patruno S^{2,3}, Bologna G^{1,2}, Pomilio A^{2,3}, Simeone P^{1,2}, Plebani R^{2,3}, Pecce R^{2,3}, Pierdomenico L^{1,2}, Ercolino E^{1,2}, Ciccocioppo F^{1,2}, Di Sabatino M⁴, Miscia S^{1,2}, Marchisio M^{1,2}, Moretti P⁴, Cirilli N⁵, Cipolli M⁵, Recchiuti A^{2,3} and Romano M^{2,3}

¹Dipartimento di Medicina e Scienze dell'Invecchiamento, ²Center for Advanced Studies and Technologies (CAST), ³Dipartimento di Scienze Mediche, Orali e Biotecnologiche, Università degli Studi G. d'Annunzio di Chieti-Pescara; ⁴Centro Regionale Fibrosi Cistica, Ospedale di Atri (TE); ⁵Centro Regionale Fibrosi Cistica, Ospedali Riuniti, Ancona. (FFC#29/2018, Ongoing)



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

Background and rationale. Monitoring inflammation and lung disease is pivotal in cystic fibrosis (CF). The rationale of this study is grounded on previous work from our group and others showing that in addition to epithelial cells, platelet, endothelial cell and leukocyte functions are affected by the molecular defect of CF and can contribute to sustain lung inflammation. It is also grounded on the evidence that cell activation during pathophysiological events is accompanied by the release of microvesicles (MV), which serve as intercellular messengers orchestrating the host response to infection and inflammation. Thus, the analysis of these MV could be highly informative on the degree of ongoing inflammation and tissue damage in CF.

Hypothesis and objectives. We hypothesize that the enumeration of circulating MV may represent a novel 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 a flow cytometric methodology developed by our group, we identified and enumerated total, platelet, leukocyte, endothelial and epithelial MV in peripheral blood. We have so far recruited 36 patients with CF (9 with FEV1% \leq 30 – 50; 12 with FEV1% 50-70 and 15 with FEV1% $>$ 70), 8 of them are being treated with CFTR modulators. Blood is being collected approximately every 3 months up to 21 months and at the beginning and the end of any exacerbation. Data are being correlated with respiratory parameters and markers of inflammation.

Preliminary Results. The data collected so far show that CF patients have a higher number of MV than normal subjects. Furthermore, we observed some correlations between leukocyte and endothelial MV and indices of inflammation. Of note MV, both total and specific, tend to increase during the course of infectious exacerbations and to decrease with the resolution of the event. Finally, in the cases studied so far, patients treated with CFTR modulators tend to have a lower number of circulating MV compared to patients not on these drugs.

Conclusions. The results obtained so far suggest that the count of circulating MV may represent a new index useful for monitoring inflammation and drug response in CF patients.

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

Problema e ragioni dello studio. Valutare lo stato dell'infiammazione e della malattia polmonare nei pazienti con fibrosi cistica (FC) è molto importante per mettere a punto terapie efficaci. Questo studio si basa su precedenti osservazioni del nostro gruppo e di altri che dimostrano come il difetto molecolare della FC comprometta la funzione di cellule endoteliali e cellule del sangue. Si basa inoltre sull'evidenza che le cellule rispondono a stimoli infettivo/infiammatori rilasciando piccole vescicole, denominate microvescicole (MV) che servono come messaggeri tra le cellule per orchestrare le risposte dell'organismo. Quindi l'analisi delle MV potrebbe fornire informazioni sul livello dell'infiammazione e del danno dei tessuti.

Ipotesi e obiettivi. Ipotizziamo che la conta delle MV circolanti possa fornire indicazioni su infiammazione, infezione e danno polmonare. I nostri obiettivi sono: 1. Validare l'analisi delle MV circolanti come un nuovo marcatore 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. Sono stati finora reclutati 36 pazienti con FC (9 con FEV1% fra 30 – 50; 12 con FEV1% fra 50-70 e 15 con FEV1% $>$ 70), 8 dei quali in trattamento con modulatori di CFTR. A questi pazienti vengono prelevate piccole quantità di sangue ogni 3 mesi per 21 mesi e all'inizio e alla fine di ogni esacerbazione infettiva. I dati vengono correlati con parametri di funzionalità respiratoria e indici di infezione/infiammazione. Le MV del sangue vengono contate utilizzando un metodo basato sulla flusso-citometria messo a punto dal nostro gruppo.

Risultati preliminari. I dati raccolti finora mostrano che i pazienti FC hanno un numero di MV superiori a quelle di soggetti normali. Inoltre, abbiamo osservato correlazioni tra alcuni indici di infiammazione con le MV endoteliali e leucocitarie. Interessante notare come le MV, sia totali che specifiche, tendono ad aumentare nel corso delle esacerbazioni infettive per poi diminuire con la risoluzione dell'evento. Infine, nei casi finora studiati, i pazienti in terapia con modulatori di CFTR tendono a presentare un numero inferiore di MV circolanti rispetto ai pazienti non in terapia con questi farmaci.

Conclusioni. I risultati finora ottenuti suggeriscono che la conta delle MV circolanti possa rappresentare un nuovo indice utile per monitorare l'infiammazione e la risposta a farmaci nei pazienti con FC.

23. Standardized Ventilation Inflammation Perfusion and Structure (VIPS) MRI platform for monitoring Cystic Fibrosis Lung Disease

Morana G, Bertolo S

Ospedale Ca' Foncello, Dip. Radiologia Diagnostica e Interventistica, Treviso (FFC#26/2019. New)



Giovanni Morana, responsabile del progetto di ricerca

Razionale. Fourier Decomposition is a novel Magnetic Resonance Imaging (FD-MRI) analytical technique that allows obtaining perfusion and ventilation images without intravenous and gaseous contrast agents. FD-MRI could provide new outcomes measures for the monitoring of Cystic Fibrosis Lung Disease (CFLD). Before introducing FD-MRI in CF clinical practice, we need to validate this technique against standard as Computed Tomography (CT) and with perfusion MRI techniques (CEMRI). The final goal of this validation plan is to develop an MRI protocol that provide information about ventilation, inflammation, perfusion and structure (VIPS-MRI) in a single examination of 30 minute.

Hypothesis and Objective. Primary: to validate a new MRI protocol in order to obtain more precise information about lung ventilation, perfusion, inflammation and structure compared to CT and Contrast-enhanced MRI. Secondary: to develop the VIPS MRI platform.

Essential methods. 80 patients with CF scheduled for their periodical CT will be asked to participate. Participation will entail an MRI study, performed the same day of the CT or within a week. A sub-group of patients will include patients with pulmonary exacerbations (n=20) and hemoptysis (n=10): they will undergo to contrast-enhanced MRI. Patients with respiratory tract exacerbation will repeat the MRI protocol after medical treatment.

Preliminary results. The primary study parameters will be used to validate a new sequence against established MRI (1,5 T) and CT (ultra low-dose) techniques to assess structural and functional pulmonary alterations. The main parameters assessed will be: amount of Low Intensity Regions (LIR) quantified on end-expiratory MR images expressed as percentage over the total lung volume. Ventilation defect (VD) on ventilation map expressed as percentage of total lung volume. Amount of Low Attenuation Regions (LAR) quantified on end-expiratory CT images (CF patients only) expressed as percentage of the total lung volume. The primary study parameters will be compared using appropriate statistic tests. In addition, primary study parameters will be correlated against each other to define strength of association.

Conclusions. Given that MRI is part of the clinical routine for CF patients, and the data derived from this study have the potential to improve clinical understanding and management, we believe this study is justified. The new VIPS MRI protocol may improve detection and quantification of structural and functional changes in the CF patients.

Standardizzazione di un protocollo di imaging con risonanza magnetica (MRI) per lo studio di ventilazione, infiammazione, perfusione e struttura al fine di migliorare il monitoraggio della patologia polmonare FC

Problema e ragioni dello studio. La *Fourier Decomposition* è una nuova tecnica di risonanza magnetica (FD-RM) che consente di ottenere informazioni su perfusione e ventilazione senza Mezzo di Contrasto (MdC). La FD-RM potrebbe fornire nuovi risultati per il monitoraggio della malattia polmonare in fibrosi cistica (CFLD). Prima di introdurre la FD-RM nella pratica clinica, è necessario convalidare questa tecnica confrontandola con la tomografia computerizzata (TC) e con lo studio di perfusione RM con MdC (CERM).

Ipotesi e Obiettivi. Obiettivo primario: convalidare un nuovo protocollo RM che dia informazioni su ventilazione polmonare, perfusione, infiammazione e struttura migliori rispetto alla tecnica RM e alla CT correntemente utilizzate. Obiettivo Secondario: sviluppare una piattaforma VIPS-RM che utilizzi un singolo esame di 30 minuti, standardizzando il protocollo per l'utilizzo in ogni centro, indipendentemente dall'apparecchiatura RM disponibile.

Metodi essenziali. Includeremo 80 pazienti con FC che devono eseguire il controllo CT periodico, i quali eseguiranno anche uno studio RM lo stesso giorno della TC o entro una settimana. Un sottogruppo di pazienti con esacerbazione polmonare (n=20) ed emottisi (n=10) eseguirà anche una RM con MdC. I pazienti con esacerbazione ripeteranno l'esame RM dopo il trattamento antibiotico.

Risultati preliminari. I parametri dell'obiettivo primario saranno utilizzati per convalidare il nuovo protocollo confrontandolo con le tecniche di RM (1,5 T) e TC (ultra low-dose) disponibili e convalidate per valutare le alterazioni polmonari strutturali e funzionali. I principali parametri valutati saranno: estensione delle aree a bassa intensità di segnale (LIR), quantificate su immagini RM a fine espirio espresse come % sul volume polmonare totale (VPT); difetto di ventilazione (DV) sulla mappa di ventilazione espressa come % del VPT; estensione delle aree a bassa densità (LAR), quantificate su immagini TC a fine espirio ed espresse come % sul VPT. I parametri saranno confrontati usando appropriati test statistici e saranno correlati tra loro per definirne la forza di associazione.

Risultati attesi e possibili ricadute cliniche. Considerato che la RM è parte della routine clinica per i pazienti CF e i dati derivati da questo studio hanno il potenziale per migliorare la comprensione e la gestione clinica, il nuovo protocollo VIPS -MRI può migliorare la detenzione e la quantificazione dei cambiamenti strutturali e funzionali nei pazienti FC, in un unico esame e senza utilizzo di MdC e di radiazioni ionizzanti.

24. Investigating *Achromobacter xylosoxidans* pathogenicity and clinical role in CF lung infection

Lleò MM

Dip. Diagnostica e Sanità Pubblica, Università di Verona (FFC#18/2019. New)

Background and rationale. *Achromobacter xylosoxidans* is frequently isolated in sputum samples from CF patients. Although its clinical role is not fully clear yet, chronic infection has been associated with lung inflammation, increased frequency of exacerbations and decline of the respiratory function, and is usually complicated by multidrug resistance.

Hypothesis and objectives. *A. xylosoxidans* pathogenicity is probably related to virulence features supporting invasion and survival in a hostile environment like CF lungs, similarly to other CF



Maria M. Lleò, responsabile del progetto di ricerca

pathogens. We aim to identify these features and to evaluate their impact on host response and respiratory decline.

Essential methods. The pathogenic potential of 54 *A. xylosoxidans* clinical strains isolated from 26 CF patients will be first evaluated in *G. mellonella* larvae. After whole genome sequencing, the presence of virulence genes will be investigated to identify markers associated with pathogenicity as assessed in *G. mellonella*. Cytotoxicity and epithelial disruption will be evaluated in vitro on human CF bronchial epithelial cells. Pro-inflammatory effects will be assessed in vivo in infected CFTR-knockout mice. Clinical data (infection status, lung function, pulmonary exacerbations, transplantation/death, genotype) of the carrier patients will be correlated to the pathogenic features of the infecting strains.

Preliminary results. Within a group of 60 patients followed at the CF Center of Verona, 20% (n=12) presented lung infection with *A. xylosoxidans*. We observed that diverse CF clinical strains show different pathogenic degrees. We detected extracellular proteases, which might damage lung tissue and induce host inflammatory response. Through genome analysis of a few strains, we found more than 70 virulence genes; the presence of genes related to type III secretion system suggests a cytotoxic potential.

Expected results. We expect to identify genetic virulence markers associated with *A. xylosoxidans* pathogenicity and to link these features to the clinical conditions of carrier patients. Nowadays, in Italy, lung infection with *A. xylosoxidans* is frequently not treated due to a lack of knowledge about its clinical impact. The results of this investigation will contribute to elucidate the pathogenic potential and clinical role of *A. xylosoxidans*, and to support the development of new treatment regimens.

Studio della patogenicità e del ruolo clinico di *Achromobacter xylosoxidans* nell'infezione polmonare in fibrosi cistica.

Problema e ragioni dello studio. *Achromobacter xylosoxidans* viene frequentemente isolato da campioni di escreato di pazienti FC. Sebbene il suo ruolo clinico non sia ancora chiaro, l'infezione cronica è stata associata con un declino della funzionalità respiratoria e con infiammazione polmonare, ed è solitamente complicata dalla resistenza agli antibiotici.

Ipotesi e obiettivi. La patogenicità di *A. xylosoxidans* è probabilmente correlata a fattori di virulenza che supportano l'invasione e la sopravvivenza in un ambiente ostile come i polmoni dei pazienti con FC, in mondo simile ad altri patogeni FC. Lo scopo del progetto è identificare tali fattori e valutare il loro impatto sulla risposta dell'ospite e sul declino respiratorio.

Metodi essenziali. La patogenicità di 54 ceppi clinici di *A. xylosoxidans* isolati da 26 pazienti FC verrà valutata in larve di *Galleria mellonella*. Il genoma dei ceppi batterici verrà sequenziato e analizzato per la presenza di geni di virulenza, allo scopo di identificare dei marcatori associati alla patogenicità osservata nelle larve. Citotossicità e danno tissutale saranno valutati in vitro su cellule epiteliali bronchiali umane. L'attività pro-infiammatoria sarà valutata in vivo in topi FC. I dati clinici (stato dell'infezione, funzionalità polmonare, esacerbazioni polmonari, trapianto/mor-

te, genotipo) dei pazienti infetti saranno correlati alla patogenicità dei relativi ceppi.

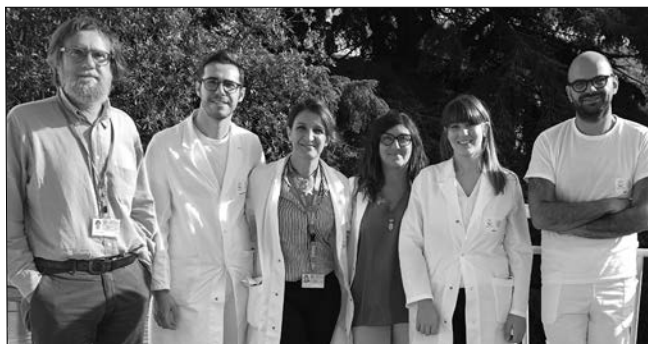
Risultati preliminari. In un gruppo di 60 pazienti seguiti presso il Centro FC di Verona, ben il 20% (n=12) ha presentato infezione polmonare da *A. xylosoxidans*. Abbiamo osservato che diversi ceppi clinici mostrano diversi gradi di patogenicità, e che alcuni possono secernere proteasi, enzimi extracellulari che possono danneggiare il tessuto polmonare e indurre una risposta infiammatoria. Tramite analisi genomica di alcuni ceppi, abbiamo individuato più di 70 geni di virulenza, alcuni dei quali suggeriscono che *A. xylosoxidans* possa provocare citotossicità.

Risultati attesi. I risultati attesi sono l'identificazione di marcatori genetici di virulenza associati alla patogenicità di *A. xylosoxidans*, e l'associazione di queste caratteristiche alle condizioni cliniche dei pazienti infetti. Ad oggi, in Italia, l'infezione polmonare da parte di *A. xylosoxidans* non viene normalmente trattata, a causa della scarsa conoscenza dell'impatto clinico di questo patogeno. I risultati di questo studio contribuiranno a stabilire la potenziale patogenicità e il ruolo clinico di *A. xylosoxidans*, e a supportare lo sviluppo di nuovi regimi terapeutici mirati.

25. Patient Engagement in Cystic Fibrosis: a cross-sectional multi-stakeholder study

Casciaro R¹, Ciprandi R¹, Pescini R¹, Cresta F¹, Garuti S¹, Favilli F¹, Graffigna G², Barello S², Palamenghi L², Castellani C¹

¹Cystic Fibrosis Center, IRCCS Giannina Gaslini Institute, Genoa, Italy, ²EngageMinds Hub Consumer & Health Engagement Research Center, Catholic University of the Sacred Heart, Milan, Italy (FFC#25/2019. New)



Rosaria Casciaro, terza da sinistra, con lo staff di ricerca

Background and rationale. Patient centred model in medicine considers patient "expert" about his/her past of illness. Patient engagement is based on establishing an effective partnership with patients for improving adherence to medical prescriptions and alliance with healthcare team (Forbat et al., 2009). Scientific evidences explain caregivers' crucial role for improving therapeutic success potentialities (Bernabeo & Holmboe, 2013).

Hypothesis and objectives. In according to the hypothesis about a relation among patients, caregivers and doctors engagement, we intend to study factors related to different psychosocial variables, predictors of the engagement. Primary objective of this study is investigating the engagement of patients affected by Cystic Fibrosis and analyzing caregiver engagement. Furthermore we intend to study clinicians' involvement towards healthcare system and doctor-patient relation.

Essential methods. This is an observational cross-sectional study composed of two sequential phases: quantitative (through administration of questionnaires to patients, caregivers and clinicians) and qualitative (interviews to patients and adolescent patients' car-

egivers). Quantitative data collected will be developed through descriptive and multivariate statistical analysis; qualitative data will be analyzed with IPA (Interpretative Phenomenological Approach).

Preliminary Results. Results collected until now prove a positive patient engagement (66% of the sample); patients act in a proactive manner towards the disease and have realized most of the needed behavioural changes. Furthermore it has come to light a low adherence to pharmacological therapies in 55% of the sample. What we expect from the progression of this study is the confirmation of low medication adherence, especially in patients with daily high numerosness of drugs, inhalation therapies and respiratory physiotherapy.

Conclusions. This study aims to identify factors that contribute to promote the engagement in CF patients and their caregivers, with a specific attention to clinicians' role, adequately supported by psychologists' intervention. Investigating psychological factors linked to health-related aspects has a value for good clinical practice and for managing this chronic disease, that compromises patients' and also caregivers' quality of life. In this way we wish to achieve suitable tools for being validated in multicenter studies to sustain the importance of Patient Engagement.

Il coinvolgimento attivo nel programma di cura del paziente con Fibrosi Cistica: uno studio trasversale con le diverse parti interessate

Problema e ragioni dello studio. Il modello centrato sul paziente, in medicina, considera il paziente "esperto" del suo vissuto di malattia. Il coinvolgimento attivo del paziente è basato sulla costruzione di un'efficace collaborazione per migliorare l'aderenza alle prescrizioni mediche e l'alleanza col team sanitario (Forbat et al., 2009). Le evidenze scientifiche illustrano il ruolo cruciale dei caregiver per migliorare le potenzialità di successo terapeutico (Bernabeo & Holmboe, 2013).

Ipotesi e obiettivi. In accordo con l'ipotesi di una relazione tra il coinvolgimento attivo del paziente, del caregiver e del medico, intendiamo studiare i fattori relativi alle diverse variabili psicosociali. Obiettivo principale di questo studio è misurare il coinvolgimento dei pazienti affetti da fibrosi cistica e indagare tale aspetto nei caregiver. Inoltre intendiamo studiare il coinvolgimento attivo dei clinici nei confronti del sistema sanitario e la relazione medico-paziente.

Metodi essenziali. Si tratta di uno studio osservazionale trasversale composto da due fasi sequenziali: quantitativa (attraverso la somministrazione di questionari a pazienti, caregiver e clinici) e qualitativa (colloqui rivolti a pazienti e caregiver di pazienti adolescenti). L'elaborazione dei dati sarà caratterizzata da analisi statistica per la parte quantitativa e analisi delle aree tematiche dei colloqui per la parte qualitativa.

Risultati preliminari. I risultati raccolti finora dimostrano un coinvolgimento positivo dei pazienti (66% del campione), che agiscono in modo proattivo nei confronti della malattia e hanno messo in atto la maggior parte dei cambiamenti comportamentali necessari. È emersa, d'altra parte, una bassa aderenza alle terapie farmacologiche (dato noto in letteratura) nel 55% del campione.

Conclusioni. Questo studio ha lo scopo di identificare i fattori che contribuiscono a promuovere il coinvolgimento attivo nei pazienti con fibrosi cistica e nei loro caregiver, con un'attenzione specifica al ruolo dei clinici, adeguatamente supportato dall'intervento dello psicologo. Indagare tali aspetti relativi alla salute assume valore per una buona pratica clinica e per la gestione di tale patologia cronica, che compromette la qualità della vita del paziente ed anche del caregiver. Auspichiamo dunque di ottenere strumenti adeguati da poter validare in studi multicentrici per sostenere l'importanza del coinvolgimento attivo dei pazienti.

POSSIBLE TARGETS AND MECHANISMS OF CFTR MODULATORS

26. Proteomic profiling of F508del-CFTR cells to identify new pharmacological targets for CFBraccia C^{1,4}, Tomati V², Liessi N³, Pedemonte N² and Armirotti A³¹D3Pharmachemistry, 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, Genova, Italy (FFC#1/2018. Concluded – FFC#1/2019. Extension)

Andrea Armirotti con due collaboratrici di ricerca

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. In the frame of first year project (FFC#1-2018), we quantified > 4000 proteins in the bronchial epithelium of CF patients, and we found that 154 of them are significantly dysregulated by the disease⁵. We then applied the same technique to CFBE41o- cells, following the abolition of the four primary targets (FAU, RNF5, LRRC59 and PHF12).

Essential methods. We performed the proteomic analysis by using SWATH-MS3 and a dedicated protocol optimized for the proteomic investigation of the human bronchial epithelium. We used publicly available software tools to annotate the functions of the dysregulated proteins and to investigate protein networks.

Results. Our results show that changes in protein expression are clearly detectable after the silencing of the secondary targets, thus supporting the feasibility of our project. Indeed, we identified seven and eleven proteins (secondary targets) that are respectively up- and down-regulated following the abolition of the primary targets. We also identified four biological pathways that are significantly down-regulated by the same CFTR rescuing maneuvers. We then selected a number of secondary targets and we silenced them in CFBE41o-models. Very promisingly, some of these proteins triggered a significant rescue of CFTR.

Conclusions. With the use of proteomics and bioinformatics, we managed to identify a set of proteins (secondary targets) that, when silenced in CFBE41o-, trigger a significant rescue of CFTR.

Extension project. The challenge is now to translate these results to primary cell cultures from CF patients, by modulating these targets by mean of commercially available pharmacological modulators (FFC#1-2019) with the aim to confirm a significant CFTR rescue in this model.

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 FC 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.

Ipotesi e obiettivi.

Negli anni scorsi, sono state individuate alcune proteine (target primari) che interagiscono con la maturazione di CFTR e la cui modulazione farmacologica consentirebbe un miglioramento dei sintomi della FC. Mediante una estesa investigazione dei cambiamenti nell'espressione proteica risultanti dall'abolizione dei target primari, è possibile individuare un nuovo set di bersagli meno generici e molecolarmente più specifici per CFTR.

Metodi essenziali. Questo studio è stato condotto usando la proteomica, una potente tecnica per misurare le proteine in un sistema biologico, che il nostro gruppo ha già opportunamente ottimizzato per investigare l'epitelio bronchiale umano. I dati ottenuti sono poi stati analizzati con opportuni algoritmi bioinformatici, utili a rilevare collegamenti funzionali tra proteine.

Risultati. Abbiamo misurato 4000 proteine nell'epitelio bronchiale di pazienti CF e ne abbiamo individuato 154 che sono significativamente alterate dalla malattia. Abbiamo poi applicato questo protocollo analitico, in combinazione con altre tecniche in grado di studiare la biologia della cellula, ad un modello in-vitro di FC e abbiamo identificato un gruppo di proteine che, se modulate geneticamente, portano ad un significativo recupero di CFTR e sono quindi candidate per future progetti di sviluppo di nuovi farmaci.

Conclusioni. Il risultato atteso per questo progetto è l'individuazione di un numero di proteine potenzialmente utili per il trattamento farmacologico della FC e per il miglioramento delle condizioni di vita dei pazienti.

Progetto di estensione. Dopo aver individuato questi target nel modello in vitro (CFBE41o-), l'attenzione adesso si concentrerà su cellule primarie provenienti da pazienti FC. A tale scopo, nell'ambito dell'estensione del progetto, cercheremo dei composti chimici in grado di interagire con i target secondari e li proveremo sulle cellule primarie di pazienti, allo scopo di capire se sono in grado di favorire il recupero funzionale di CFTR.

27. Dissecting the rescue mechanisms mediated by CFTR correctors

Baroni D, Brandas C

Istituto di Biofisica, Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR), Genova (FFC#3/2018. Ongoing)

Background and rationale. Cystic fibrosis (CF) is a genetic disease associated with the defective function of the CF conductance regulator (CFTR) protein that in airway epithelia causes obstructive disease and chronic bacterial infections. The most prevalent CF-causing mutation, the deletion of phenylalanine at position 508 (F508del), leads to CFTR misfolding, trafficking defects and premature degradation. Several correctors, able to partially rescue F508del CFTR processing defects, have been identified. Clinical trials demonstrated that, unfortunately, mono-therapy with the best correctors identified to date does not ameliorate lung function or sweat chlo-



Debora Baroni, responsabile del progetto di ricerca

ride concentration in CF patients. Understanding the mechanisms exerted by today available correctors to increase mutant F508del-CFTR expression is essential for the development of new CF-therapeutics.

Hypothesis and objectives. The main objective accomplished during the first year of the project was to identify mutant F508del and wild type (WT) CFTR domains whose expression was mostly affected by the action of correctors and to disclose their mechanisms of action.

Essential methods. Complementary biochemical methods - heterologous expression of isolated domains and protein stability assays - were used to recognize the CFTR domains involved in correctors' mechanisms of rescue. Real time-PCR experiments and assays aimed to test the functionality of rescued WT and F508F-CFTR channels corroborated retrieved data.

Preliminary results. Correctors under study, did not influence neither the total expression nor the maturation of WT-CFTR. Contrarily, they significantly enhanced the expression and the maturation of the full length F508del protein. VX809, VX661 and VX325 seem to specifically improve the expression and the maturation of mutant CFTR N-half. Contrarily CFTR C-half appears to be the region mainly affected by corr4a. VX809 stabilizes both WT- and F508del-CFTR N-half isoforms, while VX661 and VX325 enhanced the stability only of mutant F508del-CFTR.

Conclusions. Correctors exert their action on different regions of the CFTR, opening the perspective to use a combination of correctors targeting two or more CFTR-F508del domains to improve or even restore the function of mutant CFTR and ameliorate CF patients' symptoms and life conditions. In particular, the CFTR N-half demonstrated to be as a hot spot region whose expression and stabilization properties should be kept into deep consideration in the search and design of more effective correctors.

Analisi del meccanismo d'azione dei correttori della proteina CFTR

Problema e ragioni del progetto. La fibrosi cistica (FC) è una malattia genetica causata da mutazioni della proteina CFTR, che determinano, nelle vie aeree, l'insorgenza di malattie ostruttive e infezioni batteriche croniche. La mutazione più frequente della CFTR è la delezione della fenilalanina in posizione 508 (F508del) che causa malfunzionamento della CFTR, difetti di traffico e degradazione prematura della proteina. Diversi farmaci, definiti correttori, in grado di recuperare parzialmente la proteina CFTR-F508del sono stati identificati. Studi clinici hanno però dimostrato che, sfortunatamente, la terapia con i migliori correttori identificati fino ad oggi non migliora la funzionalità polmonare o la concentrazione di cloruro nel sudore nei pazienti affetti da FC. Comprendere il meccanismo d'azione dei correttori oggi disponibili è essenziale per lo sviluppo di nuovi e più efficaci farmaci mirati alla correzione del difetto di base della FC.

Ipotesi e obiettivi. L'obiettivo principale raggiunto durante il primo anno del progetto è stata l'identificazione dei domini della proteina mutata (F508del) e nativa (WT) la cui espressione è principalmente influenzata dall'azione dei correttori.

Metodi essenziali. Metodi biochimici complementari - espressione eterologa di domini isolati e saggi di stabilità proteica - sono stati usati per riconoscere i domini della CFTR coinvolti nel meccanismo d'azione dei correttori. Esperimenti real-time PCR insieme ad altri mirati a testare la funzionalità dei canali CFTR mutati e nativi dopo trattamento con i correttori hanno corroborato i risultati ottenuti.

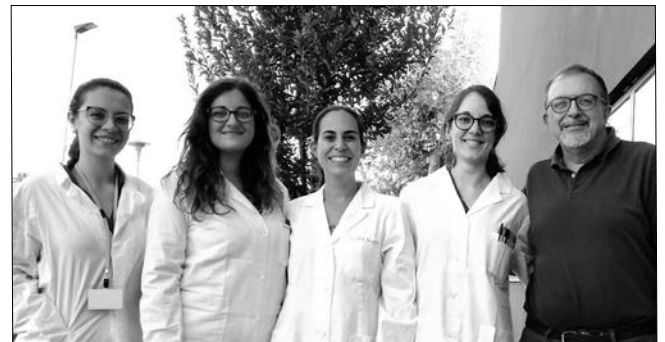
Risultati preliminari. I correttori selezionati non hanno influenzato né l'espressione totale né la maturazione della proteina CFTR nativa. Al contrario, essi hanno migliorato in modo significativo l'espressione e la maturazione della CFTR-F508del. VX809, VX661 e VX325 sembrano migliorare in modo specifico l'espressione e la maturazione della prima metà della CFTR mutante. Al contrario, la seconda metà della CFTR sembra essere la regione principalmente interessata dall'azione di corr4a. VX809 stabilizza la prima metà della proteina in entrambe le sue isoforme, nativa e mutata, mentre VX661 e VX325 migliorano la stabilità della prima metà della CFTR solo se questa è affetta dalla mutazione F508del.

Conclusioni. I correttori esercitano la loro azione su diverse regioni della CFTR, aprendo così la prospettiva di utilizzare una combinazione di correttori che agiscono su regioni diverse della CFTR per migliorare o persino ripristinare la funzione della CFTR mutante e migliorare i sintomi e le condizioni di vita dei pazienti con FC. In particolare, la prima metà della CFTR si è dimostrata la regione maggiormente interessata dall'azione dei correttori che abbiamo utilizzato, in termini di aumento sia di espressione che di stabilità della proteina mutata. Questo dato dovrebbe essere tenuto in grande considerazione nella ricerca e nella progettazione di correttori più efficaci.

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

Musante I, Renda M, Venturini A, Galiotta LJV

Telethon Institute of Genetics and Medicine (TIGEM, Pozzuoli, Italy) (FFC#2/2017. Concluded - FFC#6/2019. Extension)



Luis Galiotta con le ricercatrici del suo laboratorio

Background and Rationale. F508del, the most frequent mutation in cystic fibrosis (CF), impairs the folding and stability of the CFTR chloride channel. Despite the treatment with pharmacological correctors a significant fraction of mutant CFTR (F508del-CFTR) is eliminated by cell quality control mechanisms based on ubiquitination and proteasome/lysosome-dependent degradation.

Hypothesis and Objectives. Our proposal aims at the identification of deubiquitinases (DUBs) and ubiquitin ligases (UBLs) that control mutant CFTR degradation. Identification of the main mechanisms responsible for mutant CFTR degradation, and development of pharmacological strategies to contrast them, may help to achieve better levels of CFTR correction.

Essential Methods. We used pharmacological modulators and gene silencing to identify the DUBs that are involved in F508del-CFTR processing.

Results. Using gene silencing by siRNA transfection, we have

identified a panel of DUBs that influence F508del-CFTR rescue by corrector VX-809. In particular, knockdown of USP13 results in decreased F508del-CFTR function. Therefore, these DUBs may have a protective role on F508del-CFTR by contrasting the process of ubiquitination that occurs even in the presence of the corrector. Intriguingly, we also found DUBs whose silencing amplifies mutant CFTR rescue. In this case, we need to postulate a more indirect mechanism in which the DUB activity affects the expression/function of a regulator of F508del-CFTR processing.

Conclusions. A better knowledge of the mechanisms that limit mutant CFTR rescue can lead to improved therapeutic strategies.

Extension project. DUBs and UBLs proteins that, once silenced, cause a modification of mutant CFTR function have been identified. Now the mechanisms of action associated with these effects will be studied through complementary techniques that can clarify the type of interaction (physical and/or functional) between such proteins and CFTR. The identification of proteins that control mutant CFTR degradation will be important to design novel pharmacological strategies.

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

Problema e ragioni dello studio. La mutazione più frequente nei pazienti con fibrosi cistica (FC) è F508del, che provoca un grave difetto di stabilità e maturazione della proteina CFTR. Per il trattamento dei pazienti con F508del sono a disposizione dei farmaci, chiamati correttori, che però mostrano un'efficacia limitata.

Ipotesi e obiettivi. La nostra ipotesi è che la proteina CFTR con F508del, 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 e attaccano ad essa l'ubiquitina, una specie di etichetta molecolare che ne determina l'eliminazione. 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 di identificare le UBL e le DUB che controllano il destino della proteina CFTR mutata.

Metodi essenziali. Per il nostro studio abbiamo utilizzato cellule in coltura esprimenti la proteina CFTR con la mutazione F508del. In queste cellule abbiamo silenziato separatamente l'espressione di tutte le DUB conosciute e ne abbiamo determinato il conseguente effetto sulla funzione ed espressione della proteina CFTR mutata.

Risultati. Abbiamo identificato un piccolo pannello di DUB, in particolare la proteina USP13, che, se opportunamente silenziate, mostrano di cambiare la funzione della proteina CFTR mutata. L'analisi del cosiddetto "interattoma", cioè del complesso di proteine che interagiscono con USP13 e con altre DUB collegate a CFTR, ha anche evidenziato delle UBL particolarmente importanti.

Conclusioni. I nostri risultati potranno favorire lo sviluppo di strategie per migliorare l'efficacia di trattamenti farmacologici per la proteina con F508del e altre mutazioni simili. Si può infatti ipotizzare lo sviluppo di farmaci mirati che, promuovendo l'attività di DUB e/o inibendo l'attività di UBL, avranno l'effetto desiderato di proteggere la CFTR mutata favorendo l'azione di correttori.

Problema e ragioni dello studio. La mutazione più frequente nei pazienti con fibrosi cistica (FC) è F508del, che provoca un grave difetto di stabilità e maturazione della proteina CFTR. Per il trattamento dei pazienti con F508del sono a disposizione dei farmaci, chiamati correttori, che però mostrano un'efficacia limitata.

Ipotesi e obiettivi. La nostra ipotesi è che la proteina CFTR con F508del, 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 e attaccano ad essa l'ubi-

quitina, una specie di etichetta molecolare che ne determina l'eliminazione. 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 di identificare le UBL e le DUB che controllano il destino della proteina CFTR mutata.

Metodi essenziali. Per il nostro studio abbiamo utilizzato cellule in coltura esprimenti la proteina CFTR con la mutazione F508del. In queste cellule abbiamo silenziato separatamente l'espressione di tutte le DUB conosciute e ne abbiamo determinato il conseguente effetto sulla funzione ed espressione della proteina CFTR mutata.

Risultati. Abbiamo identificato un piccolo pannello di DUB, in particolare la proteina USP13, che, se opportunamente silenziate, mostrano di cambiare la funzione della proteina CFTR mutata. L'analisi del cosiddetto "interattoma", cioè del complesso di proteine che interagiscono con USP13 e con altre DUB collegate a CFTR, ha anche evidenziato delle UBL particolarmente importanti.

Conclusioni. I nostri risultati potranno favorire lo sviluppo di strategie per migliorare l'efficacia di trattamenti farmacologici per la proteina con F508del e altre mutazioni simili. Si può infatti ipotizzare lo sviluppo di farmaci mirati che, promuovendo l'attività di DUB e/o inibendo l'attività di UBL, avranno l'effetto desiderato di proteggere la CFTR mutata favorendo l'azione di correttori.

Progetto di estensione. Sono state identificate le proteine DUBs e UBLs che, una volta silenziate, causano modificazione di funzione del mutante CFTR. Ora, saranno studiati i meccanismi associati con questi effetti attraverso tecniche complementari che possono chiarire il tipo di interazione (fisica e/o funzionale) tra tali proteine e CFTR. L'identificazione di proteine che controllano la degradazione del mutante CFTR sarà importante per disegnare nuove strategie farmacologiche.

29. 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, Cabrini G², Dececchi MC³, Tamanini A², Cipolli M³, Corradini R⁴

¹Department of Life Sciences and Biotechnology, Ferrara, Italy,

²Laboratory of Molecular Pathology - University Hospital of Verona, Italy,

³Cystic Fibrosis Center, University Hospital of Verona, Italy, ⁴Department of Chemistry, Life Sciences and Environmental Sustainability, University of Parma, Italy. (FFC#7/2018. Ongoing)



Roberto Gambari, secondo da sinistra, con i collaboratori del suo laboratorio

Background and rationale. Regulation of CFTR by microRNAs has been explored in cystic fibrosis (CF). Modulation of miRNA expression can be achieved by the use of pre-miRNAs as well as using antagomiRNA, including peptide-nucleic acids (PNAs).

Hypothesis and objectives. Objectives of CF-miRNA-THER are: (a) identification and characterization of key microRNAs 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) studies on changes of the gene expression in CF using PNAs targeting microRNAs; (d) activation of CFTR transcription and increase of CFTR content; (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. Next Generation sequencing, RT-qPCR and digital RT-ddPCR, Western blotting. Suitable delivery systems have been studied. Content of miRNAs in body fluids from CF patients has been carried out in plasma samples.

Preliminary results. We have demonstrated that PNAs against miR-145-5p, miR-494-3p, miR-101-3p (all 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 and by PNAs against miR-96-5p and miR-183-5p (both targeting ezrin mRNA). We have further studied specificity and activity of a PNA masking miR-145-5p binding sites, which was demonstrated to increase CFTR mRNA content. We have identified by NGS the global changes in the miRNome following PNA treatment. We have characterized novel delivery systems for PNAs and pre-miRNAs based on (a) porous silicon nanoparticles and (b) a macrocyclic multivalent tetraargininocalix[4]arene. 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 the CFTR protein. This therapeutic goal is very important for the treatment of cystic fibrosis.

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 miRNA" alla medicina di precisione (CF-miRNA-THER)

Ragioni dello studio. La modulazione dell'espressione della proteina CFTR da parte di microRNA (miRNA, molecole ad attività regolatoria) è stata dimostrata in fibrosi cistica (FC). La modulazione dei miRNA può essere ottenuta mediante l'uso di molecole pre-miRNA (in grado di riprodurre l'attività di miRNA), nonché utilizzando molecole antagomiR, tra cui quelle basate su acidi peptido-nucleici (PNA) (in grado di inibire i miRNA).

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

Metodi essenziali. Sequenziamento del trascrittoma RT-qPCR and digital RT-ddPCR, Western blotting. Sono state sviluppate molecole antagomiR basate su PNA e adeguati sistemi di veicolazione.

Risultati preliminari. 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, miR-494-3p e miR-101-3p (tutti diretti al CFTR mRNA) inducono un aumento di CFTR in 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) e con PNA contro miR-96-5p e miR-183-5p (entrambi in grado di colpire l'mRNA per l'ezrina). Abbiamo ulteriormente studiato la specificità e l'attività di un PNA che maschera i siti di legame di miR-145-5p sull'mRNA CFTR, che ha dimostrato di aumentare l'espressione di CFTR. Abbiamo identi-

ficato i cambiamenti globali dei miRNA dopo trattamento con PNA. Abbiamo caratterizzato nuovi sistemi di veicolazione dei PNA.

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.

30. Restoring defective proteostasis in Cystic Fibrosis: novel strategies for F508del-CFTR repair

Esposito S¹, Vilella VR¹, Ferrari E^{1,2}, Monzani R^{1,2}, Venerando A³, Tosco A⁴, Castaldo A⁴, Sepe A⁴, Cimbalo C⁴, Rossetto M⁵, Bosello Travain V⁵, Roveri A⁵, Miotto G⁵, Maiorino M⁵, Ursini F⁵, Maiuri L^{1,2}, Raia V⁴, Cozza G⁵

¹European Institute for Research in Cystic Fibrosis (IERFC), San Raffaele Institute, Milan., ²Department of Health Sciences, University of Eastern Piedmont, Novara, ³Department of Comparative Biomedicine and Food Science, University of Padua., ⁴Department of Translational medical sciences, University of Naples Federico II, Regional Cystic Fibrosis Care Unit, Naples., ⁵Department of Molecular Medicine, University of Padua. (FFC#4/2019. New)



Giorgio Cozza, primo a sinistra, con collaboratori e, in alto, Valeria Raia e Speranza Esposito, partner del progetto

Background and Rationale. Cystic Fibrosis (CF) is a life-shortening genetic disorder, caused by mutations of the ion channel 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. Our novel approach aims at targeting the derailed CF intracellular environment, through a combination of drugs able to inhibit TG2 activity, specific protein kinases and modulate the nuclear factor Nrf2.

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.

Preliminary results. A) Identification of novel TG2 inhibitors: Exploiting a novel docking site of TG2, close to the catalytic cleft, we identified a series of novel promising compounds (CT-family). In particular, CT11 is able to restore CFTR function equally to VX809 (>70%), at a concentration more than 10 fold lower (0.1 μ M vs 3 μ M), in both CFBE41o- cells and *ex vivo* in cells collected by nasal brushing from CF patients. Immunoblot detection of CFTR confirms that, after treatment with CT11, the channel resides at the PM, Beclin 1-dependent autophagy is restored and inflammation biomarkers are reduced. Encouraging, but still preliminary results, were also obtained with the natural compound SEC1 which is able to restore 60% of F508del-CFTR function in CFBE41o.

B) Identification of novel modulators of protein kinase and Nrf2: by applying our discovery strategies against our target models,

we have identified an approved pharmaceutical entity (AMX) able to inhibit a specific protein kinase and consequently to restore F508del-CFTR function in CFBE41o- cells. On the other side we have isolated a series of natural compounds (SPH-family) able to upregulate Nrf2, leading to the rescue F508del-CFTR function at the PM.

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.

Ripristino della proteostasi difettiva in fibrosi cistica: nuove strategie per il recupero di CFTR-F508del

Problema e ragioni dello studio. La Fibrosi Cistica (FC) è una malattia genetica a prognosi infausta, causata da mutazioni della proteina CFTR. La proteina portatrice della mutazione più comune, F508delCFTR, non è in grado di stationare a livello della membrana plasmatica (MP). Attualmente le terapie disponibili per i pazienti omozigoti per la F508del risultano essere poco efficaci. Il nostro nuovo approccio, mira a migliorare il compartimento intracellulare che causa la bassa espressione del CFTR sulla superficie cellulare, attraverso la combinazione di molecole in grado di inibire l'attività di TG2 e di specifiche proteine chinasi e modulare il fattore nucleare Nrf2.

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 preliminari. A) Identificazione di nuovi inibitori di TG2: Sfruttando l'identificazione di un nuovo sito di docking (orientamento molecolare.n.d.r) della TG2, vicino alla tasca catalitica (porzione di molecola implicata nella formazione di legami, n.d.r.), abbiamo identificato una serie di promettenti molecole (famiglia CT). In particolare, CT11 è in grado di ripristinare la funzione del CFTR in maniera paragonabile al VX809 (>70%), ad una concentrazione più di 10 volte inferiore (0.1 μM vs 3 μM), sia in modelli cellulari (CFBE41o-), sia ex vivo in cellule derivate da brushing nasale di pazienti CF. L'analisi degli immunoblot conferma il recupero della banda del CFTR nella MP, il ripristino del marcatore di autofagia Beclin1 e la riduzione dei marker di infiammazione. Risultati incoraggianti, ma ancora preliminari, sono stati ottenuti con il composto naturale SEC1, che è in grado di recuperare il 60% della funzione del F508delCFTR in cellule CFBE41o-. **B) Identificazione di nuovi modulatori di proteine chinasi e Nrf2:** Applicando la nostra strategia di identificazione di nuove molecole verso i bersagli selezionati durante il progetto, abbiamo identificato un farmaco approvato (AMX) capace di inibire una specifica chinasi e di recuperare la funzione del F508delCFTR in cellule CFBE41o-. Dall'altra parte, abbiamo isolato una serie di composti naturali (famiglia SPH) in grado di aumentare i livelli di Nrf2, recuperando di conseguenza la funzione del canale nella MP.

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 F508delCFTR; b) aprendo le porte ad una nuova fase clinica per una combinazione di molecole (o un singolo farmaco) possibilmente capaci di migliorare la vita dei pazienti affetti da FC.

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

Piacentini M¹, Maiuri L², Delogu G³, Rossin F³

¹Università Roma Tor Vergata, Dip. Biologia, ²Istituto Europeo Ricerca Fibrosi Cistica - IERFC c/o Istituto San Raffaele, Milano, ³Università Cattolica del Sacro Cuore, Fondazione Policlinico Gemelli, Istituto di Microbiologia, Roma (FFC#10/2018. Concluded)



Mauro Piacentini, responsabile del progetto di ricerca

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 addition to its crosslinking activity, TG2 may also act as protein disulphide isomerase. It has been speculated and 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, such as cysteamine, can ameliorate the disease phenotype; cysteamine is a small molecule with pleiotropic functions, among which the capability of controlling TG2 over-activation 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 using 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.

Results. Our findings indicate that cysteamine can improve the clearance of other pathogenic mycobacteria such as *Mycobacterium abscessus*. Moreover, we found that TG2 is able to control the innate immune response by regulating type 1 interferon production, thus possibly explaining the negative role of the enzyme in the infection process.

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.

Capire il meccanismo d'azione dell'inibitore della TG2, cisteamina, sulla 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 regola-

zione 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. È stata valutata l'attività della cisteamina contro l'infezione batterica e l'effetto sull'attivazione della risposta immunitaria nei modelli di FC. Inoltre, sono stati analizzati 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. Abbiamo utilizzato modelli di topo infettati con Mabs e *P. aeruginosa*, nonché cellule del sangue da pazienti con FC. È stato studiato l'effetto dell'inibitore del TG2 sull'attivazione della risposta immunitaria nei modelli di FC dopo infezione batterica.

Risultati. I nostri risultati indicano che la cisteamina può migliorare la rimozione di *Pseudomonas aeruginosa* e di altri micobatteri patogeni come *Mycobacterium abscessus*. Inoltre la TG2 controlla la risposta immunitaria, regolando la produzione d'interferone 1.

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.

32. Small molecules modulating splicing as novel CFTR amplifier drugs

Duga S¹, Straniero L¹, Perriera R², Rimoldi V¹, Soldà G¹, Asselta R¹, Lentini L², Melfi R²

¹Department of Biomedical Sciences, Humanitas University, Pieve Emanuele – Milan, Italy, and IRCCS Istituto Clinico Humanitas, Rozzano, Milan, Italy, ²Department of Biological, Chemical and Pharmaceutical Sciences and Technologies, University of Palermo, Italy (FFC#5/2019. New)



Stefano Duga, responsabile del progetto, con le ricercatrici di laboratorio e, in alto a destra, Raffaella Melfi, partner del progetto

Background and Rationale. Despite being a lethal disease, cystic fibrosis (CF) has not been eradicated by human evolution and disease allele frequencies as high as 1:20 are seen in Caucasian populations. This evidence, together with the presence of a highly prevalent haplotype (associated with the F508del mutation) in most populations, suggested the hypothesis that reduced CFTR function was selected over evolution as it conferred an increased resistance to infectious diseases. Literature data and our preliminary results also

indicate that CFTR splicing is particularly inefficient, suggesting that also unusually high levels of missplicing could have been advantageous over evolution. This might explain the frequency (up to 5% in the general population) of some variants known to severely impair normal CFTR splicing, such as the TGMtn polymorphism, which modulates exon-10 inclusion and is associated with monosymptomatic forms of CF.

Hypothesis and objectives. Our main hypothesis is that a fraction of the population has an endogenous reservoir of precursor CFTR mRNA molecules that are incorrectly-processed by the splicing machinery and could represent a source of additional CFTR protein, provided that the splicing defect can be corrected.

Our objectives are: 1. Define the actual amount of misspliced CFTR mRNAs that could be corrected to increase functional CFTR protein; 2. Confirm that kinetin/RECTAS (small molecules already successfully used as splicing correctors in other inherited diseases) can increase CFTR activity in vitro; 3. Assess target vs. off-target splicing effects of kinetin/RECTAS.

Essential methods

1. Determine the actual amount of full-length functional CFTR mRNA by ultra-long read RNA sequencing in different tissues relevant for CF; 2. Confirm that treatment with kinetin/RECTAS in vitro can increase not only wild-type CFTR mRNA levels but also CFTR protein and function; 3. Define the global impact of kinetin/RECTAS on splicing by RNAseq.

Preliminary results. We demonstrated that it is possible to partially correct the splicing defect associated with some alleles at the TGMtn polymorphism by treating cell lines and patient-derived cells with the plant hormone kinetin or its analogue RECTAS.

Conclusions. We expect to prove that kinetin/RECTAS can be used as amplifier drugs to increase CFTR protein, laying the foundations to explore possible synergistic effects on modulator treatments.

Utilizzo di piccole molecole che modulano lo splicing di CFTR come nuovi farmaci amplificatori

Problema e ragioni dello studio. La fibrosi cistica (FC) è causata da mutazioni nel gene per il canale di membrana del cloro CFTR. L'elevata frequenza di portatori sani suggerisce che una ridotta funzione del canale sia evolutivamente vantaggiosa, probabilmente perché ha conferito resistenza ad alcune malattie infettive. Lo splicing di CFTR, cioè il processo responsabile della maturazione delle molecole (mRNA) che portano l'informazione per la sintesi delle proteine, è inefficiente. Questo suggerisce che anche alti livelli di mRNA non correttamente processato possano essere vantaggiosi, spiegando come mai alcune varianti che modulano lo splicing, tra cui la più importante è il polimorfismo TG(9-13)T(5,7,9), siano frequenti nella popolazione generale.

Ipotesi e obiettivi. Di recente sono diventati disponibili farmaci mutazione-specifici per il trattamento della FC. La nostra ipotesi è che mRNA di CFTR non correttamente processati rappresentino una riserva di precursori da cui ottenere proteina funzionante, a patto che il difetto di splicing sia parzialmente corretto. Qui, ci proponiamo di dimostrare che la kinetina, e il suo analogo RECTAS (entrambi precedentemente utilizzati con successo per correggere lo splicing in altre malattie genetiche), sono in grado di aumentare la funzione di CFTR in presenza di varianti che riducono l'efficienza di splicing.

Metodi. Inizieremo col definire quale sia il livello di splicing aberrante in diversi tessuti umani rilevanti per la malattia e se il trattamento con Kinetina/RECTAS possa correggere anche altri difetti di splicing del gene. Quindi verificheremo se l'effetto che abbiamo finora dimostrato esistere a livello di mRNA si traduca in un aumento della proteina e della attività del canale. Infine, verificheremo gli effetti del trattamento su altri geni, in modo da valutare possibili effetti collaterali in vista di future applicazioni cliniche.

Risultati preliminari. Abbiamo già dimostrato che è possibile correggere il difetto associato al polimorfismo TG(9-13)T(5,7,9) trattando cellule derivate da pazienti con l'ormone vegetale kinetina e il suo derivato RECTAS.

Conclusioni e possibili ricadute. La nostra ricerca porterà a dimostrare l'efficacia della kintina/RECTAS come amplificatori dell'attività di CFTR, un obiettivo importante per aumentare l'attività dei farmaci correttori e potenziatori nei pazienti con varianti che riducono l'efficienza di splicing. I nostri dati possono porre le basi per futuri trial clinici.

33. Functional role of post-translational modifications in F508del-CFTR correction

D'Amore C, Borgo C, Cesaro L, **Salvi M**

Department of Biomedical Sciences, University of Padova, Via U. Bassi 58/B, Padova. (FFC#11/2019. New, pilot)



Mauro Salvi, secondo da sinistra, responsabile del progetto assieme ai collaboratori di ricerca

Background and Rationale. Deletion of phenylalanine at position 508 in CFTR (F508del) is the most frequent mutation causative of Cystic Fibrosis (CF). F508del is responsible for defective folding and processing of CFTR, which fails to traffic to the plasma membrane (PM) and causes the majority of CFTR protein to be retained in the endoplasmic reticulum with premature degradation. CFTR is subjected to different post-translational modifications (PTMs) that could regulate protein turnover, conformation, localization, etc. and the possibility to modulate these PTMs has been suggested as a potential therapeutic strategy for F508del functional recovery. Previous reports suggest an involvement of protein kinase CK2 in the regulation of F508delCFTR. We and others have shown that CK2 activity may be required for F508del functional rescue and that its pharmacological inhibition is detrimental. Recently, it has been identified a cluster of PTMs associated with functional recovery of F508del, named PTM code. In this PTM code, the CK2-dependent phosphorylation of three serine and methylation/ubiquitylation of some lysine has been suggested to have a pivotal role in F508del functional rescue. However, it is not still clear if these PTMs are a consequence or are functional required for F508del correction.

Hypothesis and objectives. The aim of the project is to assess the real contribution of these modifications for functional F508del recovery. All the modified sites identified in the CFTR PTM code will be mutated in a plasmid expressing F508del. Mutants will be transfected in CFBE cells and their response to permissive temperature or VX-809 treatment will be assayed. Moreover, it will be also evaluated the possibility to favour F508del correction controlling the enzymes responsible of these PTMs.

Essential Methods. F508del rescue efficiency will be assayed by western blotting and by SPQ. siRNA library targeting different enzymes potentially involved in regulating these PTMs will be transfected in CFBE overexpressing F508del CFTR and YFP-H148Q/I152L, a fluorescent protein that allows measurement of physiological changes in chloride concentration. A rapid screening to assay functional F508del recovery following siRNA treatments in absence or presence of correctors will be performed as reported by Galletta's group.

Preliminary Results. To date, we have obtained all the single

CFTR mutants proposed in the project that will be analysed for their role in F508del CFTR functional recovery. In a second step multiple mutations will be obtained in the same plasmid to verify potential cross-talk effects. A siRNA library targeting about 30 proteins potentially involved in the regulation of the PTM code has been obtained and the experimental protocols for a rapid screening of siRNA effect on CFTR function using YFP-H148Q/I152L has been set up.

Conclusions. Our pre-clinical study will clarify the role of PTM code on F508del functional recovery and will verify the hypothesis that a pharmacological regulation of PTM code could favour F508del functional recovery.

Ruolo di modifiche post-traduzionali nel recupero funzionale di F508del CFTR

Problema e ragioni dello studio. La delezione di un singolo aminoacido nella posizione 508 del CFTR (F508del) è la più frequente mutazione che causa la Fibrosi Cistica. La delezione del residuo F508 è responsabile di un ripiegamento non corretto che porta alla sua ritenzione nel reticolo endoplasmatico con prematura degradazione. CFTR è soggetto a differenti modifiche post-traduzionali (dopo che la proteina è stata sintetizzata, n.d.r.) (PTMs) che ne regolano la stabilità, la conformazione e la localizzazione. La possibilità di modulare queste PTMs è stata suggerita come una potenziale strategia terapeutica per un recupero funzionale di F508del. La protein chinasi CK2 è coinvolta in alcune di queste modifiche e recenti studi suggeriscono che l'attività di CK2 possa essere necessaria per un recupero funzionale di F508del..

Recentemente è stato identificato un cluster (gruppo, n.d.r.) di PTMs che sono associate alla maturazione del CFTR sano e al recupero funzionale del mutante F508del. Queste modifiche consistono in una fosforilazione CK2-dipendente di tre siti e la metilazione/ubiquitylation di alcune lisine. Tuttavia non è stato chiarito se queste PTMs siano una conseguenza di un recupero funzionale del F508del indotto da correttori o una *conditio sine qua non* per il ripristino del canale.

Ipotesi e Obiettivi. Il principale obiettivo di questo progetto è dimostrare il reale contributo di queste PTMs in un recupero funzionale di F508del. Tutti gli aminoacidi la cui modifica è stata associata alla maturazione del canale saranno mutati nella sequenza di un plasmide codificante F508del. I mutanti saranno poi trasfettati in cellule CFBE e sarà analizzata l'efficienza nel recupero funzionale di F508delCFTR in seguito a temperatura permissiva o trattamento con il correttore VX-809. Inoltre si cercherà di dimostrare se sia possibile favorire il recupero del canale mutato agendo sugli enzimi responsabili di tali modifiche.

Metodi essenziali. Utilizzeremo cellule CFBE recanti la mutazione F508del in omozigosi. Il recupero funzionale di F508del sarà valutato mediante western blotting e SPQ. Librerie di siRNA per downregolare enzimi potenzialmente coinvolti nella regolazione di queste PTMs saranno trasfettate in cellule CFBE overesprimenti F508del e YFP-H148Q/I152L, una proteina fluorescente che permette di misurare cambiamenti fisiologici della concentrazione di cloro. Il recupero funzionale di questi mutanti in assenza o presenza di correttori sarà valutata come riportato in letteratura da altri autori.

Risultati preliminari. Ad oggi, abbiamo prodotto tutti i singoli mutanti proposti nel progetto e che saranno analizzati per il loro ruolo nel recupero funzionale di F508del. In uno step successivo, mutazioni multiple saranno prodotte nella stessa proteina per verificare potenziali effetti additivi/sinergici. È stata allestita una prima libreria di siRNA contro circa una trentina di proteine potenzialmente coinvolte nella regolazione di queste PTMs, e il protocollo sperimentale per una rapida analisi della funzionalità di F508del è stato messo a punto.

Conclusioni. Il nostro studio pre-clinico chiarirà se la modulazione di queste modifiche post-traduzionali potrà favorire o meno il recupero funzionale di F508del.

34. Targeting the signalling network controlling proteostasis and inflammation to rescue F508del-CFTR

Luini A¹, Tamanini A², Borgatti M³

¹Istituto di Biochimica delle Proteine, Dip. Scienze Biomediche CNR, Napoli, ²Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata Verona, Laboratorio di Patologia Molecolare, UOC Laboratorio Analisi, ³Dip. di Scienze della vita e biotecnologie, Università degli Studi di Ferrara (FFC#7/2019. New)



Alberto Luini, quinto da sinistra, responsabile del progetto, assieme ai ricercatori del suo laboratorio

Background and rationale. A pulmonary inflammatory process in CF patients is characterized by the presence of high number of neutrophils, which release oxygen free radicals, proteases and other products that cause pulmonary obstruction and airway damage. An increasing number of evidences, including our own, suggests that inflammatory processes act in a vicious circle to amplify themselves and also enhance the degradation of F508delCFTR, the misfolded mutant protein present in most CF patients.

Hypothesis and objectives. We propose that inflammation enhances degradation of F508delCFTR, reduces the availability of F508delCFTR for pharmacochaperones to act and thus compromises the effectiveness of corrector drugs in patients.

We propose to: a. delineate signaling pathways regulating infection/inflammation induced degradation of F508delCFTR; b. target these signaling pathways to overcome this enhanced degradation, thus allowing effective rescue by "correctors" and c. also study how these signaling pathways contribute to exacerbation of inflammation that is common in CF patients.

Essential methods. We will identify signaling pathways activated inflammatory mediators by antibody microarrays. We will test the effect of their downregulation by siRNA and/or drugs on F508delCFTR degradation as well as inflammation by western blotting, PCR and ELISA assays. Promising drugs will then be tested in primary bronchial epithelial for restoration of F508delCFTR proteostasis by chloride conductance assays.

Preliminary results. Treatment of bronchial epithelial with inflammatory mediators - H₂O₂, TNF- α or TGF- β enhances targeting of F508delCFTR for proteasomal degradation, compromising the rescue of F508delCFTR by VX-809 even in primary patient derived cells. This effect of inflammatory mediators can be abolished by downregulating the kinase MLK3, which responds to and also controls inflammation. Thus, targeting MLK3 pathway can restore proteostasis of F508delCFTR as well as reducing inflammation.

Conclusions. The study will establish a strong link between inflammation and worsening of the disease and identify therapeutic strategies to potentiate the action of drugs that are approved for the treatment of CF. By proposing and validating a novel link between inflammation and proteostasis, this project encapsulates the mission of CF foundation to develop innovative drug treatment for CF.

Indagare i meccanismi infiammatori intracellulari, potenzialmente dannosi per l'attività di CFTR, per scoprire nuove molecole efficaci nella correzione di F508delCFTR.

Problema e ragioni dello studio. Un processo infiammatorio polmonare nei pazienti con fibrosi cistica (FC) è caratterizzato dalla presenza di un elevato numero di neutrofili, che rilasciano radicali liberi dell'ossigeno, proteasi e altri prodotti che causano ostruzione polmonare e danni alle vie respiratorie. Un crescente numero di evidenze, incluse le nostre, suggeriscono che i processi infiammatori agiscono in un circolo vizioso per amplificare sé stessi e potenziare anche la degradazione di F508delCFTR, la proteina mutante non correttamente ripiegata, presente nella maggior parte dei pazienti con FC.

Ipotesi e obiettivi. Ipotizziamo che l'infiammazione aumenti la degradazione di F508delCFTR, riduca la disponibilità di F508delCFTR affinché i farmaco-chaperoni agiscano compromettendo quindi l'efficacia di questi farmaci correttori nei pazienti. Proponiamo quindi di: a. delineare le vie di trasduzione del segnale che regolano la degradazione indotta da infezione / infiammazione di F508delCFTR; b. manipolare queste vie di segnalazione per diminuire la degradazione, consentendo così un efficace recupero da parte dei "correttori"; c. studiare anche come queste vie di segnalazione contribuiscano all'esacerbazione dell'infiammazione, che è comune nei pazienti con FC.

Metodi essenziali. Identificheremo le vie di segnalazione attivate da mediatori infiammatori mediante l'utilizzo di *antibody microarrays*. Verificheremo l'effetto della loro downregolazione da parte di siRNA e / o farmaci sulla degradazione di F508delCFTR, nonché sull'infiammazione mediante *Western blot*, PCR ed ELISA. I farmaci promettenti saranno quindi testati nell'epitelio bronchiale primario per il ripristino della proteostasi di F508delCFTR mediante saggi di conduttanza del cloruro.

Risultati preliminari. Il trattamento dell'epitelio bronchiale con mediatori infiammatori (H₂O₂, TNF- α o TGF- β) aumentano la degradazione proteasomale di F508delCFTR, compromettendo il recupero dei livelli di F508delCFTR indotto da VX-809 anche nelle cellule primarie derivate dal paziente. Questo effetto dei mediatori infiammatori può essere abolito downregolando la chinasi MLK3, che risponde e controlla l'infiammazione. Pertanto, bersagliare la via di trasduzione di MLK3 può ripristinare la proteostasi di F508delCFTR e ridurre l'infiammazione.

Conclusioni. Lo studio stabilirà un forte legame tra infiammazione e peggioramento della malattia e identificherà le strategie terapeutiche per potenziare l'azione dei farmaci approvati per il trattamento della FC. Proponendo e convalidando un nuovo legame tra infiammazione e proteostasi, questo progetto racchiude la missione della Fondazione FFC di sviluppare un trattamento farmacologico innovativo per la FC.

35. Off-target effects of CFTR-modulators in pre-clinical infection models

Mancini G, Caslini C, Melessike M, Alcalá-Franco B, Bragonzi A, Cigana C

Infections and Cystic Fibrosis Unit, Division of Immunology, Transplantation and Infectious Diseases, San Raffaele Scientific Institute, Milano (FFC#15/2018, Ongoing)



Cristina Cigana, seconda da sinistra, responsabile del progetto con i collaboratori di ricerca

Background and rationale. CFTR-modulators are increasingly proving to ameliorate 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 antibacterial 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/defense during chronic pneumonia.

Essential methods. A bio-bank of longitudinal isolates recovered from CF patients was *in vitro* tested for susceptibility to CFTR-modulators alone by minimum inhibitory concentration assay or in combination with antibiotics commonly used in the clinics by checkerboard assay. In the second year, 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. The impact of CFTR-modulators, alone or in combination with antibiotics, on the incidence and severity of chronic infection, and on the airway inflammation and tissue damage will be assessed.

Preliminary results. Ivacaftor and lumacaftor inhibited *S. aureus* growth, demonstrating a direct antibacterial activity, but were ineffective against *P. aeruginosa*. In addition, they synergized with several antibiotics anti-*P. aeruginosa*, in particular colistin, and anti-*S. aureus*. In contrast, tezacaftor, showed minimal or no antimicrobial activity, even when associated with antibiotics. Furthermore, we demonstrated that CFTR-modulators can modify *P. aeruginosa* virulence, decreasing its inhibitory activity against CFTR. Finally, we set colistin treatment protocols in the mouse model of chronic *P. aeruginosa* pulmonary infection, which will be exploited for combined treatments with CFTR modulators in the second year of the project.

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 in the provision of 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*.

Effetti non CFTR-dipendenti dei modulatori di CFTR in modelli preclinici di infezione polmonare

Problema e ragioni dello studio. Sebbene i farmaci modulatori di CFTR abbiano una grande potenzialità di migliorare lo stato di salute nei soggetti con FC, la risposta clinica nei pazienti è molto variabile. A tal proposito, recenti dati sperimentali suggeriscono che i modulatori di CFTR abbiano anche attività indipendenti dalla proteina stessa.

Ipotesi e obiettivi. Il nostro obiettivo è definire se i modulatori di CFTR abbiano un effetto antibatterico, da soli e/o in combinazione con antibiotici standard, o se abbiano un impatto, indipendente dall'attività di correzione della CFTR, sulle difese dell'ospite nell'infezione polmonare.

Metodi essenziali. Una biobanca di ceppi batterici da FC è stata testata *in vitro* per indagare la loro suscettibilità ai modulatori di CFTR (ivacaftor, lumacaftor, tezacaftor), da soli e/o in combinazione con gli antibiotici più frequentemente usati in clinica. In seguito, i modulatori saranno testati in modelli murini di infezione polmonare cronica, per studiare la loro attività antibatterica e i potenziali effetti sulle difese dell'ospite, valutando il loro impatto, da soli o in combinazione con antibiotici sull'incidenza e sulla gravità dell'infezione cronica.

Risultati preliminari. Ivacaftor e lumacaftor sono in grado di inibire la crescita di *S. aureus* di per sé, dimostrando un'attività antibatterica diretta, ma tale risultato non si osserva in *P. aeruginosa*. Nonostante ciò, entrambi i modulatori sono in grado di incrementare l'efficacia di diversi antibiotici anti-*P. aeruginosa*, in particolare la colistina, e anti-*S. aureus*. Tezacaftor, al contrario, ha mostrato minima o nulla attività antimicrobica, anche se associato ad antibiotici. Inoltre, abbiamo dimostrato che i modulatori hanno anche la capacità di modificare la virulenza di *P. aeruginosa*, diminuendo la sua attività inibitoria nei confronti di CFTR. Infine, abbiamo messo a punto protocolli di trattamento con colistina nel modello murino di infezione cronica polmonare da *P. aeruginosa*, da utilizzare per i trattamenti di combinazione con i modulatori di CFTR nel secondo anno del progetto.

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 di CFTR e generando raccomandazioni per le combinazioni con antibiotici.

36. State of the art and perspectives on CFTR modulators

Lee T

Leeds Regional Paediatric Cystic Fibrosis Centre, Leeds, United Kingdom



Tim Lee

Background. The speeding up in the development of CFTR modulators is rapidly changing the landscape of both Cystic Fibrosis research and clinical care. In this session I will cover the latest available data emerging from pre-clinical and clinical studies, as well as implications from registry and other observational studies on the wider impact of these drugs. During 2019 the phase 3 clinical trial data of VX-445 in triple combination with Tezacaftor and Ivacaftor has been published in press release (May 30th 2019), showing dramatic efficacy. Extrapolating from untreated for those with 2 copies of the phe508del mutation would seem to have a 14.0% improvement in percent predicted FEV1 and a 55mmol improvement in sweat chloride. For those with one phe508del mutation and a second minimal function mutation, percent predicted FEV1 improved by 13.8%, and sweat chloride by 41.8mmol. Vertex Pharmaceuticals have submitted a new drug application to the FDA with a decision expected in March 2020.

Promising agents in the pipeline and why they are needed.

The role for different combinations of correctors, potentiators, and amplifiers will be explored. There are promising agents from a number of pharma including Vertex; Proteostasis; Abbvie; and Flatley; as well as ongoing academic research. Whilst these agents are extremely promising it seems likely that there will be a need to increase the effectiveness of CFTR modulator combinations further than those currently developed for those with gating mutations and at least one phe508del mutation. For example, real world data from the Irish CF Registry suggests that in those with p.Gly551Asp gating mutations who have lower baseline lung function and established lung disease, lung function continues to decline and pulmonary exacerbations continue to occur even after Ivacaftor is commenced (Kirwan et al. 2019). Increasing the pool of available modulators will be important to increase options for patients, reduce the chance of drug-drug interactions, as well as assist with drug affordability through competition, however new clinical trial designs will be needed as the first wave of CFTR modulators become standard of care.

Wider effects of CFTR Modulators beyond the lungs. Evidence is accumulating to suggest a positive effect of CFTR modulators on pancreatic exocrine function, especially in young children taking Ivacaftor. Whether this is just a short-term "honeymoon effect", and whether it will be seen with highly effective modulators in adult patients remains to be determined. CF liver disease is very problematic for certain patients with cystic fibrosis – will these patients be able to tolerate CFTR modulators? If started early enough will they reduce the chance of CF liver disease or CF related diabetes developing?

Unanswered questions. How will CFTR modulators change our

ability to be able to study and develop better anti-inflammatory; mucolytic; and antibiotic drugs?

What are the limitations and cautions we should consider as CFTR modulators are rapidly introduced into clinical practice? In particular, what are the chances of long-term safety concerns or off-target effects for small molecules that affect protein processing and function? Are we in danger of missing opportunities to evaluate some important questions as the landscape rapidly changes?

Finally what are the opportunities for CF researchers? What about rare mutations; and minimal function mutations? How can we help reduce the burden of care in an evidence-based manner? How can we better understand the mechanism of the wider effects of CFTR modulators?

Conclusions. In conclusion, whilst developments in CFTR modulators are dramatic, the CF community, in terms of people with CF, clinical teams, and researchers, all need to be aware that there is still much more we need to understand, and many more clinical trials to do, before this disease is fully controlled, even for those with the common mutations.

Stato dell'arte e prospettive sui modulatori di CFTR

Premesse. La velocità di sviluppo dei modulatori CFTR sta rapidamente modificando il panorama sia della ricerca in fibrosi cistica che della pratica clinica. In questa sessione descriverò gli ultimi dati che sono emersi sia dagli studi pre-clinici che da quelli clinici, così come le implicazioni per i registri dei malati FC e per altri studi osservazionali riguardo il più ampio impatto che questi farmaci possono avere. Durante il 2019, la fase 3 del trial clinico su VX-445 in tripla combinazione con Tezacaftor e Ivacaftor è stata pubblicata attraverso comunicato stampa (30 Maggio 2019), evidenziando una enorme efficacia. Estrapolando dai dati, pazienti non precedentemente trattati con due copie della mutaizione F508del sembrerebbero mostrare 14% di aumento nei valori percentuali del FEV1 e una riduzione di 55mMol/L di cloruro nel sudore. Per coloro che hanno una mutazione F508del e una seconda mutazione a funzione minima, il FEV1 percentuale è aumentato del 13.8% e il cloruro nel sudore diminuito di 41.8mMol/L. Vertex Pharmaceuticals ha sottoposto una nuova richiesta di approvazione a FDA (Food and Drug Administration) e la decisione è attesa per Marzo 2020.

Agenti promettenti nella pipeline e motivo per il quale sono necessari. Verrà esplorato il ruolo di diverse combinazioni di correttori, potenziatori e amplificatori. Sono disponibili un buon numero di agenti promettenti, provenienti da un certo numero di compagnie farmaceutiche, quali: Vertex, Proteostasis, Abbvie e Flatley; è anche in corso della ricerca accademica in questo settore. Per quanto questi agenti siano estremamente promettenti, sembra verosimile che ci sarà bisogno di aumentare ulteriormente l'efficacia delle combinazioni modulatrici di CFTR, rispetto a quelle attualmente disponibili e sviluppate per soggetti con mutazioni *gating* e per soggetti con almeno una mutazione F508del. Per esempio, i cosiddetti *real world data* presi dal registro FC Irlandese suggeriscono che nei malaticon la mutazione *gating* p.Gly551Asp (G551D) che abbiano una più bassa funzione polmonare di base e una malattia polmonare conclamata, la funzione polmonare continua a peggiorare e le esacerbazioni polmonari persistono anche quando viene iniziato Ivacaftor (Kirwan et al, 2019). Aumentare la disponibilità di possibili modulatori sarebbe quindi importante per offrire diverse opzioni ai pazienti, ridurre la possibilità di interazione tra farmaci; allo stesso tempo consentirebbe ai farmaci di essere più accessibili attraverso la competizione commerciale. Tuttavia, non appena la prima ondata di modulatori CFTR diventasse standard di cura, sarebbe anche necessario ideare nuovi studi clinici.

Più estesi effetti dei modulatori di CFTR oltre a quelli sui polmoni. Si stanno accumulando evidenze che suggeriscono un effetto positivo dei modulatori CFTR sulla funzione pancreatica esocrina, specialmente nei bambini che assumono Ivacaftor. Se questo sia semplicemente un effetto "luna di miele" a breve termine oppure se sarà osservato con i modulatori efficaci in pazienti adulti è ancora tutto da stabilire. La malattia del fegato è molto problematica per alcuni pazienti con fibrosi cistica. Questi pazienti saranno in grado di tollerare i modulatori di CFTR? Se i modulatori vengono assunti abbastanza presto negli anni, sarà possibile ridurre la probabilità della malattia del fegato FC o lo svilupparsi di diabete correlato alla fibrosi cistica?

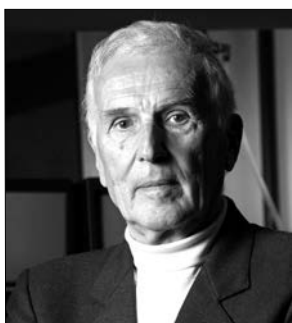
Domande ancora senza risposta. Come faranno i modulatori di CFTR a modificare la nostra capacità di studiare e sviluppare migliori anti-infiammatori, mucolitici e farmaci antibiotici? Quali sono le limitazioni e le precauzioni che dovremmo considerare, dal momento che i modulatori stanno rapidamente entrando nella pratica clinica? In particolare, quali sono le possibilità di doversi preoccupare degli effetti a lungo termine e di effetti fuori-target di queste piccole molecole che influenzano il processamento delle proteine e la loro funzione? C'è il pericolo di sottovalutare domande importanti, ora che il panorama sta cambiando rapidamente? Infine, quali sono le opportunità per i ricercatori in fibrosi cistica? Inoltre, cosa possiamo dire sulle mutazioni rare e sulle mutazioni a funzione minima? Come possiamo aiutare a ridurre il carico terapeutico in un modo che sia basato sulle evidenze? Come possiamo fare a capire meglio il meccanismo che sottende gli effetti più ampi dei modulatori CFTR?

Conclusioni. In conclusione, mentre gli sviluppi sui modulatori CFTR sono importantissimi, la comunità FC, intesa come le persone con fibrosi cistica, i team di clinici e ricercatori, tutti hanno bisogno di essere consapevoli che c'è ancora molto altro ancora che dobbiamo capire e molti studi clinici ancora da fare, prima che questa malattia si possa dire completamente controllabile, persino per coloro con le mutazioni più comuni.

37. The social cost of new drugs and its implications for research and care

Garattini S

Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri, IRCCS, Milano



Silvio Garattini, Presidente Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri IRCCS

European regulations require new drugs to be approved on the basis of three important characteristics: quality, efficacy and safety. On the basis of those features, EMA (European Medicines Agency) approve new drugs without a real knowledge on whether or not they are safer than those already on the market. This is good for commercial competition, however it is extremely confusing for patients, medical doctors and caregivers, who are overwhelmed by drugs that are actual me-too drugs.

Therefore, it would be important to modify regulations into "quality, efficacy, safety and therapeutical added value". By introduc-

ing the new field of "therapeutical added value", only the new drugs that really represent an improvement in comparison to those on the market would be commercialised and less effective drugs would be abandoned.

This problem is particularly important for the so-called "orphan drugs", devoted to rare diseases, such as cystic fibrosis. Drugs that are currently administered, either alone or in combo-therapies, do have high price that is not adequate to their efficacy. There is therefore the open issue of understanding the relationship between the expenditures that are needed for research and the cost of drugs on the market.

Data from scientific literature and from some research agencies, such as NICE, indicate a non-acceptable cost-effectiveness ratio. It is indeed of utmost importance to clarify how the Italian National Health Service (SSN- Servizio Sanitario Nazionale) should face the challenge. A possible strategy, that the Italian Agency AIFA (Agenzia Italiana del Farmaco) pursued in the past – for the CAR-T cells as an example – is to link the cost to the success of a drug.

Once some parameters are settled in relation to the improvement of health status of patients – such as quality of life – only those patients who actually showed an improvement in their health status will pay for the drugs. Another option is to pay over-time, for example an annual ratio of the price, as long as the drug keeps its level of efficacy. Finally, if more drugs are available, which is the case for Cystic Fibrosis, a better price can be obtained by auction or by an agreement on the price at a European level. It is important that the patient associations and those who work and act in the field of cystic fibrosis can have a clear comprehension of all those aspects so to sustain and help SSN, a priceless resource for Italy.

I costi sociali dei nuovi farmaci e loro implicazioni per la ricerca e le cure

La legislazione europea richiede che un nuovo farmaco possa venire approvato sulla base di tre caratteristiche molto importanti: "qualità, efficacia e sicurezza". Sulla base di queste caratteristiche, l'EMA (European Medicines Agency) approva farmaci senza sapere se sono migliori o peggiori di quelli già esistenti. Ciò aiuta il mercato, ma non è utile al paziente e al medico che vengono sommersi da farmaci che rappresentano molto spesso solo delle "fotocopie" (me-too drugs). Sarebbe pertanto necessario modificare la legge in questo modo: "qualità, efficacia, sicurezza e valore terapeutico aggiunto". Con quest'ultimo requisito – valore terapeutico aggiunto – entrerebbero in commercio farmaci che davvero rappresentano un progresso e, conseguentemente, non avrebbe più significato la presenza di farmaci meno attivi.

Il problema è particolarmente acuto per i cosiddetti "farmaci orfani", quelli dedicati alle malattie rare, come la fibrosi cistica. I farmaci attualmente utilizzati da soli o in associazione hanno un costo elevato che non è giustificato dall'efficacia. Si pone perciò il problema di sapere quale sia il rapporto fra le spese di ricerca ed il prezzo a cui viene offerto il farmaco.

Dati della letteratura scientifica e di alcune agenzie di ricerca, come l'inglese NICE, indicano che il rapporto costo-beneficio non è accettabile. Si pone quindi il problema di come sostenere la spesa da parte del Servizio Sanitario Nazionale. Una delle modalità adottate dall'AIFA per altri casi, come il CAR-T cells, è di mettere in relazione il pagamento del farmaco con il suo successo clinico. Stabilito un miglioramento di parametri importanti per la salute, ad esempio qualità di vita, si paga solo per i pazienti che in seguito al trattamento hanno ottenuto un vantaggio. Un'altra modalità è quella di pagare nel tempo, ad esempio una frazione annua del prezzo finché il farmaco continua ad essere efficace. Infine un prezzo migliore si può ottenere attraverso un'asta se, come nel caso della fibrosi cistica, esistono più farmaci oppure contrattando il prezzo a livello europeo. È importante che le associazioni dei pazienti e quanti operano nel campo della fibrosi cistica abbiano una chiara comprensione dei problemi per fare in modo che il Servizio Sanitario Nazionale, un bene inestimabile, sia sostenibile.

38. Preclinical development of the ARN23765 corrector and search for its backup

Bandiera T¹, Pedemonte N², Galiotta LJV³, Tomati V², Caci E², Sondo E², Gianotti A², Bertozzi F¹, Berti F¹, Rodriguez A¹, Giraudo A¹

¹Istituto 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 extension 1, 2, 3. Ongoing)



Tiziano Bandiera, foto sopra secondo da sinistra, e Nicoletta Pedemonte, sotto prima a destra, con i collaboratori di ricerca al progetto Task Force for Cystic Fibrosis (TFCF)

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

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

Essential methods. New analogs of ARN23765 are prepared by chemical synthesis. All compounds are tested 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, the drug-likeness of new compounds is evaluated in *in vitro* tests.

Preliminary Results. Overall, more than 120 new analogs of ARN23765 have been prepared so far. A number of compounds showed an improved drug-like profile while retaining a very good biological activity in HBE cells. Among them, ARN24684 is currently under evaluation in a number of assays to compare its profile with that of ARN23765. Synthetic activities towards new correctors are still ongoing.

Conclusions. Based on the data obtained in the previous phases of the project, the design and synthesis of new compounds led to the identification of ARN24684, which at the moment could represent a backup of the corrector ARN23765.

Task Force for Cystic Fibrosis (TFCF), extension 3

Ragioni dello studio. La mutazione F508del nella proteina

CFTR, la più frequente nei pazienti con fibrosi cistica, impedisce alla proteina di completare il processo di maturazione e di raggiungere la superficie cellulare. Questo difetto può essere parzialmente mitigato con composti chiamati *correttori*. La proteina F508del-CFTR presenta anche un difetto di funzionamento su cui si può intervenire con composti chiamati *potenziatori*. L'efficacia dei correttori di F508del-CFTR approvati ad oggi per l'uso nell'uomo è modesta ed è quindi necessario identificare nuovi farmaci.

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. Nuovi analoghi di ARN23765 sono ottenuti per sintesi chimica. Tutti i composti sono saggiati nella linea cellulare CFBE41o-, che esprime stabilmente la proteina F508del-CFTR ed una variante della Proteina Fluorescente Gialla, sensibile agli alogenuri (HS-YFP). I composti con migliore attività vengono successivamente testati in cellule primarie bronchiali da pazienti omozigoti per la mutazione F508del. In parallelo, i composti sono valutati in saggi *in vitro* per determinare il loro profilo di drug-likeness (probabilità di funzionare come farmaco, n.d.r.).

Risultati Preliminari. Nel progetto TFCF-Extension sono stati sintetizzati oltre 120 nuovi analoghi di ARN23765. Diversi di questi composti hanno mostrato miglioramenti in alcuni dei parametri che misurano la drug-likeness mantenendo una buona attività biologica. Ad oggi, il composto ARN24684 appare il più interessante come potenziale backup di ARN23765. Una più estesa caratterizzazione del profilo biologico di ARN24684 è in corso. Al contempo, continua la sintesi di nuovi analoghi di ARN23765.

Conclusioni. Sulla base dei dati ottenuti nelle fasi precedenti del progetto, è stato identificato il correttore ARN24684 come potenziale backup di ARN23765. La sintesi di ulteriori analoghi di ARN23765 è tuttora in corso.

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

Pedemonte N¹, Cavalli A²

¹U.O.C Genetica Medica, Istituto Giannina Gaslini, Genova,

²Dipartimento di Farmacia e Biotecnologie, Università di Bologna (FFC#9/2017, Concluded)



Nicoletta Pedemonte, prima a destra, responsabile del progetto, con i collaboratori e, in basso a sinistra, Andrea Cavalli, partner del progetto

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 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.

Results. We have tested a set of inh-2 analogs and identified moieties that are mandatory for the activity of the compounds. We have verified the ability of inh-2 to rescue F508del-CFTR on well-differentiated primary cultures of human bronchial epithelial cells from various F508del homozygous subjects. We have observed lack of side effects after long-term treatment of bronchial cells with inh-2. We have demonstrated that inh-2 is additive with both C2 and C3 types of correctors.

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 correctori 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 sviluppo 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 epitelii bronchiali 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 è proceduta 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 è stata analizzata attraverso metodi elettrofisiologici su epitelii derivati da pazienti con una o due copie di F508del o altre mutazioni che causano un difetto simile.

Risultati. Abbiamo testato un pannello di analoghi di inh-2, identificando modifiche della molecola fondamentali per la sua attività. Abbiamo inoltre dimostrato che il recupero dell'attività di CFTR si osserva in cellule derivate da pazienti diversi. In aggiunta, abbiamo dimostrato che il trattamento cronico con inh-2 non determina effetti negativi sulle cellule bronchiali.

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

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

Spanò V¹, Musante I², Montalbano A¹, Genovese M², Scudieri P², Galiotta LJV², Barraja P¹

¹Department of Sciences and Chemical Biology and Pharmaceutical Technology (STEBICEF), University of Studies of Palermo, Palermo,

²Telethon Institute of Genetics and Medicine (TIGEM), Pozzuoli (NA). (FFC#4/2018, Ongoing)



Paola Barraja, seconda da destra, responsabile del progetto, con collaboratori. Nella foto in basso, Paolo Scudieri (a destra), partner del progetto

Background and Rationale. It is widely recognized that a combination of correctors of F508del-CFTR protein¹ with complementary mechanisms is desired.² From an initial library of compounds tested, PP008 emerged as lead candidate as highly effective F508del correctors with a new complementary mechanism of action with class 1 correctors (VX-809).

Hypothesis and Objectives. Having validated the mechanism of action of PP008 confirming its activity and synergy with VX-809, new analogues with improved corrector activity were synthesized. The chemical space of PP compounds was explored on SAR analysis, synthesizing new analogues. Future objectives will be:

- Synthesis of new refined structures to further optimize activity on F508del-CFTR
- Evaluation of ADME properties of the best candidates to acquire information about drug-like properties
- Insight on the mechanism of action.

Essential methods. From the initial finding, we started the synthesis of analogues to explore as much as possible the critical structural requirement connected to the best corrector activity. Four rounds of synthesis followed by pharmacological insights inspired, the synthesis of new compounds with optimized efficacy and potency on F508del-CFTR. The most potent compounds, were tested as correctors i) on primary airway epithelial cells (bronchial and/or nasal); ii) in biochemical assays and by microscopy to evaluate effect on F508del-CFTR maturation/trafficking.

Preliminary results. Former screenings highlighted PP008 as a lead candidate to develop highly effective F508del correctors, capable to synergize with class 1 correctors, indicating a new complementary mechanism of action. Further synthesis highlighted some new potent analogues among which PP028, PP034, and PP037, with higher efficacy producing a rescue comparable to that of VX-809 and a strong synergism when used in combination with it. Approximately 120 compounds were obtained clustered into 1) analogues of the parent core and 2) new chemical scaffolds.

Conclusions. We expect to obtain improved molecules for the correction of the basic defect in CF, also in terms of drug-like properties, in terms of absorption, metabolism, and excretion (ADME properties). After iteration of the process involving chemical synthesis and evaluation of the resulting compounds, we expect to find the best candidate for a possible preclinical development.

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

Problema e ragioni dello studio. È noto che l'uso di una combinazione di correttori della proteina F508del-CFTR con meccanismi d'azione complementari è auspicabile per ottenere la massima efficacia. Da una iniziale libreria di composti sintetizzati, è emerso un candidato *lead* (PP008), cioè un composto chimico come efficace correttore della proteina F508del-CFTR.

Ipotesi e obiettivi. Dopo aver validato il meccanismo d'azione di PP008, confermandone l'attività e l'effetto sinergico con il VX-809, sono stati sintetizzati nuovi analoghi. Lo spazio chimico dei composti PP è stato esplorato sulla base di studi SAR. Obiettivi futuri saranno:

- Sintesi di nuovi derivati rifiniti con attività ottimale verso la proteina F508del-CFTR
- Valutazione delle proprietà ADME (assorbimento, metabolismo e tollerabilità da parte dell'organismo) dei migliori candidati per acquisire informazioni circa le proprietà *drug-likel* (funzionamento come farmaco)
- Studio del meccanismo d'azione.

Metodi. Dalla scoperta iniziale, abbiamo iniziato la sintesi di nuovi analoghi per esplorare i requisiti strutturali cruciali per ottenere la migliore attività. Quattro cicli di sintesi seguiti dagli studi farmacologici hanno ispirato la sintesi di nuovi analoghi con potenza ed efficacia ottimizzati. I composti più potenti 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 precedente screening ha evidenziato PP008 come candidato *lead* per lo sviluppo di potenti correttori della proteina F508del-CFTR, specialmente in combinazione con il VX-809. Dalla sintesi di altri analoghi sono emersi nuovi composti tra cui PP028, PP034, e PP037 con una migliore efficacia nel recupero funzionale, paragonabile a quella del VX-809 e con un forte effetto sinergico con esso. Sono stati ottenuti circa 120 composti suddivisi in: 1) nuovi derivati del composto di partenza; 2) nuove strutture.

Conclusioni. Prevediamo di generare composti migliori per la correzione del difetto di base nella FC, anche in termini di proprietà *drug-likeness*, cioè di capacità di tali composti di funzionare da farmaci in vivo, nei termini di assorbimento, metabolismo e tollerabilità da parte dell'organismo (proprietà ADME). Dopo riproposizione del processo che coinvolge la sintesi e la valutazione dei composti ottenuti, ci aspettiamo di ottenere un buon candidato per un possibile sviluppo preclinico.

41. In depth-characterization of the molecular mechanisms underlying PI3Ky-mediated regulation of CFTR

Ghigo A^{1,2}, Murabito A¹, Sala V¹, Gianotti A⁴, Quinney NL³, Gentsch M³, Pedemonte N⁴, and Hirsch E^{1,2}

¹Department of Molecular Biotechnology and Health Sciences, Molecular Biotechnology Center, University of Torino, Torino, ²Kither Biotech Srl, Torino., ³Marsico Lung Institute/Cystic Fibrosis Research Center, University of North Carolina, Chapel Hill, USA, ⁴Istituto Giannina Gaslini, Genova.y. (FFC#8/2018. Ongoing)

Background and rationale. The underlying cause of cystic fibrosis (CF) is a mutation in the gene encoding the chloride channel cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR). The clinical approval of Orkambi[®], combining a CFTR potentiator (VX-770) and a corrector (VX-809), highlighted the possibility of targeting the basic molecular defect of CF, albeit the efficacy of this drug is unsatisfactory.

Hypothesis and objectives. We demonstrated that phosphoinositide 3-kinase gamma (PI3Ky) is a key component of the CFTR



Emilio Hirsch, primo da sinistra, responsabile del progetto, con il suo gruppo di ricerca

macromolecular complex that restrains activation of the channel through a scaffold, kinase-independent function. The major aim of the proposed project is to characterize the role of PI3Ky in regulating Cl⁻ secretion in CF bronchial epithelial cells.

Essential methods. To target this unexpected function of PI3Ky, we previously generated a cell-permeable PI3Ky-derived peptide owing CFTR modulator properties. Within this project, we exploited this peptide to understand the interplay between PI3Ky and the CFTR macromolecular complex. We assessed the role of PI3Ky in modulating Cl⁻ currents in either healthy or CF primary airway bronchial epithelial cells carrying the most prevalent mutation F508del/F508del.

Preliminary results. We demonstrated that the PI3Ky-derived peptide synergizes with Orkambi[®] in enhancing short-circuit currents in CF primary bronchial epithelial cells. This synergy could be explained by the dual action of PI3Ky peptide on both CFTR-dependent currents and on currents mediated by the Ca²⁺-activated K⁺ basolateral channels. Accordingly, we demonstrated that PI3Ky peptide increases intracellular Ca²⁺ levels in healthy and CF primary bronchial epithelial cells. By means of these convergent actions, PI3Ky peptide stimulates the overall driving force, ultimately promoting Cl⁻ secretion. As a future perspective, we aim at unveiling the molecular mechanisms through which PI3Ky scaffold protein regulates Ca²⁺ activated K⁺ channels in CF bronchial epithelial cells.

Conclusions. We expect to validate PI3Ky as a new targetable regulator of CFTR function and evaluate the potential therapeutic effect of the PI3Ky-derived peptide in comparison to the currently available combinatorial treatments. In the long term, the results of this project may eventually end up in the development of new therapeutic tools to ease patient care in patients that do not or cannot fully benefit of Orkambi[®] and other VX770-based regimens.

Caratterizzazione approfondita dei meccanismi molecolari alla base della regolazione del canale CFTR da parte dell'enzima PI3Ky.

Problema e ragioni dello studio. Il difetto di base della Fibrosi Cistica (FC) sta in una mutazione nel gene che codifica per il regolatore di conduttanza transmembrana della fibrosi cistica (CFTR), un canale deputato al trasporto di cloruro. L'approvazione in clinica del farmaco Orkambi[®] ha evidenziato la possibilità di colpire farmacologicamente il difetto molecolare di base della FC. Tuttavia, l'efficacia di Orkambi[®] non è del tutto soddisfacente.

Ipotesi e obiettivi. Abbiamo dimostrato in precedenza che l'enzima fosfatidilinositolo 3-chinasi gamma (PI3Ky) limita l'attivazione del canale CFTR agendo come "piattaforma di ancoraggio" per altre proteine con attività regolatoria. L'obiettivo del progetto è di caratterizzare il ruolo di PI3Ky nella modulazione della secrezione di cloruro nelle cellule epiteliali bronchiali di pazienti affetti da FC.

Metodi essenziali. Per colpire questa funzione di PI3Ky, abbiamo ideato un peptide derivato da PI3Ky capace di modulare l'attività del CFTR. In questo progetto, abbiamo valutato il ruolo di PI3Ky nella modulazione delle correnti di cloruro in cellule epiteliali bronchiali di pazienti che presentano la mutazione F508del/F508del.

Risultati preliminari. Abbiamo dimostrato che il peptide derivato da PI3Ky lavora in sinergia con Orkambi® nel potenziare le correnti di cloruro in cellule epiteliali bronchiali primarie di paziente con FC. Questa sinergia può essere spiegata dalla doppia azione del peptide sulle correnti dipendenti da CFTR e su quelle mediate da canali attivati dal Calcio. In definitiva, mediante queste azioni convergenti, il peptide promuove la secrezione di cloruro. Come prospettiva futura, miriamo a identificare i meccanismi di regolazione dei canali da parte di PI3Ky nelle cellule epiteliali bronchiali di paziente con FC.

Conclusioni e risultati attesi. Ci aspettiamo di convalidare PI3Ky come nuovo modulatore della funzione del CFTR e di valutare il potenziale effetto terapeutico del peptide derivato da PI3Ky rispetto ai trattamenti combinatori attualmente disponibili. A lungo termine, i risultati di questo progetto porteranno auspicabilmente allo sviluppo di nuovi farmaci per i pazienti che non beneficiano o non possono beneficiare appieno di Orkambi®.

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

Tamanini A², Loberto N¹, Mancini G¹, Bassi R¹, Valsecchi M¹, Dechecchi MC², Santangelo A², Prandini P², Pedemonte N³, Cabrini G⁴, Aureli M¹

¹Dipartimento di Biotecnologie Mediche e Medicina Traslazionale, Università degli Studi di Milano, ²Laboratorio di Patologia Molecolare, UOC Laboratorio Analisi (Sede di Borgo Trento), Dipartimento di Patologia e Diagnostica, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona, ³U.O.C. Genetica Medica, Istituto Giannina Gaslini, Genova, ⁴Università di Verona, Dip. Di Neuroscienze Biomedicina e Movimento (FFC project #2/2018, ongoing)



Massimo Aureli, foto sopra a destra, responsabile del progetto e, foto sotto, Anna Tamanini (al centro) con i rispettivi collaboratori di ricerca

Background/Razionale. The most common F508del-CFTR mutation causes a defect in: i) trafficking to the plasma membrane (PM), ii) stability, and iii) channel open probability. Many pharmacological agents have been designed to rescue the F508del-CFTR function and among these, lumacaftor-ivacaftor (Orkambi®), 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 F508del-CFTR likely due to inability in F508del-CFTR PM stabilization, which is a condition further impaired by *P. aeruginosa* infections. For this reason, a new challenge to ameliorate the efficacy of corrector and potentiators is to find new strate-

gies to increase the PM stability of F508del-CFTR.

Hypothesis and Objectives. In CF bronchial epithelial cells, CFTR loss is accompanied by an important reduction of the PM glycosphingolipid GM1. Since GM1 is a crucial player in the organization of specific lipidic domains that contains CFTR, we investigated whether restore the correct levels of GM1 could be adjuvant to increase the effectiveness of Orkambi® therapy in term of F508del-CFTR rescue.

Essential methods. CF bronchial epithelial cells were fed with GM1 in combination with CFTR modulators to evaluate by WB the expression of F508del-CFTR and its scaffolding proteins. Photolabeling experiments were used to study the GM1 and CFTR interaction and finally, the activity of CFTR function was studied by using YFP fluorescence measurements of iodide influx.

Preliminary results. We found that: i) GM1 and WT-CFTR or rescued F508del-CFTR resides in the same PM compartment; ii) the chronic treatment of CF bronchial epithelial cells with potentiator VX770 reverts the effect of the corrector VX809 in terms of F508del-CFTR expression, CFTR scaffolding proteins content and lipid composition; iii) the exogenous administration of GM1 reduces the negative effect of potentiator VX770 on F508del-CFTR PM stability; iv) GM1 improves CFTR channel activity in CF cells treated with CFTR modulators.

Conclusions. Taken together, these results demonstrate that GM1 plays an active role on the stability and function of rescued F508del-CFTR. Further investigation will be focused on the effect of GM1 on *P. aeruginosa* infected cells. Considering that GM1 has been already tested for neurological disease, development of clinical trials based on GM1 could provide a real therapeutic option for CF patients.

Ruolo del ganglioside GM1 nella stabilizzazione della proteina F508DEL-CFTR sulla membrana come possibile adiuvante per la terapia con ORKAMBI®

Problema e Ragioni dello studio. La CFTR con mutazione F508del è una proteina che non funziona correttamente. Per correggerne il difetto è necessario l'uso combinato di molecole in grado di indurre la normale maturazione (correttori), attivarne la funzione (potenziatori) e stabilizzarla a livello della membrana plasmatica (MP). La nuova combinazione, lumacaftor VX809 - ivacaftor VX770 (Orkambi®) ha però dato benefici variabili nei pazienti, probabilmente perchè incapace di stabilizzare la CFTR mutata a livello della MP, condizione ulteriormente compromessa dalle infezioni da *P. aeruginosa*. Pertanto, risulta urgente la necessità di sviluppare nuovi approcci terapeutici capaci di aumentare la stabilità in MP della CFTR.

Ipotesi ed obiettivi. Nella MP delle cellule bronchiali, la proteina CFTR è localizzata in particolari aree organizzate dal ganglioside GM1. In modelli FC la mancanza di CFTR comporta una forte riduzione del contenuto di GM1. Il nostro obiettivo è quindi quello di investigare se il ripristino di GM1 possa aumentare l'efficienza di correttori e potenziatori nel recupero funzionale della CFTR con mutazione F508del.

Metodi essenziali. Il GM1 è stato aggiunto a cellule epiteliali bronchiali FC in combinazione con il correttore VX809 e il potenziatore VX770 ed è stata studiata l'espressione e la funzione di CFTR e il contenuto lipidico di membrana. Inoltre, mediante l'utilizzo di sonde radioattive, abbiamo studiato la localizzazione del GM1 e di CFTR a livello della MP.

Risultati preliminari. Abbiamo dimostrato che: i) il GM1 e la proteina CFTR localizzano nella stessa porzione della MP; ii) il VX770 oltre a ridurre l'effetto del VX809 altera anche il contenuto lipidico della MP, iii) l'aggiunta del ganglioside GM1 riduce notevolmente l'effetto negativo del VX-770 aumentando la stabilità della proteina in membrana e ripristinandone la funzione.

Conclusioni e risultati attesi. I risultati indicano che il GM1 funziona come adiuvante per la terapia con Orkambi®. Poiché i pazienti FC sono soggetti a infezioni da *P. aeruginosa*, nel secondo anno, si valuterà l'effetto del GM1 sull'espressione della proteina CFTR in presenza di infezione. Essendo il GM1 una molecola già in uso per la cura di altre patologie, questo studio potrebbe rappresentare il punto di partenza per lo sviluppo di nuove strategie te-

rapeutiche basate sull'associazione di GM1 con correttori e potenziatori per migliorare l'efficacia dei trattamenti nei pazienti con FC

43. 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, Pedemonte N⁵, Fossa P⁶ and Rusnati M¹

¹ITB-CNR Segrate MI ²DMMT Univ. di Brescia ^{3,4}Med Sperim./CEBR Univ. di Genoa, ⁵UOC Genetica Medica, IRCCS Giannina Gaslini Inst. Genoa, Italy ⁶Dip. di Farmacia Univ. di Genoa (FFC#11/2018. Concluded – FFC#10/2019. Extension)



Marco Rusnati, in alto, responsabile di progetto, con collaboratori di ricerca

Background. Cystic Fibrosis (CF) is caused by mutations (mainly F508Δ) 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 & objectives. Drug repositioning is aimed at finding new applications for already marketed drugs, reducing cost and duration and the likelihood of unforeseen adverse events. In this project we have integrated drug repositioning with computational studies, surface plasmon resonance (SPR) and well-validated cellular models to identify new CF drugs and to comprehend their mechanism of action.

Methods & results. We have prepared a new structural homology model of intact human F508del-CFTR embedded in a phospholipid bilayer and a SPR biosensor containing the same protein in a cell membrane-mimicking lipid film. These tools, along with appropriate cell-based assays, have been firstly used to analyze a mixed library of well-known and new compounds that allowed the validation of the system and the identification of a promising molecule endowed with a F508del-binding and rescuing capacity that is higher than those of drugs already in use. With the computational model we have then performed a virtual drug repositioning on a library of 846 drugs, identifying 10 drugs that were reduced to 4 on the basis of toxicity profile and patient compliance.

Extension project. In the second year of the extended project,

the already identified drugs will be subjected to experimental characterization aimed at evaluating their effective capacity to bind F508del-CFTR and rescue its activity. This will be done by means of *in vitro* assays with cell lines and primary cell culture, stability assay and SPR spectroscopy. Also, we will proceed to the virtual repositioning of a library of natural compounds. The identified drugs will then be analyzed as described above.

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

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

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 metodologia diretta a scoprire nuove applicazioni per farmaci già utilizzati per altre malattie che riduce costi e durata dei programmi di sviluppo ed evita i rischi di effetti indesiderati. In questo progetto abbiamo integrato il riposizionamento del farmaco con nuove tecnologie (biosensori, bioinformatica) e collaudati modelli cellulari per scoprire farmaci già commercializzati in grado di indurre benefici terapeutici nella FC.

Metodi e risultati. Abbiamo preparato modelli virtuali di CFTR mutato in ambiente lipidico ed un biosensore per una sofisticata tecnologia chiamata "risonanza plasmonica di superficie" contenente CFTR mutato in uno strato lipidico (simulando la membrana cellulare, dove normalmente CFTR è localizzato). Questi modelli sono stati quindi utilizzati per analizzare una serie di molecole neosintetizzate, permettendo così di validare il sistema e di identificare una molecola con capacità di legare e recuperare l'attività del CFTR mutato superiori a quelle di molecole già utilizzate. Abbiamo quindi proceduto allo "screening" virtuale di una libreria di 847 farmaci già commercializzati, individuandone 10 dei quali ne sono stati selezionati 4 sulla base del profilo tossicologico e della "compliance" del paziente.

Estensione del progetto. Nel secondo anno del progetto i farmaci identificati verranno sottoposti ad approfondita analisi sperimentale per valutare la loro effettiva capacità di legare CFTR mutato e recuperare l'attività. A questo scopo impiegheremo: saggi *in vitro* con apposite linee cellulari e colture di cellule primarie umane, saggi di stabilità di CFTR mutato e analisi SPR. Inoltre, procederemo allo "screening" di una libreria di composti naturali. I composti individuati verranno infine sottoposti alla completa caratterizzazione sperimentale descritta sopra.

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

16:45 - 18:10

Plenary Session 7

GENE AND RNA EDITING

44. Investigating CRISPR-CAS13b as a tool for the RNA editing of CFTR mRNA with premature stop codon

Di Leonardo A, Melfi R, Cancemi P, Chiavetta R

Department of Biological, Chemical and Pharmaceutical Sciences and Technologies, University of Palermo. (FFC#5/2018. Concluded)

Background/Rationale. Some CF patients are compound heterozygous or homozygous for nonsense mutations in the CFTR gene. Mutant CFTR gene coding for transcripts with premature termination codons (PTCs) is responsible for truncated CFTR protein and for a severe form of the disease. In a precision medicine framework the "REPAIRv2" (RNA Editing for Programmable A to I Replacement v2) tool, developed in the laboratory of Dr. Feng Zhang (USA), seems a good alternative to restore the full-length CFTR protein by editing its



Aldo Di Leonardo con le collaboratrici di ricerca

mRNA containing PTCs. This new approach is based on the possibility of targeting a deaminase enzyme (huADAR2) to a specific Adenosine, to be edited to Inosine (G analogue), on the mutant RNA by a specific guide RNA (gRNA), complementary to the target regions, and a Cas protein.

Hypothesis and objectives. We applied the new CRISPR/dCas13b based molecular tool of RNA editing (REPAIRv2) to correct the premature stop codon UGA, changing to UGG, in the H2BGFP_{popal} and CFTR^{W1282X} mRNAs with the purpose of recovering the full-length proteins.

Essential Methods. We designed and cloned the gRNAs needed to target the REPAIRv2 system to the Adenine to be modified. By site-directed mutagenesis we introduced a premature stop codon, W1282X, in the CFTR cDNA. Human HeLa cells expressing the H2BGFP_{popal} mRNA, FRT cells expressing CFTR^{W1282X} and IB3.1 airway epithelial human cells (CFTRD508/W12382X) were co-transfected with the plasmids coding for the recombinant protein dCAS13b/ADAR2, and for the gRNAs. Fluorescence microscopy was used to analyse the editing results.

Results. Direct fluorescence microscopy and immunofluorescence analysis detecting the corrected proteins (H2BGFP and CFTR, respectively) suggest that the REPAIRv2 system was able, in different cell lines, to edit the H2BGFP_{popal} and the CFTR^{W1282X} mRNA. However, the rate of editing does not seem high. Indeed, when RNA was purified from transfected cell, retro-transcribed and amplified base correction was not detectable by standard DNA sequencing and western blot.

Conclusions. Collectively, our results indicate that the REPAIRv2 tool is able to edit the UGA premature stop codon present in the HeLa-H2BGFP_{popal} cells and in engineered FRT^{W1282X} cells harbouring the UGA PTC in the CFTR mRNA. Furthermore, the REPAIRv2 tool worked in the IB3.1 cells suggesting its ability to edit endogenous UGA premature stop codon. Anyway, enhance the delivery of the plasmids as well increase/stabilize the target mRNA to be edited, seem necessary to improve the efficiency of REPAIRv2.

Correzione di mutazioni STOP del gene CFTR mediante modifica (editing) dell'RNA messaggero (mRNA)

Problemi e ragioni dello studio. La presenza di mutazioni stop (di classe I) nel gene CFTR causa la mancata produzione della proteina. Un recente strumento, sviluppato nel laboratorio del Dr. Feng Zhang (USA), potenzialmente in grado di correggere (editing) queste mutazioni e ottenere la sintesi della proteina CFTR è REPAIRv2 (RNA Editing for Programmable A to I Replacement). REPAIRv2 consente di correggere mutazioni G>A (cambiamento di Guanina in Adenosina) e sull'mRNA indirizzando, la proteina dCAS13b/ADAR_{pop} sulla Adenosina che una volta convertita in Inosina, si comporterà come la Guanosina iniziale consentendo la sintesi della proteina. L'RNA editing ha il vantaggio di essere transitorio e di ridurre i rischi di modifiche permanenti nel genoma

Ipotesi e obiettivi. Possibile correzione di mutazioni stop

mediante 'editing' dell'mRNA. Utilizzo del sistema REPAIRv2 per convertire la tripletta non senso UGA in UGG e ottenere proteine integre in sistemi cellulari modello.

Metodi essenziali. Sono stati disegnati e clonati diversi 'RNA guida' (gRNA) per indirizzare il sistema REPAIR sulle Adenine da modificare. Tramite mutagenesi sito-specifica è stata generata la mutazione stop CFTR^{W1282X}. Cellule di ratto FRT (CFTR^{W1282X}) e cellule umane IB3.1 (CFTRD508/W12382X) sono state utilizzate per validare il sistema REPAIRv2. I risultati di RNA editing sono stati analizzati con la microscopia a fluorescenza.

Risultati. Mediante microscopia a fluorescenza diretta ed immunofluorescenza indiretta è stato mostrato che il sistema REPAIRv2 è in grado, in differenti sistemi modello cellulari *in vitro*, di correggere le mutazioni stop anche se con una efficienza non molto elevata. Ciò è in accordo con il risultato del sequenziamento standard degli ampliconi (frammenti di RNA prodotti da reazioni di amplificazione, n.d.r.) derivati dagli RNA purificati da cellule trasfettate e del western blot.

Conclusioni. I risultati ottenuti suggeriscono che REPAIRv2 promuove l'editing di codoni stop prematuri presenti sull'mRNA del gene reporter H2BGFP in cellule HeLa (H2BGFP_{popal}) e sull'mRNA del gene CFTR in cellule FRT (CFTR^{W1282X}). Inoltre, il fatto che REPAIRv2 abbia funzionato in cellule IB3.1 provenienti da pazienti affetti da Fibrosi Cistica, suggerisce che possa essere utile anche per correggere PTC endogeni. Comunque, il miglioramento del 'delivery' e l'incremento/stabilizzazione dell'mRNA bersaglio appare necessario per incrementare l'efficienza di editing.

45. 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. Concluded)



Anna Cereseto, responsabile del progetto di ricerca

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 and 3849+10kbC>T are point mutations that generate altered splicing. The resulting mRNAs contain frameshifts in CFTR, producing a premature termination codons and consequent expression of a truncated non-functional CFTR protein. With this project we investigated 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 and 3849+10kbC>T mutations through the exploitation of RNA guided nucleases (SpCas9 or AsCas12a). CFTR splicing models (minigenes) have been studied to design and develop a safe CRISPR/Cas dedicated approach aimed at restoring the correct CFTR gene expression. We then adapted the technology 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 the mutated by using two gRNAs or a single gRNA in combination with SpCas9 or AsCas12a. To test the efficacy of the genome editing method we used a novel Chloride sensor to 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 and 3849+10kbC>T splicing mutation.

Results. We generated a minigene-constructs to efficiently model the 3272-26A>G CFTR and 3849+10kbC>T splicing defects. The analyses performed with the minigene models, either transiently or stably transfected in HEK293 cells and Caco-2 cells, in primary airway cells and in patients derived organoids revealed that the AsCas12a in combination with a selected guide RNA is a highly efficient and precise technique to repair the splicing defects.

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

Problema e ragioni dello studio. 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. Le mutazioni 3242-26A>G e 3849+10kbC>T sono alterazioni puntiformi che generano errori nel corso dello splicing del trascritto. L'mRNA aberrante prodotto è caratterizzato da un *frameshift* che causa la formazione di codoni di stop prematuri e la produzione di proteine tronche non funzionali. In questo progetto abbiamo messo a punto un approccio efficace di editing genomico in grado di modificare e correggere stabilmente tali difetti 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 consente di ripristinare i livelli fisiologici di espressione e la corretta funzionalità della proteina endogena. Nel nostro lavoro abbiamo sviluppato una strategia di riparo delle mutazioni 3272-26A>G e 3849+10kbC>T attraverso l'utilizzo delle nucleasi SpCas9 e AsCas12a, facendo uso di modelli di splicing da noi messi a punto (minigeni). La tecnologia ottenuta è stata adattata all'utilizzo di vettori virali e applicata a modelli di organoide derivanti da cellule primarie di paziente FC.

Metodi essenziali. 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 gli introni e correggere i difetti di splicing, basati sull'utilizzo di una o due guide a RNA per fare una delezione attraverso SpCas9 o 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 e 3849+10kbC>T, 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 (minigeni) contenente difetti di splicing 3272-26A>G o 3849+10kbC>T. Le analisi condotte sui minigeni modello in cellule HEK293 e in cellule CaCo-2, o utilizzando cellule epiteliali di vie respiratorie o organoidi di pazienti hanno evidenziato che AsCas12a combinata al gRNA selezionato rappresenta un sistema efficiente per riparare i difetti di splicing.

Conclusioni. La strategia proposta per la correzione delle mutazioni di splicing 3272-26A>G o 3849+10kbC>T, basata su AsCas12a, si è dimostrata efficace nel recupero della funzionalità di CFTR endogeno negli organoidi intestinali di paziente, considerato 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.

46. Harnessing CRISPR/Cas9 technology to revert F508del-CFTR defect

Maule G¹, Aiello D², Arosio D², Carlon M³, 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#3/2019. New)



Anna Cereseto, responsabile del progetto di ricerca

Background and rationale. The most common genetic defect in cystic fibrosis (CF) is the trinucleotide deletion deltaF508. Genome editing technologies offer unprecedented strategies to reverse genetic mutation, nevertheless, deletions remain difficult genetic alteration to correct through genome editing techniques. The introduction of neutralizing mutations able to restore CFTR function, as discovered in few patients, represents a potential strategy to counteract the deltaF508 defect.

Hypothesis and objectives. Here we propose molecular strategies to identify mutations to revert the deltaF508 defect. In addition to deltaF508 neutralizing mutations already reported, we aim to identify new mutations through a novel continuous evolution tool based on CRISPR technology (EvolvR) paving the way for a gene-editing approach to CF.

Essential methods. We plan to use base editors to reproduce and test known neutralizing mutations in CF model cells. To further expand the pool of neutralizing mutations we will adapt a directed evolution system to deltaF508 CFTR expressing cells. Cells carrying properly located CFTR will be isolated and sequenced to identify the determinant mutations. Biological function of newly identified mutations will be thoroughly validated using state-of-the-art fluorescent sensor for chloride imaging and immunoanalysis. Finally, using fine-tuning base-editor methods the identified neutralizing mutations will be inserted and validated in primary airway cells homozygous for the deltaF508 CFTR.

Preliminary Results. We tested cellular membrane localization of formerly reported neutralizing mutations observing the highest phenotype reversion with the combined R555K/R1070W mutations.

We designed a genome editing strategy to introduce neutraliz-

ing mutations in the DF508 locus and prepared the target cells and construct to develop a mammalian continuous evolution CRISPR-based tool. We validated experimental conditions to identify and isolate the functionally reverted DF508 variants: single cell separation and functional analysis.

Conclusions. We will set up a genome editing strategy that circumvent the hurdles of repairing deletions like deltaF508. We will provide a gene therapy approach, based on newly developed base editor technology, for the treatment of CF and new insights on the molecular mechanism of deltaF508 defect, possibly leading to the identification of novel druggable hits.

Neutralizzare il difetto genetico deltaF508 tramite tecnologia CRISPR/Cas per invertire il difetto deltaF508 CFTR

Problema e ragioni dello studio. Il difetto genetico più comune nella fibrosi cistica (FC) è la delezione trinucleotidica deltaF508. Le tecnologie di editing del genoma offrono strategie innovative per invertire mutazioni genetiche, ma le eliminazioni rimangono difficili da correggere attraverso tecniche di editing del genoma. L'introduzione di mutazioni neutralizzanti in grado di ripristinare la funzionalità del CFTR, come scoperto in pochi pazienti, rappresenta una potenziale strategia per contrastare il difetto deltaF508.

Ipotesi e obiettivi. Qui proponiamo strategie molecolari per identificare le mutazioni per invertire il difetto deltaF508. Oltre alle mutazioni neutralizzanti deltaF508 già segnalate, ci proponiamo di identificare nuove mutazioni attraverso un nuovo strumento di evoluzione continua basato sulla tecnologia CRISPR (EvolvR), predisponendo le basi per una terapia genica della FC.

Metodi essenziali. Abbiamo in programma di utilizzare *base editors* per riprodurre e testare le mutazioni neutralizzanti note in cellule modello per FC. Per espandere ulteriormente il pool di mutazioni neutralizzanti, adatteremo un sistema di evoluzione diretta alle cellule esprimenti deltaF508 CFTR. Le cellule che localizzeranno correttamente CFTR verranno isolate e sequenziate per identificare le nuove mutazioni revertanti. La funzione biologica delle mutazioni identificate sarà accuratamente convalidata utilizzando un sensore fluorescente all'avanguardia per l'*imaging* del cloro e l'immunoanalisi. Infine, utilizzando *base-editor* e mettendone a punto la loro applicazione, le mutazioni neutralizzanti identificate saranno inserite e convalidate nelle cellule primarie delle vie aeree omozigoti per il CFTR deltaF508.

Risultati preliminari. Abbiamo testato la localizzazione sulla membrana cellulare delle mutazioni neutralizzanti precedentemente descritte, osservando la più alta reversione fenotipica con le mutazioni combinate R555K/R1070W.

Abbiamo progettato una strategia di modifica del genoma per introdurre mutazioni neutralizzanti nel *locus* DF508 e preparato le cellule bersaglio e i costrutti per lo sviluppo dello strumento di evoluzione continua in cellule mammifere basato su CRISPR. Abbiamo convalidato le condizioni sperimentali per identificare e isolare le varianti di DF508 capaci di ripristinare la funzione di CFTR: separazione di singole cellule e analisi funzionale.

Conclusioni. Imposteremo una strategia di editing del genoma che aggira gli ostacoli che si frappongono alla riparazione delle delezioni come nel caso di deltaF508. Forniremo un approccio di terapia genica, basato su una nuova tecnologia di *base editor*, per il trattamento della FC e nuove conoscenze sul meccanismo molecolare del difetto deltaF508, che potrebbe portare all'identificazione di nuovi bersagli farmacologici.

TARGETING NON F508del-CFTR MUTATIONS

47. Optimization of a new lead promoting the readthrough of nonsense mutations for the CFTR rescue in human CF cells

Lentini L, Melfi R, Tutone M, Baldassano S, Di Leonardo A, Pace A and Pibiri I

Department STEBICEF, University of Palermo (FFC#3/2017. Concluded)



Laura Lentini, a sinistra, con Ivana Pibiri, partner del progetto di ricerca

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 translational readthrough of premature termination codons (PTCs) by Translational Read-Through-Inducing Drugs (TRIDs).

Hypothesis and objectives. In our previous study, by computational and biological screening we identified a new small molecule 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. Moreover we aimed to evaluate the activity of new molecules, in cells expressing a nonsense-CFTR-mRNA (ns CFTR). Further issues considered are the toxicity of evaluated molecules in animal model (zebrafish) and mechanism of action of the designed molecules as TRIDs.

Essential Methods. QSAR carried out on the basis of our previous results (FFC#1/2014), was performed to achieve the lead optimization and a small library of analogs has been synthesized in order 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 nsCFTR were grown in the a system to reproduce in vitro the epithelial organization. CFTR expression was evaluated by Real time RT PCR and Western blot analysis. After treatments with NV molecules, the channel functionality was measured by the EYFP quenching assay and Ussing chamber. Finally, the toxicity of two selected molecules was tested in vivo on zebrafish model.

Results. After virtual screening, 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. Moreover we performed in vitro and in vivo toxicity test (Zebrafish) to assess the safety profile of our molecules.

Conclusions. Identification of molecules displaying readthrough activity. Selection of a lead compound as therapeutic approach to the second cause of FC.

Ottimizzazione di una nuova molecola per il superamento delle mutazioni stop e il recupero della proteina CFTR in cellule umane FC

Problema e ragioni dello studio. Le 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 colpire il difetto genetico, promuovendo la trans-lettura 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. Un altro obiettivo è quello di valutarne l'eventuale tossicità *in vivo* nel modello sperimentale *zebrafish*.

Metodi essenziali. Abbiamo prodotto quattro delle più diffuse mutazioni stop che interessano il gene CFTR e ingegnerizzato cellule con costruzioni del gene mutato. Su tali sistemi modello è stata valutata la presenza e la funzionalità del canale dopo trattamento con i nostri farmaci. Inoltre, mediante dinamica molecolare e *docking* (calcolo delle possibili interazioni fra molecole, n.d.r.) si è cercato di individuare il bersaglio biologico di tali farmaci al fine di migliorarne la performance.

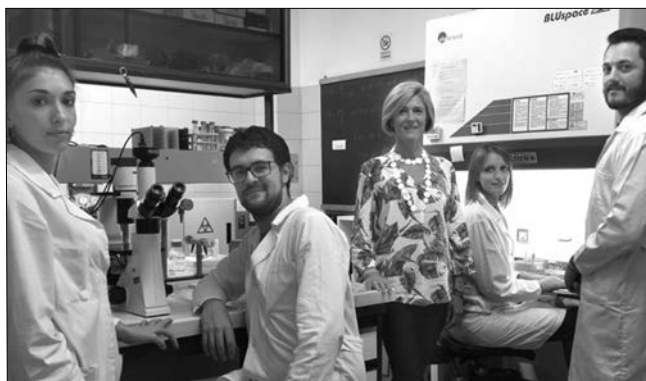
Risultati. Mediante uno studio di modellazione farmacoforica 3D-QSAR, sulla base di dati preliminari, abbiamo realizzato l'ottimizzazione di una nostra nuova molecola sintetizzando una piccola libreria di analoghi da testare. Cellule contenenti un gene CFTR mutato sono state utilizzate come sistema modello *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, abbiamo condotto dei test *in vitro* ed *in vivo* (*Zebrafish*) per stabilire il profilo di sicurezza di due molecole sintetizzate, confermando la non tossicità di una di queste.

Conclusioni. I risultati principali ottenuti da questo progetto sono stati l'ottenimento di una molecola con una buona attività di *readthrough* dei codoni di stop prematuri, quale approccio farmacologico della seconda causa di mutazione nella fibrosi cistica.

48. Antimicrobial peptides from amphibian skin for treatment of lung pathology in cystic fibrosis: advanced *in vitro* and *in vivo* functional characterization

Mangoni ML

Università La Sapienza Roma, Dip. di Scienze Biochimiche, Lab. di Peptidi Bioattivi (FFC#8/2019. New)



Maria Luisa Mangoni, al centro, con i ricercatori del suo laboratorio

Background and rationale. The most common mutation associated with the genetic disorder of Cystic fibrosis (CF) is the loss of phenylalanine 508 in the CF transmembrane conductance regulator.

This causes a defective CFTR protein with the resulting formation of a thick airway mucus and the establishment of chronic pulmonary infection, mainly due to the bacterium *Pseudomonas aeruginosa*. In the last years, we identified a short-sized antimicrobial peptide (AMP) from frog skin, Esc(1-21), that rapidly kills *P. aeruginosa* and eradicates its biofilm with a membrane-perturbing activity that prevents bacteria from developing resistance. Furthermore, a diastereomer of Esc(1-21), was found to be i) more resistant to proteolytic degradation; ii) more efficient in restoring bronchial epithelium integrity, a property which is not shown by any traditional antibiotic; and iii) more efficient in reducing lung bacterial burden in a mouse model of acute *Pseudomonas* lung infection, upon a single intra-tracheal (i.t.) instillation at a very low dosage (0.1 mg/kg).

Hypothesis and objectives. The project will initially study the effect of the two Esc peptides on the lung epithelium permeability. Next, polymeric nanoparticles (NPs) will be produced for delivery and sustained release of the selected AMPs at lung. Preclinical studies in healthy mice will be performed to determine the pulmonary safety profile and host response after i.t. administration of peptide-loaded NPs. This will be achieved by studying the short and long term effect(s) of peptide-loaded NPs on the lung tissue integrity and the host immune response. The results will be compared to those of the free peptides and unloaded NPs

Essential methods. A multidisciplinary approach combining biochemical, cell biology and computational methods as well as healthy mice for *in vivo* studies will be used.

Preliminary results. We demonstrated how polyvinyl alcohol-engineered poly(lactic-co-glycolic) acid NPs represent an enticing nanoformulation for pulmonary delivery of AMPs, prolonging their therapeutic efficacy against *Pseudomonas*-induced lung infection. Furthermore, both Esc peptides revealed to be non-toxic *in vitro* on the lung epithelium and to affect the membrane transport of water and ions.

Conclusions. These studies will allow to identify the best Esc peptide-based inhaled nanoformulations for treatment of lung pathology in CF with minimal side-effects.

Peptidi antimicrobici della pelle di anfibio per il trattamento della patologia polmonare nella fibrosi cistica: caratterizzazione funzionale *in vitro* e *in vivo*.

Problema e Ragioni dello studio. La mutazione più comune associata al disturbo genetico della fibrosi cistica (CF) è la perdita di fenilalanina 508 nella proteina regolatrice di conduttanza transmembrana CF. Ciò provoca la formazione di una proteina CFTR difettosa con la conseguente formazione di un muco ispessito delle vie aeree ed insorgenza di infezione polmonare cronica, principalmente da parte del batterio *Pseudomonas aeruginosa*. Negli ultimi anni, abbiamo identificato un peptide antimicrobico (AMP) di piccole dimensioni, dalla pelle di rana, l'Esc(1-21), che uccide rapidamente *P. aeruginosa* ed eradica il suo biofilm con un'azione di perturbazione della membrana che impedisce ai batteri di sviluppare resistenza. Inoltre, un diastereomero di Esc(1-21), è risultato essere: i) più resistente alla degradazione proteolitica; ii) più efficace nel ripristinare l'integrità dell'epitelio bronchiale, una proprietà che non è dimostrata da nessun antibiotico tradizionale; iii) più efficiente nel ridurre la carica batterica a livello polmonare in un modello murino di infezione polmonare acuta da *Pseudomonas*, in seguito ad una singola instillazione intra-tracheale (i.t.) a un dosaggio molto basso (0,1 mg / kg).

Ipotesi e Obiettivi. Il progetto studierà inizialmente l'effetto dei due peptidi Esc sulla permeabilità dell'epitelio polmonare. Successivamente, verranno prodotte nanoparticelle polimeriche (NP) per la veicolazione ed il rilascio prolungato degli AMP selezionati a livello polmonare. Saranno condotti studi preclinici in topi sani per determinare il profilo di sicurezza polmonare e la risposta dell'ospite dopo somministrazione i.t. di NP contenenti i peptidi. Ciò sarà ottenuto studiando gli effetti a breve e lungo termine di NP caricate con i peptidi sull'integrità del tessuto polmonare e sulla

risposta immunitaria dell'ospite. I risultati saranno confrontati con quelli di peptidi liberi e NP vuote.

Metodi essenziali. Verrà utilizzato un approccio multidisciplinare che combina metodi elettrofisiologici, biochimici, di biologia cellulare e computazionali, nonché topi per studi in vivo

Risultati preliminari. Abbiamo dimostrato come NP di acido poli(lattico-co-glicolico), ingegnerizzato con alcool polivinilico, rappresentino una promettente nanoformulazione per la veicolazione polmonare di AMP, prolungando la loro efficacia terapeutica contro l'infezione polmonare indotta da *Pseudomonas aeruginosa*. Inoltre, entrambi i peptidi Esc si sono rivelati non tossici in vitro per l'epitelio polmonare ed in grado di influenzare il trasporto di membrana di acqua e ioni.

Conclusioni e risultati attesi. Questi studi consentiranno di identificare le migliori nanoformulazioni per inalazione basate su peptidi Esc per il trattamento della patologia polmonare nella FC con minimi effetti collaterali.

49. Therotyping orphan mutations in Italian cystic fibrosis patients: efficacy of CFTR modulators and RNF5 inhibitors

Pedemonte N¹, Cavalli A²

¹IRCCS Istituto Giannina Gaslini, UOC Genetica Medica, Genova, ²Istituto Italiano di Tecnologia, Biologia Computazionale e Chimica, Genova (FFC#9/2019. New)



Nicoletta Pedemonte, prima a destra, responsabile del progetto, con i collaboratori e, in basso a sinistra, Andrea Cavalli, partner del progetto

Background and rationale. Most of the mutations associated to cystic fibrosis can be classified in different classes according to the mechanisms through which they cause CFTR loss of function. Research has focused on identifying small molecules, or modulators, that can restore CFTR function. In recent years, three modulators, Ivacaftor (Kalydeco), Lumacaftor/Ivacaftor (Orkambi), and Tezacaftor/Ivacaftor (Symdeko/Symkevi), have been FDA-approved to treat CF patients with certain CFTR mutations.

Hypothesis and objectives. Not all mutations belonging to the same class respond equally to a single agent. Furthermore, many CF patients have poorly characterized mutations, whose responsiveness to pharmacological treatment remains to be established. A personalized approach needs to be strongly considered for the treatment of CF basic defect.

Essential methods. Primary cell culture-based models derived from CF patients by a minimally invasive nasal brushing are very important to evaluate CFTR activity and its possible changes due to therapeutic interventions in individual patients. The principal aim of our project is to establish the responsiveness of CF patients to different pharmacological agents applying nasal brushing-derived pri-

mary culture models. This will be applied to patients of our CF center.

Preliminary results. We have already selected a list of 24 patients bearing two rare mutations, or one rare mutation in combination with another mutation not responsive to available modulators. Recently, our group collaborated to the characterization of the G970D, performed using patient's nasal cells expanded and reprogrammed using the SMAD-based protocol. This study demonstrated that G970D could benefit from both potentiators and correctors. Other CFTR modulators that are in preclinical development, like the one identified in the Task Force for Cystic Fibrosis project, are also available for testing in cells from CF patients. The RNF5 inhibitor-2 is also of interest to gain a deeper knowledge on quality control mechanisms.

Conclusions. The nasal brushing-derived primary culture models will help to predict the most responsive patients for each treatment, facilitating future clinical trials in which patients will be selected according to their predicted therapy, i.e. their response to treatments. In this way, promising compounds can be prioritized for a faster and therapy-specific development and approval.

Mutazioni orfane presenti nei pazienti italiani: caratterizzazione della risposta ai modulatori di CFTR

Problema e ragioni dello studio. Le mutazioni che causano fibrosi cistica possono essere suddivise in diverse classi a seconda del meccanismo attraverso il quale determinano la perdita di funzione della proteina CFTR. La ricerca ha permesso di identificare composti chimici, o modulatori, che possono recuperare la funzione di CFTR. Tre farmaci, Ivacaftor (Kalydeco), Lumacaftor/Ivacaftor (Orkambi), e Tezacaftor/Ivacaftor (Symdeko/Symkevi), sono stati approvati per l'uso sui pazienti con determinate mutazioni.

Ipotesi e obiettivi. Non tutte le mutazioni appartenenti a una stessa classe rispondono allo stesso modo ai diversi modulatori di CFTR. Molti pazienti, inoltre, hanno delle mutazioni la cui risposta ai trattamenti rimane da determinare. Devono quindi essere sviluppati degli approcci personalizzati per il trattamento del difetto di base in fibrosi cistica.

Metodi essenziali. Le colture primarie di cellule nasali derivate da pazienti FC permettono di valutare in maniera poco invasiva l'attività di CFTR e l'effetto dei modulatori sui singoli pazienti. L'obiettivo principale del nostro progetto è di determinare la risposta di pazienti del nostro centro FC a diversi modulatori attraverso l'uso delle colture di cellule nasali.

Risultati preliminari. Abbiamo già selezionato 24 pazienti del nostro centro FC che hanno due mutazioni rare, oppure una mutazione rara in combinazione con un'altra mutazione per la quale non siano disponibili modulatori. Recentemente il nostro gruppo ha collaborato a uno studio in cui veniva caratterizzata la mutazione G970D attraverso l'uso delle cellule nasali del paziente, coltivate in vitro con un protocollo specifico. Questo studio ha dimostrato che questa mutazione può beneficiare del trattamento con correttore e potenziatore. Sono inoltre disponibili per i test nuovi composti attualmente in sviluppo preclinico, quale il correttore identificato nel progetto Task Force for Cystic Fibrosis. Infine, composti come l'inibitore (inh-2) di RNF5 possono aumentare le nostre conoscenze sui meccanismi di controllo qualità cellulari.

Conclusioni. I modelli basati su cellule nasali ci aiuteranno a determinare i trattamenti farmacologici più efficaci per ogni paziente, facilitando l'organizzazione di trial clinici futuri nei quali i pazienti saranno selezionati sulla base della loro risposta ai trattamenti determinata "in vitro". In questo modo, sarà possibile dare priorità allo sviluppo e all'approvazione dei modulatori più promettenti, sulla base del loro efficacia per le diverse mutazioni.

50. Preclinical study of a combined host- and pathogen directed approach based on bioactive liposomes and bacteriophages against *Mycobacterium abscessus* infection

Poerio N¹, De Santis F¹, Riva C², Cirillo D², Lucidi V³, Thaller MC¹, D'Andrea MM¹, Fraziano M¹

¹Department of Biology, University of Rome "Tor Vergata", Rome, Italy, ²Emerging Bacteria Pathogens Unit, San Raffaele Scientific Institute, Milan., ³Fibrosis Unit, Paediatric Hospital "Bambino Gesù", Rome. (FFC#21/2019, New)



Maurizio Fraziano con le collaboratrici del progetto di ricerca

Background and Rationale. We have developed apoptotic body like liposomes (ABL) loaded with selected bioactive lipids able to enhance bactericidal innate immunity against multidrug resistant (MDR) pulmonary infections and to limit inflammatory response. In addition, phage therapy is a promising strategy in the fight against MDR bacteria and may represent an additional therapeutic tool for their management.

Hypothesis and objectives. The main goal of this project is the development of a novel combined host- and pathogen- directed therapeutic approach, based on bioactive liposomes and phage specific for *Mycobacterium abscessus* (MA), used as a relevant MDR pathogen in Cystic Fibrosis (CF) patients.

Essential methods. ABLs will be loaded with different bioactive lipids, tested on primary macrophages derived by CF patients or healthy donors, *in vitro* infected with MA, and evaluated in terms of bacterial phagocytosis, phagolysosome maturation, killing, and cytokine production. At the same time, we will search and purify phages specific for MA and their efficacy will be tested *in vitro* as an example of combined host- and pathogen- directed therapeutic approach. Finally, the best combination of ABL/phages in terms of mycobactericidal activity will be selected and evaluated *in vitro* in MA infected cells and *in vivo* in a murine model of chronic MA infection.

Preliminary results. Our preliminary results show that primary macrophages from healthy donors, either treated or untreated with CFTR inhibitor INH172, *in vitro* infected with MA and stimulated with selected ABLs, are able to promote i) bacterial uptake, ii) phagosome acidification, iii) ROS production and iv) intracellular mycobacterial killing.

Expected results and their significance. Expected results will consist in the identification and purification of phages specific for MA, which will be associated with selected ABL formulations in order to design a novel host- and pathogen- directed combination therapy. This approach will be useful against MA infections in patients with CF and will be potentially applicable to MDR infections caused also by other pathogenic bacteria.

Studio pre-clinico di una strategia terapeutica combinata basata su liposomi bioattivi e batteriofagi contro le infezioni causate da *Mycobacterium abscessus*

Problema e ragioni dello studio. Abbiamo generato dei liposomi simili a corpi apoptotici (Apoptotic body like liposomes, ABL (vescicole derivanti dalla frammentazione di cellule non più vitali e fagocitabili dai macrofagi, n.d.r.)) caricati con lipidi bioattivi, in grado di potenziare la risposta antimicrobica innata nei confronti di batteri patogeni multifarmaco-resistenti (MDR) e limitare la risposta infiammatoria. Inoltre, le nuove terapie basate su batteriofagi possono rappresentare un ulteriore strumento terapeutico teso a fronteggiare l'emergenza di ceppi batterici antibioticoresistenti.

Ipotesi e obiettivi. L'obiettivo principale di questo progetto è quello di validare in modelli *in vitro* ed *in vivo* una nuova formulazione basata su ABL e batteriofagi che abbia sia capacità immunoterapeutiche che microbicide per il controllo dell'infezione causata da *Mycobacterium abscessus* (MA) in pazienti affetti da Fibrosi Cistica (FC).

Metodi essenziali. Gli ABL saranno caricati con differenti lipidi bioattivi e analizzati in macrofagi primari derivati da pazienti affetti da FC o da donatori sani, trattati o no con l'inibitore farmacologico di CFTR (INH172) e infettati *in vitro* con MA. La migliore formulazione liposomale sarà valutata in termini di potenziamento delle varie fasi del processo di fagocitosi (internalizzazione batterica, maturazione fagosomale e uccisione intracellulare) e di modulazione di citochine infiammatorie. Contestualmente, sarà effettuata la ricerca e purificazione di fagi specifici per MA e la valutazione *in vitro* della loro efficacia. Infine la migliore combinazione ABL/fago sarà valutata *in vitro* in termini di attività micobattericida e *in vivo* in un modello di infezione cronica con MA.

Risultati preliminari. I nostri risultati preliminari mostrano che macrofagi primari trattati o no con l'inibitore INH172, infettati *in vitro* con MA, e stimolati con ABL selezionati sono in grado di promuovere i) l'internalizzazione batterica, ii) l'acidificazione fagosomale, iii) la produzione di intermedi reattivi dell'ossigeno e iv) l'uccisione intracellulare del micobatterio.

Risultati attesi e loro significato. I risultati attesi consistono nell'identificazione di una formulazione terapeutica che sia in grado da una parte di potenziare la risposta antimicrobica innata (tramite ABL), dall'altra di avere un effetto microbicide diretto sul patogeno (tramite batteriofagi specifici per MA). Questo approccio sarà utile contro le infezioni da MA in pazienti FC e può essere potenzialmente applicabile anche a infezioni sostenute da altri batteri patogeni MDR.

51. Preclinical evaluation of liposomes carrying bioactive lipids as an immune therapeutic tool against *in vivo* infection with *Mycobacterium abscessus*

Riva C¹, Poerio N², Rossi M¹, Gona F¹, Tortoli E¹, Fraziano M², Cirillo DM¹

¹Emerging Bacterial Pathogens Unit, IRCCS San Raffaele Scientific Institute, Milano, Italy, ² Department of Biology, University of Rome "Tor Vergata", Rome. (FFC#16/2018. Concluded - FFC#17/2019. Extension)



Daniela Maria Cirillo, al centro, responsabile del progetto, assieme ai collaboratori

Background and rationale. *M. abscessus* (MA) is an emerging multidrug resistant (MDR) non-tuberculous mycobacteria (NTM) that affects cystic fibrosis (CF) patients, and is often associated with a dramatic decline in lung function. Liposomes carrying bioactive lipids represent a new pharmacologic approach that are able to enhance bactericidal innate immunity, against multidrug resistant (MDR) pulmonary infections.

Hypothesis and objectives. The main goal of the present study was to evaluate the effect of different apoptotic body-like liposomes (ABLs) on *in vitro* and *in vivo* MA infection. The MA infection *in vitro* allowed us to investigate the mechanism of action of ABLs on macrophage phagocytosis mechanism.

Essential methods. We set up different *in vitro* infections with MA reference strain (ATCC 19977) on human pro-monocytic THP-1 leukemia cell line (dTHP-1) to investigate the effect of ABLs on phagocytic mechanism. We validated the effect of different ABLs (ABL/PA, ABL/PI3P, ABL/PI5P, ABL/AA, ABL/LBPA and ABL/S1P) *in vitro* with dTHP-1 cells and in C57Bl/6 mice chronically infected with MA. At different time points, mice lungs, liver and spleen were processed for microbiological analysis. Inflammatory response and histological analysis were evaluated in total lungs.

Results. *In vitro* results showed that ABL/PA, ABL/PI3P and ABL/PI5P were more effective to increase the phagocytic and the intracellular microbicidal activity of human dTHP1 infected with MA than ABL/AA, ABL/LBPA and ABL/S1P. Then we established a consistent pulmonary infection in immunocompetent mice up to 36 days with MA and at different time point mice were treated with the best 3 ABLs (ABL/PA, ABL/PI3P and ABL/PI5P) selected in *in vitro* experiments. Results showed that, despite the absence of effect in granuloma reduction at parenchymal level, ABLs treatment statistically reduced both lung's bacterial burden and inflammatory response.

Conclusions. ABLs could represent a novel immunotherapeutic strategy to treat pulmonary infection by drug-resistant MA in CF patients.

Extension Project- FFC #17/2019. In the next FFC #17/2019 project we will evaluate the synergistic effect of ABLs with different antibiotics (amikacin, clarithromycin and cefoxitin), commonly used in the treatment of MA infection, in *in vitro* and *in vivo* experiments. We will expect to identify a combined treatment that may enhance the host innate antibacterial response against MA infection and to increase the killing capacity of macrophages with CF mutations.

Studio pre-clinico *in vitro* e *in vivo* di un approccio immunoterapeutico basato su liposomi bioattivi per il controllo dell'infezione causata da *Mycobacterium abscessus*.

Problemi e 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 antibatterica dell'immunità innata

contro le infezioni polmonari date da patogeni multi-resistenti.

Ipotesi e obiettivi. Il principale obiettivo di questo studio è stato quello di valutare l'effetto di diverse formulazioni di liposomi (ABLs) in infezioni indotte da MA in esperimenti *in vitro* e *in vivo*. Inoltre abbiamo studiato *in vitro* l'effetto degli ABLs sul meccanismo di fagocitosi dei macrofagi.

Metodi essenziali. Abbiamo messo a punto diverse infezioni con il ceppo di riferimento di MA (ATCC 19977) su una linea cellulare macrofagica (dTHP1) per studiare l'effetto degli ABLs sul meccanismo di fagocitosi (capacità della cellula di inglobare e distruggere virus, batteri e altro materiale estraneo, n.d.r.) Abbiamo testato l'effetto di diversi ABLs (ABL/PA, ABL/PI3P, ABL/PI5P, ABL/AA, ABL/LBPA and ABL/S1P) *in vitro* con cellule dTHP-1 e in topi C57Bl/6 cronicamente infetti da MA. A diversi "time point" abbiamo valutato la carica batterica nel polmone, nel fegato e nella milza murina. Inoltre a livello polmonare abbiamo analizzato la risposta infiammatoria e eseguito l'analisi istologica.

Risultati. I risultati ottenuti *in vitro* hanno mostrato che ABL/PA, ABL/PI3P e ABL/PI5P hanno una maggior efficacia nell'aumentare l'attività fagocitica e l'attività microbicida intracellulare delle cellule dTHP1 infettate con MA rispetto a ABL/AA, ABL/LBPA e ABL/S1P. Abbiamo poi stabilito un'infezione cronica in topi immunocompetenti fino a 36 giorni e abbiamo trattato gli animali con le 3 migliori formulazioni di ABLs (ABL/PA, ABL/PI3P and ABL/PI5P) selezionate *in vitro*. I risultati hanno mostrato che, nonostante l'assenza di una riduzione dei granulomi nel parenchima polmonare, i trattamenti con i liposomi riducono statisticamente sia la carica batterica che la risposta infiammatoria a livello polmonare.

Conclusioni. Questi liposomi potrebbero rappresentare una nuova strategia immunoterapeutica per trattare l'infezione polmonare causata da MA multi-resistenti nei pazienti affetti da FC.

Estensione Progetto. Nel prossimo progetto (FFC #17/2019) valuteremo l'effetto sinergico degli ABLs con diversi antibiotici (amikacina, claritromicina e cefoxitina), comunemente utilizzati nel trattamento delle infezioni da MA, in esperimenti *in vitro* e *in vivo*. 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.

52. New weapons against *Mycobacterium abscessus* and other nontuberculous mycobacteria

Sammartino JC¹, Degiacomi G¹, Chiarelli LR¹, Urbani A¹, Makarov V², Pasca MR¹

¹Department of Biology and Biotechnology "Lazzaro Spallanzani", University of Pavia, Pavia, Italy, ²Bakh Institute of Biochemistry, Russian Academy of Science, Moscow, Russia.(FFC#19/2018, Ongoing)



Maria Rosalia Pasca, a sinistra in basso, con i ricercatori che collaborano al progetto

Background and rationale. Nontuberculous mycobacteria (NTM) are recently emerging as important pathogens among cystic fibrosis (CF) patients worldwide with a prevalence of 3.3-22.6%; unfortunately,

this number is growing¹. Among them, *Mycobacterium abscessus* (Mab) is becoming the most worrisome pathogen in hospitals and CF centers around the world. Mab is intrinsically resistant to many drugs; in fact, the therapy is very long and its failure causes an accelerated lung function decline. The human-to-human Mab transmission was demonstrated, indicating the evolution of Mab from an environmental bacterium to a transmissible human pathogen². Recently, the link between a dysfunctional CFTR (typical of CF patients) and the vulnerability to Mab infection was also showed³.

Hypothesis and objectives. Overall, these last findings explain why Mab infections are spreading among CF patients and highlight the urgent need of new drugs with a novel mechanism of action, which is the main objective of our Project.

Essential methods. The MIC determination was evaluated using REMA method. Mab spontaneous mutants resistant to 11326083 were isolated by plating cultures of wild-type strain onto solid media containing high concentrations of the compound.

Results. We screened more than 500 compounds synthesized by Dr. V. Makarov against Mab growth. Interestingly, one molecule (11326083; MIC = 1-2 µg/ml) was found to be active not only against Mab, but also against other NTM species and MDR clinical isolates. In order to study its mechanism of action/resistance, we isolated some 11326083-resistant mutants and their characterization is in progress. Moreover, MmpL3 is an essential transporter of mycolic acids, component of mycobacterial cell wall, and it is a new druggable target in Mab⁴. For this reason, we are looking for MmpL3 inhibitors active against this pathogen, taking advantage of our collaborations and using an innovative approach.

Conclusions. The emergence of Mab as CF pathogen is a health threat worldwide and, for this reason, we are looking for new drugs active against this worrisome CF pathogen. We found a promising compound very active against Mab, other NTM subspecies and MDR clinical isolates; the study of its mechanism of action is in progress. Moreover, if we identify some MmpL3 active inhibitors, they will be further characterized. We hope to find new and more active anti-Mab drugs and to help the research to progress in the fight against this pathogen.

Nuove armi contro *Mycobacterium abscessus* e altri micobatteri non tubercolari

Problema e ragioni dello studio. I micobatteri non tubercolari (NTM) stanno emergendo come importanti agenti patogeni tra i pazienti affetti da fibrosi cistica (FC) in tutto il mondo (3.3-22.6%). Tra i NTM, *Mycobacterium abscessus* (Mab) sta diventando il patogeno più temuto nei centri FC di tutto il mondo. Mab è intrinsecamente resistente a molti farmaci; infatti la terapia è molto lunga e il suo fallimento provoca un rapido declino della funzione polmonare. È stata recentemente dimostrata la trasmissione di Mab da uomo a uomo, indicando la sua evoluzione da batterio ambientale a patogeno umano trasmissibile. Inoltre, è stato anche evidenziato il legame tra mutazioni in CFTR, tipiche dei pazienti FC, e la vulnerabilità all'infezione causata da Mab.

Ipotesi e obiettivi. Questi ultimi dati spiegano perché le infezioni causate da Mab si stanno diffondendo tra i pazienti FC e sottolineano l'urgente necessità di nuovi farmaci, obiettivo principale del nostro Progetto.

Metodi essenziali. La determinazione della MIC è stata valutata utilizzando il metodo REMA. I mutanti spontanei di Mab resistenti al composto 11326083 sono stati isolati mediante piastramento di colture su terreno solido contenente concentrazioni elevate del composto.

Risultati. Abbiamo testato più di 500 composti sintetizzati dal Dr. V. Makarov contro la crescita di Mab. Il composto 11326083 (MIC = 1-2 µg/ml) è risultato attivo non solo contro Mab, ma anche contro altre specie NTM ed isolati clinici multi-resistenti ai farmaci. Per studiare il suo meccanismo di azione/resistenza, abbiamo isolato alcuni mutanti resistenti a 11326083 e la loro caratterizzazione è in corso. Inoltre, MmpL3, un trasportatore essenziale di acidi micolici, componenti della parete cellulare micobatterica, è un nuovo bersaglio di composti attivi contro Mab. Per questo motivo, stiamo cercando inibitori di MmpL3 attivi contro questo patogeno, utilizzando un approccio innovativo.

Conclusioni. La diffusione di Mab come patogeno per la FC è una minaccia per la salute in tutto il mondo e per questo motivo stiamo cercando nuovi farmaci. Abbiamo trovato un composto promettente molto attivo contro Mab, altre sottospecie NTM e isolati clinici resistenti agli antibiotici; lo studio del suo meccanismo d'azione è in corso. Inoltre, se identificheremo inibitori di MmpL3 attivi contro questo patogeno, essi saranno caratterizzati. Speriamo di trovare nuovi farmaci contro Mab e di aiutare la ricerca a progredire nella lotta contro questo patogeno.

ADVANCES IN CF MICROBIOLOGY

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. Ongoing)



Eugenio Notomista, primo a destra, responsabile del progetto, con i collaboratori di ricerca

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 especially for the treatment of biofilm-associated chronic infections. Cationic antimicrobial peptides (CAMPs), essential components of innate immune system, show broad range antimicrobial, antibiofilm and anti-inflammatory activity. Unfortunately, CAMPs sensitivity to host and bacterial proteases limits the administration routes and, hence, their usefulness as drugs. A possible solution is to develop antimicrobial peptidomimetics, structurally and functionally similar to CAMPs, but resistant to proteases.

Hypothesis and objectives. The main aim of the project is to explore the efficacy in vitro and in vivo of peptoid P13#1, an antimicrobial peptidomimetic designed to mimic cathelicidins (CAMPs from vertebrates).

Essential methods. MIC values were measured on a panel of Gram(-) and (+) strains including *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *B. cenocepaea* and *S. aureus*. P13#1/tobramycin and P13#1/ciprofloxacin interaction studies were also performed. The efficacy in vivo was evaluated on *P. aeruginosa* PAO1 in the mouse model of lung infection developed by the CFaCore FFC facility.

Preliminary results. P13#1 showed wide spectrum antimicrobial activity with MIC values below 2 µM. The sole resistant strains was *B. cenocepaea*. Fractional Inhibitory Concentration Index (FIC) of

P13#1 and tobramycin or ciprofloxacin were in the range 0.5-1 thus indicating additivity/weak synergy. In the case of P13#1+tobramycin on *P. aeruginosa* PAO1 the FIC value was 0.62, very close to the threshold for synergy (0.5).

Toxicity of P13#1 was tested in mice by injecting the peptoid endo-tracheally. As 3 mg/Kg was found to be the highest tolerated dose, doses of 0.5, 1 and 2 mg/kg were tested in the lung infection model. P13#1 proved to reduce significantly the CFU count of *P. aeruginosa* when co-administered with the bacteria, whereas, it caused a dose dependent increase when administered after bacterial cells using the PennCentury aerosolizer.

Conclusions. P13#1 has high antimicrobial activity both *in vitro* and *in vivo*, however, in the mouse model of lung infection poor bio-distribution and local toxicity likely reduce its efficacy. Therefore, during the second year our attention will focus on strategies to improve the administration of the peptoid.

Efficacia *in vitro* e *in vivo* di un peptidomimetico antimicrobico e antibiofilm contro patogeni polmonari rilevanti nella fibrosi cistica.

Problema e ragioni dello studio. I batteri patogeni sviluppano facilmente resistenza agli antibiotici convenzionali, anche attraverso la formazione di biofilm. Pertanto è particolarmente urgente lo sviluppo di nuovi antimicrobici per il trattamento delle infezioni croniche associate alla presenza di biofilm. I peptidi antimicrobici cationici (CAMP), componenti essenziali del sistema immunitario innato, possiedono attività antimicrobica, antibiofilm e antinfiammatoria. Sfortunatamente, i CAMP sono generalmente sensibili alle proteasi e questo ne limita le vie di somministrazione e, quindi, l'utilità come farmaci. Una soluzione promettente è lo sviluppo di peptidomimetici resistenti alle proteasi ma strutturalmente e funzionalmente simili ai CAMP.

Ipotesi e obiettivi. Lo scopo principale del progetto è esplorare l'efficacia *in vitro* e *in vivo* del peptoido P13#1, un peptidomimetico antimicrobico progettato per mimare le catelicidine (CAMPs caratteristici dei vertebrati).

Metodi essenziali. Sono stati misurati i valori di MIC su numerosi ceppi Gram(-) e (+) tra cui *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *B. cenocepacia* e *S. aureus*. Sono stati inoltre condotti studi di interazione P13#1/antibiotico. L'efficacia *in vivo* è stata valutata su *P. aeruginosa* PAO1 nel modello murino di infezione polmonare sviluppato dalla facility FFC CFACore.

Risultati preliminari. P13#1 ha mostrato attività antimicrobica ad ampio spettro con MIC inferiori a 2 μ M (con l'unica eccezione di *B. cenocepacia*). Gli studi di interazione P13#1/antibiotico hanno dimostrato che P13#1 ha attività additiva con tobramicina o ciprofloxacina mentre la combinazione P13#1+tobramicina su *P. aeruginosa* PAO1 ha mostrato una debole sinergia. La tossicità di P13#1 nei topi è stata valutata mediante somministrazione endotracheale. Avendo verificato che 3 mg/kg è la dose più alta tollerata, è stata valutata l'efficacia nel modello di infezione polmonare di tre dosi pari a 0,5, 1 e 2 mg/kg. P13#1 ha dimostrato di ridurre significativamente la conta delle CFU di *P. aeruginosa* quando somministrato contemporaneamente ai batteri, mentre ha causato un aumento dose-dipendente quando somministrato dopo le cellule batteriche mediante aerosol (aerosolizzatore PennCentury).

Conclusioni. P13#1 ha un'elevata attività antimicrobica sia *in vitro* che *in vivo*, tuttavia, nel modello murino di infezione polmonare una scarsa biodistribuzione e la tossicità locale probabilmente ne compromettono l'efficacia. Pertanto, durante il secondo anno la nostra attenzione si concentrerà sulle strategie per migliorarne la somministrazione.

54. 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, ²Istituto di Chimica del Riconoscimento Molecolare CNR-ICRM, ³Istituto di Scienza e Tecnologia dei materiali ceramici ISTECC - CNR, Faenza, ⁴Istituto di Genetica e Ricerca biomedicale -IRGB, Milano (FFC#20/2018. Ongoing)



Maurizio Sanguinetti, primo a sinistra, responsabile del progetto, e i due partner di ricerca, Alberto Vitali e Michele Iafisco

Problems and reason for the study. The search for new antibiotic formulations is a primary objective to counteract the persistence of antibiotic-resistant bacterial strains, which cause chronic lung infections in CF patients. Molecules known as antimicrobial peptides (AMPs) are naturally being produced which are proving to be viable alternatives to conventional antibiotics, and the use of inhalable nanoparticles (NPs) can increase the effectiveness of these molecules [2]. The aim of this project is therefore to produce a new therapeutic formulation based on inhalable and completely biocompatible NPs consisting of calcium phosphate (CaP), the same material from which the bones and teeth are made, and to functionalize them with AMPs. In the first year of the project the best conditions were then developed to prepare these CaPs to be able to "load" them with selected antimicrobial peptides.

Methods. The nanoparticles were prepared using a one-pot synthetic approach, i.e. adding a calcium solution to a phosphate solution. The synthesis conditions (reagent concentration, temperature and reaction time) were varied by optimizing the characteristics of the nanomaterial (crystallinity and size) for the subsequent phase of adsorption and release of the therapeutic agent.

Preliminary results. From these processes, high crystallinity nanoparticles (CaP1 and CaP2) were obtained, which were used for the subsequent adsorption phase of the biomolecules. This process was carried out by interaction of a solution with known concentration of antimicrobial and antibiofilm peptides (Colistin, SP-E [3] and 1018[4]), and nanomaterial (CaP1 and CaP2). To validate the antimicrobial properties of these aggregates, the first tests were performed on two different clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* with CaPs functionalized with colistin, a peptide used as the reference standard. The values of the Minimum Inhibitory Concentrations (MICs) of the functionalised nanoparticles compared to free colistin were very encouraging, as were the preliminary data on the activity against *P. aeruginosa* biofilm.

Conclusions. The experiments conducted in this year of activity have allowed to study and optimize different synthetic strategies aimed at optimizing a protocol for the adsorption of antimicrobial peptides on nanoparticles based on calcium phosphate. The preliminary data of the antibacterial activity of the different formulations, both with respect to the isolates in planktonic and in sessile conditions have provided valuable information on the optimal loading of colistin to obtain the best efficacy. The results obtained for the functionalized nanoparticles produced so far pave the way for the synthesis of nanoparticles with antimicrobial peptides.

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

Problemi e ragione dello studio. La ricerca di nuove formulazioni antibiotiche è un obiettivo primario per contrastare la persistenza dei ceppi batterici antibiotico-resistenti, causa delle infezioni polmonari croniche a carico dei pazienti di FC. In natura vengono prodotte molecole note come peptidi antimicrobici (AMPs) che si stanno dimostrando delle valide alternative agli antibiotici convenzionali, inoltre l'impiego di nanoparticelle (NPs) inalabili può aumentare l'efficacia di tali molecole. -Lo scopo di questo progetto è quindi quello di produrre una nuova formulazione terapeutica basata su NPs inalabili e completamente biocompatibili costituite da calcio fosfato (CaP), lo stesso materiale di cui sono fatte le ossa e i denti e funzionalizzarle con AMPs. Nel primo anno del progetto sono state messe quindi a punto le migliori condizioni per preparare queste CaPs per poterle poi "caricare" con i peptidi antimicrobici selezionati.

Metodi. Le nanoparticelle sono state preparate tramite un approccio sintetico di tipo one-pot, ovvero aggiungendo una soluzione di calcio ad una soluzione di fosfato. Le condizioni di sintesi (concentrazione dei reagenti, temperatura e tempi di reazione) sono state variate ottimizzando le caratteristiche del nanomateriale (cristallinità e dimensioni) per la successiva fase di adsorbimento e rilascio dell'agente terapeutico.

Risultati preliminari. Da questi processi si sono quindi ottenute nanoparticelle ad alto grado di cristallinità (CaP1 e CaP2) utilizzate per la successiva fase di adsorbimento delle biomolecole. Questo processo è stato effettuato mediante interazione di una soluzione a concentrazione nota dei peptidi antimicrobici e antibiofilm (Colistina, SP-E e 1018), e del nanomateriale (CaP1 e CaP2). Per validare le proprietà antimicrobiche di questi aggregati, si è proceduto ad effettuare i primi test nei confronti di due diversi isolati clinici di *Pseudomonas aeruginosa* con CaPs funzionalizzate con colistina, un peptide utilizzato come standard di riferimento. I valori delle Minime Concentrazioni Inibenti (MIC) delle nanoparticelle funzionalizzate rispetto alla colistina libera sono risultati molto incoraggianti così come i dati preliminari sull'attività contro il biofilm di *P. aeruginosa*.

Conclusioni. Gli esperimenti condotti in questo anno di attività hanno permesso di studiare ed ottimizzare diverse strategie sintetiche volte ad ottimizzare un protocollo per l'adsorbimento di peptidi antimicrobici su nanoparticelle a base di fosfato di calcio. I dati preliminari dell'attività antibatterica delle diverse formulazioni, sia nei confronti degli isolati in condizioni planctoniche che in condizioni sessili hanno fornito preziose informazioni sul "loading" di colistina ottimale per ottenere la migliore efficacia. I risultati ottenuti per le nanoparticelle funzionalizzate fin qui prodotte aprono la strada per la sintesi delle nanoparticelle con peptidi antimicrobici.

55. 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

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

Department of Life and Environmental Sciences, Polytechnic University of Marche, Ancona. (FFC#13/2017, Concluded - FFC#16/2019, Extension)

Background and rationale. Persistent bacteria, including the Viable But Non-Culturable (VBNC) forms, are involved in the recurrent and chronic *Pseudomonas aeruginosa* (PA) lung infections affecting Cystic Fibrosis (CF) patients. VBNC development can be induced by a variety of stressors, such as exposure to toxic compounds (e.g. antibiotics) and nutrient depletion, that are typically found in the CF lung.

Hypothesis and objectives. We have previously demonstrated the involvement of tobramycin (T) in the abundance and stabil-



Francesca Biavasco, seconda da sinistra, responsabile del progetto con i suoi collaboratori

ity of VBNC PA forms in vitro biofilms starved for 5 months. This year we set out to gain further insights into i) the role of T and of different T resistance mechanisms and ii) the involvement of additional stressors found in the CF lung in the abundance of VBNC cells in PA biofilms.

Essential methods. Three PA strains characterized by different T resistance mechanisms – two clinical CF strains (PA C30, showing mexXY-based low-level resistance and PA AR86, showing ant(2'')-Ia-based high-level resistance) and the PAO1 reference strain – were used in the study. We exposed 48h in vitro biofilms to different stress conditions: maintenance in NN broth (NN); high salt concentrations; catabolite accumulation; each unsupplemented or supplemented with subinhibitory T concentrations. Biofilms were tested for 5 months (PA30 and PA AR86) or 7 days (PAO1) for VBNC cell content using culture methods, qPCR (3) and flow cytometry after live/dead staining.

Results. After 5-month exposure to NN+T, VBNC abundance was greater in PA C30 (95% of all live cells) than in PA AR86 biofilms (50%), which indicates that there were 50% culturable persisters in the latter biofilms. NN exposure induced similar effects on biofilms of both strains (90% of VBNC cells). The PAO1 biofilms, tested after 7-day exposure, showed a greater VBNC abundance in response to high salt concentrations (90%) and catabolite accumulation (99%) than to NN (only culturable PA cells).

Conclusions. These findings demonstrate: i) a variable and strain-specific effect of T in inducing the VBNC phenotype after long-term exposure; ii) its involvement in the development of VBNC or persistent culturable forms in presence of typical CF-related stress conditions; and iii) the need for a culture-independent microbiological diagnosis to properly monitor PA colonization of CF lung.

Extension project - FFC#16/2019. The study of the factors contributing to the development and persistence of PA VBNC forms in CF lung biofilms will be improved by testing six further anti-*Pseudomonas* drugs. A species-specific flow cytometry protocol suitable for the routine diagnosis of PA infection in CF patients will also be developed.

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

Problema e ragioni dello studio. Lo sviluppo di varianti batteriche persistenti, tra cui quelle Vitali ma Non Coltivabili (VBNC), può causare la recrudescenza delle infezioni polmonari da *Pseudomonas aeruginosa* (PA). Le forme VBNC sono indotte da varie condizioni di stress, alcune delle quali tipiche dei biofilm infettivi dei pazienti affetti da fibrosi cistica (CF).

Ipotesi e obiettivi. Il progetto FFC#13/2017 nel primo anno di attività ha dimostrato il contributo di concentrazioni sub-inibenti di tobramicina (T) nella formazione di PA VBNC in biofilm esposti per 150 giorni a carenza di nutrienti (NN). Successivamente è stato valutato i) il ruolo della T in relazione a specifici meccanismi di resistenza e ii) il coinvolgimento di altri fattori di stress tipici del biofilm polmonare CF.

Metodi essenziali. Sono stati utilizzati 3 ceppi di PA, 2 CF con differenti meccanismi di T resistenza (PA C30, basso livello di resistenza dovuto all'efflusso dell'antibiotico, e PA AR86, alto livello di resistenza dovuto al gene *ant(2'')-Ia* responsabile della modificazione della T (saggi a 150 gg) e il ceppo di collezione PAO1 (saggi a 7gg). Biofilm *in vitro* di 48h, esposti per 150/7 giorni a NN, alte concentrazioni saline o accumulo di cataboliti, in presenza/assenza di concentrazioni sub-inibenti di T, sono stati analizzati per la presenza di forme VBNC e vitali totali mediante saggi colturali, qPCR, e citofluorimetria dopo colorazione live/dead.

Risultati. L'esposizione a NN+T per 150 giorni ha mostrato una risposta ceppo-specifica, con un maggior numero di VBNC in PA C30 rispetto a PA AR86 (95% vs 50% di cellule vitali totali); la metà della popolazione persistente del secondo era infatti ancora coltivabile. La sola NN ha invece prodotto risultati simili (90% di forme VBNC) nei due ceppi. I biofilm esposti a diversi tipi di stress per 7

giorni hanno mostrato un maggiore sviluppo di VBNC (90 e 99% rispettivamente) in presenza di elevate concentrazioni saline e di accumulo di cataboliti rispetto alla NN; la presenza di T è risultata ininfluente.

Conclusioni. Questi risultati dimostrano: i) un effetto ceppo-specifico della T nello sviluppo di VBNC dopo lunga permanenza in NN; ii) il ruolo dell'antibiotico nell'abbondanza di forme persistenti in co-presenza di fattori di stress presenti nel polmone CF; iii) la necessità di una diagnosi microbiologica basata su metodiche non colturali per monitorare adeguatamente la colonizzazione del polmone CF.

Estensione del progetto (FFC#16/2019). Lo studio dei possibili fattori coinvolti nella presenza di PA VBNC nel polmone CF sarà approfondito indagando il ruolo di sei ulteriori farmaci anti-*Pseudomonas*. Sarà inoltre sviluppato un protocollo specie-specifico di citofluorimetria da adottare nella diagnosi di routine dell'infezione polmonare CF da PA.

11:10 - 13:25

Plenary Session 9

CF INFLAMMATION: THERAPEUTICAL APPROACHES?

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

Pariano M, Renga G, Stincardini C, Borghi M, Sellitto F, Sforza L, D'Onofrio F, Costantini C, Romani L and Bellet MM
Dipartimento di Medicina Sperimentale, Università degli Studi di Perugia, Perugia (FFC#21/2018. Concluded)



Marina Maria Bellet, seconda da destra, responsabile del progetto, con collaboratrici di ricerca

Background and rationale. The gastrointestinal system is among the earliest organs affected in cystic fibrosis (CF). Gut manifestations includes, among all, mucus accumulation, recurrent infections and chronic inflammation. The aim of this project is centered around the effects on CF of thymosin alpha 1 (Ta1), a naturally occurring polypeptide used worldwide as an immunomodulatory with an excellent safety profile. By acting on autophagy and cellular proteostasis, Ta1 displayed multiple combined properties that may oppose CF symptomatology in the lung: reduce inflammation and, possibly, improve CFTR function. We previously demonstrated that Ta1 in the lung reduces inflammation by activating the tolerogenic pathway of tryptophan catabolism via the immunoregulatory enzyme indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO1).

Hypothesis and objectives. The present project aimed at extending our previous results obtained in the lung to the intestine and pancreas, to provide a more complete picture of the multiple effects of Ta1 in CF. The hypothesis was that Ta1 may regulate inflammation and autophagy via IDO1 in the intestinal tract in CF. The objectives of the project have been the evaluation of the ability of Ta1 to regulate inflammation and antimicrobial resistance in the gut, as well as pancreas functionality in CF, and to restore the IDO1-autophagy pathway in these tissues.

Essential methods. The effect of both Ta1 and the pharmaceutical formulation ZADAXIN were evaluated in different murine experimental models:

1. Model of high fat diet-induced intestinal inflammation, dysbiosis and pancreatic dysfunction, to define the efficacy of Ta1 in a model of "leaky gut"

2. Model of gastrointestinal infection with *C. albicans* in *CftrF508del* mice and *Ido1-/-* mice, to evaluate the effect of Ta1 and ZADAXIN in an inflamed gut, and its dependency on IDO1 activation.

Results. The results of our project have indicated that Ta1, as well as ZADAXIN, is able to ameliorate inflammation and promote barrier function in the gut of *CftrF508del*, and this effect appears to be IDO1-dependent.

Conclusions. Studies are underway to better define the activity of Ta1 *in vivo*, its mechanism of action, and to provide further evidence supporting its ability to modulate CFTR function. These studies will provide for CF repurposing a drug that is approved for other indications.

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

Problema e 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. Le manifestazioni intestinali includono lo sviluppo di infezioni ricorrenti e infiammazione cronica. Timosina alfa 1 (Ta1) è un peptide naturale, ad azione immunomodulante e anti-infiammatoria, già utilizzato in tutto il mondo come ZADAXIN® e dotato di un eccellente profilo di sicurezza.

Ipotesi e obiettivi. Nei nostri studi precedenti su cellule bronchiali e modelli murini abbiamo dimostrato che il trattamento con Ta1 migliora la patologia polmonare nella FC, riducendo l'infiammazione mediante una azione diretta sulla proteina IDO1, e potrebbe anche migliorare la funzionalità di CFTR a livello polmonare. Gli obiettivi del presente progetto sono stati quelli di determinare se gli effetti benefici prodotti da Ta1 fossero estensibili anche alla funzionalità intestinale e pancreatica, valutando la sua efficacia antiinfiammatoria in questi organi.

Metodi essenziali. Lo studio è stato condotto *in vivo* su topi portatori della mutazione *phe508del-CFTR*, dove è stata valutata l'efficacia del trattamento sia con Ta1 che con il farmaco ZADAXIN nel ridurre l'infiammazione e aumentare la resistenza antimicrobica a livello intestinale. È stato inoltre studiato il meccanismo di azione

di Tα1 nell'intestino, con particolare interesse verso la proteina IDO1, regolatore centrale del sistema immunitario.

Risultati. I dati suggeriscono che sia Tα1 che ZADAXIN hanno un'azione anti-infiammatoria in intestino e pancreas di topi non mutati e anche in topi con la mutazione p.Phe508del-CFTR. Questi effetti sono stati osservati utilizzando dei modelli sperimentali in cui è stata indotta infiammazione e alterazione della permeabilità intestinale tramite una dieta ad alto contenuto di grassi o tramite infezione. I risultati mostrano inoltre che questi effetti sembrano mediati dall'azione della proteina IDO1, capace di frenare l'infiammazione.

Conclusioni. I risultati di questo studio dimostrano che l'utilizzo di Tα1 potrebbe migliorare la funzionalità del sistema gastrointestinale in soggetti con CF e permettono di definire meglio le potenzialità terapeutiche di ZADAXIN nel trattamento della CF.

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

De Leo F,^{1,2} Rossi A,³ Cigana C,³ Ranucci S,³ De Fino I,³ Musco G,¹ Bragonzi A,³ and Bianchi ME^{2,4}

¹Biomolecular NMR Unit, IRCCS San Raffaele Scientific Institute, ²Università Vita-Salute San Raffaele, Milan, Italy, ³Infections and Cystic Fibrosis Unit, Division of Immunology, Transplantation and Infectious Diseases San Raffaele Scientific Institute, ⁴Chromatin dynamics unit, IRCCS San Raffaele Scientific Institute, via Olgettina 58, 20132 Milan, Italy (FFC#22/2018. Concluded)



Marco Emilio Bianchi, responsabile, e Federica De Leo, partner del progetto

Background and rationale. High-mobility group box 1 protein is a Damage-associated molecular pattern (DAMP) protein that promotes and sustains inflammation. It is elevated in CF sputum and was reported as CF biomarker. Monoclonal antibodies (mAb) blocking HMGB1 significantly protect against *P. aeruginosa* infection, neutrophil recruitment and lung injury. However, mAb treatment is expensive and infeasible. We recently identified a small molecule, pamoic acid (PAM), that efficiently inhibits HMGB1 activity in cellular models. Furthermore, it is known that PAM cannot cross lipid membranes, so that it might be particularly suitable for direct aerosol delivery in the lung.

Hypothesis and objectives. The objective of this project was proving that aerosol delivery of PAM can ameliorate neutrophilic inflammation and lung damage in C57 mice infected with *P. aeruginosa*.

Essential methods. PAM was tested in preclinical murine models of acute and chronic *P. aeruginosa* respiratory infection. Specifically, we performed: 1. Toxicity experiments to explore the range of doses to be used; 2. PAM efficacy experiments in acute respiratory infection; 3. PAM identification and quantification by spectroscopic techniques; 4. PAM efficacy experiments in chronic respiratory infection.

Results. PAM does not have acute toxicity when delivered by aerosol at concentrations ≤ 3 mM. PAM at 3 mM concentration shows significant efficacy in reducing inflammatory cells in the broncho-alveolar lavage in an acute model of *Pseudomonas* infection, and may be effective in a chronic model even in a lower concentration range. Of note, we focused on the chemical properties of PAM, which

suggested an advantage in direct lung delivery via aerosol, to avoid systemic adsorption. However, we cannot exclude that formulations that allow systemic diffusion might be more effective than aerosol. PAM might be prematurely cleared; in fact, we still do not know the local (tissue and BAL) concentration of PAM, which is relevant to interpret the efficacy.

Conclusions. Up to date PAM is the first drug candidate to display efficacy against inflammation in a mouse model of chronic respiratory infection that reproduces CF lung disease. Further investigation is needed, but we consider the present results as positive and promising.

Efficacia in modelli preclinici di fibrosi cistica di una molecola già nota e riscoperta come inibitore di HMGB1

Problema e ragioni dello studio. La fibrosi cistica è una malattia multisistemica, ma colpisce in primo luogo il polmone, causando infezione cronica e infiammazione. HMGB1 è una proteina nucleare che scatena l'infiammazione quando viene rilasciata da cellule morte o secreta da cellule stressate. HMGB1 è presente nell'espettorato di pazienti con fibrosi cistica ed è un biomarker che segnala la cattiva funzionalità polmonare nei pazienti. Ricerche precedenti hanno dimostrato che bloccare HMGB1 con anticorpi monoclonali riduce l'infezione, l'infiammazione e i danni al polmone in modelli preclinici di fibrosi cistica.

Ipotesi e obiettivi. La somministrazione di anticorpi monoclonali ai pazienti affetti da fibrosi cistica è costosa e poco pratica. Per questo motivo abbiamo iniziato un progetto di *drug discovery* per identificare nuovi inibitori di HMGB1. Abbiamo identificato un candidato interessante, l'acido pamoico (PAM). PAM blocca la migrazione cellulare indotta da HMGB1 con efficacia migliore di qualsiasi altro inibitore di HMGB1 noto ad oggi. Lo scopo specifico di questo progetto è dimostrare che PAM è efficace in modelli preclinici di fibrosi cistica nel ridurre l'infezione polmonare, l'infiammazione e i danni al polmone.

Metodi essenziali. Abbiamo testato PAM con somministrazione inalatoria in modelli preclinici di infezione respiratoria acuta e cronica. Abbiamo valutato la patologia polmonare, analizzando parametri di infezione, infiammazione e danno polmonare.

Risultati. PAM, somministrato per via inalatoria, non è tossico ad una concentrazione inferiore 3 mM. La dose 3 mM riduce la presenza di cellule infiammatorie nel lavaggio bronco-alveolare in modelli di infezione acuta. Abbiamo dati preliminari di efficacia in un modello preclinico di infezione cronica. Abbiamo voluto testare PAM tramite aerosol per sfruttare le caratteristiche chimico-fisiche di questa molecola che evita l'assorbimento sistemico. Ciononostante, non escludiamo che PAM possa essere efficace anche somministrato per via sistemica.

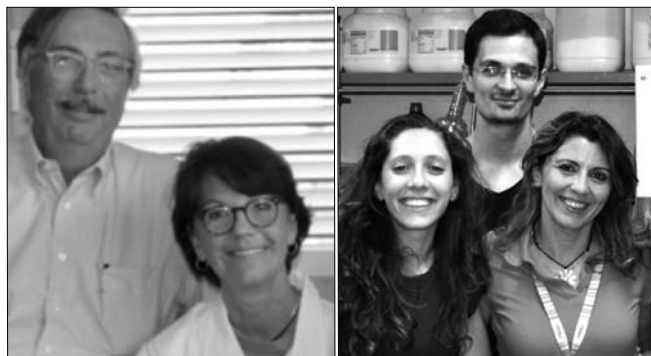
Conclusioni. Abbiamo dimostrato che PAM è efficace nel ridurre l'infiammazione in un modello preclinico di infezione acuta. Insieme ad ulteriori studi necessari per dimostrare l'efficacia di PAM nella fibrosi cistica, questi dati apriranno la possibilità di sperimentare PAM in pazienti umani.

58. 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-Italy, ²Department of Chemical Sciences, University of Napoli Federico II- Napoli, Italy (FFC#23/2018. Concluded - FFC#20/2019. Extension)

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.



Maria Cristina Dechecchi, responsabile, foto a sinistra, e Annalisa Guaragna, prima a destra, partner del progetto

As inflammation contributes to lung damage, research is aimed at finding new anti-inflammatory drugs, to replace corticosteroids or ibuprofen, which possess many well-known and important side effects in addition to the great predicted benefits. Thanks to previous FFC grants we described two promising molecules: beta-sitosterol (BSS) (Lampronti I, 2017) and miglustat (Dechecchi MC, 2011) that have been widely tested for efficacy and safety in clinical pharmacology, thus stimulating us to a repurposing strategy toward CF lung inflammation.

Hypothesis and objectives. 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 (De Fenza M, 2019). Importantly L-miglustat does not inhibit alpha-glucosidase (D'Alonzo D, 2017) thus excluding the undesired side effects on intestinal absorption and diarrhea observed with D enantiomer of miglustat. This pilot project analysed BSS and L miglustat in relevant murine models of lung infection.

Essential methods. BSS is commercially available whereas L-miglustat was synthesized and purified by A. Guaragna (Department of Chemical Sciences, University of Napoli Federico II- Napoli, Italy). BSS and L-miglustat were evaluated in relevant models of airway infection for their effect in reducing the inflammatory response to *P.aeruginosa*. Wild type mice were treated with BSS or L-miglustat by gavage before infection with *P.aeruginosa* and their effect on inflammatory response was tested in terms of: i) safety; ii) evaluation of lung inflammation; iii) ability of mice to clear bacteria.

Results. We found a dose dependent reduction of bacteria recovered in bronchial lavage (BAL) and lungs of mice infected by *P.aeruginosa*, after treatment with BSS. A decrease of neutrophils and increase of alveolar macrophages recruited in BAL accompanied by an overall improvement of health parameters in BSS treated mice were also found. Surprisingly, L-miglustat showed anti-infective activity in chronically infected mice, reduced neutrophils and increased bacterial clearance.

Extension project. BSS and L miglustat have the potential to become new drugs addressing airway infection and inflammation. The extension of the pilot project is aimed to give deep insights on their anti-inflammatory/anti-infective activities.

Essential methods. The effects of BSS will be further investigated by studying its impact on inflammatory response in both acute and chronic lung infection. The ability of L miglustat to prevent chronic *P. aeruginosa* infection will be evaluated in vitro on abiotic surfaces and airway epithelial cells under experimental conditions simulating CF lung environment. Synergism with classes of antibiotics will be also studied. Safety and efficacy experiments will be conducted in chronically infected mice both before and after established chronic infection. Lung inflammation and ability to clear bacteria will be evaluated. To verify potential interactions with drugs already used in CF patients, combination with VX 809 and VX 770 will be tested.

Expected results and spin-off. Results from our pre-clinical investigation in relevant models of airway infection could provide

a proof of concept for planning clinical trials. BSS has been already tested in clinical trials as adjuvant to statins in dyslipidemia. It could be repositioned as anti-inflammatory drug for CF lung disease. L miglustat could obtain an orphan drug designation as anti-inflammatory/anti-infective agent against chronic *P. aeruginosa* infections.

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 presente la ricerca di nuovi farmaci alternativi a corticosteroidi o ibuprofene, che hanno molti effetti collaterali ampiamente noti. Grazie ai precedenti finanziamenti da FFC, il nostro gruppo ha già descritto due molecole promettenti per controllare l'eccessiva infiammazione polmonare FC: il beta-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.

Ipotesi e obiettivi principali. BSS ha un effetto anti-infiammatorio in cellule bronchiali FC e l'enantiomero L del miglustat ha un effetto anti-infiammatorio nei topi con infezione acuta da *P.aeruginosa*, senza aumentare la carica batterica ed è inoltre privo degli effetti gastrointestinali indesiderati, osservati con il D miglustat, in quanto non inibisce l'alfa-glucosidasi. Questo progetto pilota ha valutato 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 è stato 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 sono stati studiati in modelli murini di infezione polmonare. Topi normali trattati con le molecole in oggetto sono stati infettati sia in modo acuto che cronico con *P.aeruginosa*. L'effetto dei trattamenti è stato analizzato in termini di: 1) sicurezza; 2) infiammazione polmonare; 3) carica batterica.

Risultati. Abbiamo osservato una diminuzione dose-dipendente dei batteri nelle vie aeree dei topi infettati con *P.aeruginosa*, dopo il trattamento con BSS. Inoltre, abbiamo rilevato una diminuzione di granulociti neutrofili ed un aumento di macrofagi alveolari, accompagnati da un miglioramento generale dello stato di salute degli animali dovuto al BSS. L'enantiomero L-miglustat ha mostrato in un effetto anti-infectivo nei topi con infezione cronica oltre che una diminuzione dell'infiammazione ed un aumento della capacità anti-batterica.

Estensione del progetto. Questi risultati ci portano ad ipotizzare che il BSS e L miglustat potrebbero essere nuovi farmaci contro l'infezione e l'infiammazione polmonare. Pertanto, l'estensione del progetto pilota approfondirà gli effetti del BSS e del L miglustat sulla risposta all'infezione da *P.aeruginosa*.

Metodi essenziali. L'attività anti-infiammatoria del BSS sarà ulteriormente indagata in modelli d'infezione acuta e cronica. L'attività anti-infectiva del L miglustat sarà valutata sia in vitro che in vivo. Gli esperimenti in vitro saranno effettuati sia in forme precoci che mature di biofilm ottenuto con diversi ceppi di *P.aeruginosa*. Gli esperimenti in vivo saranno effettuati in modelli di infezione cronica trattando gli animali sia prima che dopo l'insorgenza dell'infezione. BSS e L miglustat verranno anche testati in combinazione con VX 809 e VX 770.

Rilevanza. Questo studio intende fornire una prova di principio per studi clinici futuri finalizzati a contrastare il declino della patologia polmonare nei pazienti FC, indipendentemente dal loro genotipo.

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

Borghi M¹, Puccetti P², Pariano M¹, Stincardini C¹, Sforza L¹, Renga G¹, Costantini C¹, Ricci M², Giovagnoli S² and Romani L¹
¹Department of Experimental Medicine and ²Department of Pharmaceutical Science, University of Perugia, Perugia. (FFC#24/2018. Ongoing)



Luigina Romani, in alto al centro, responsabile del progetto con i collaboratori di ricerca

Background and rationale. Chronic lung inflammation and infections contribute to disease progression in CF patients. In this project we propose the study of indoles as potential novel therapeutics in CF due to their ability to promote host/microbe homeostasis in the lung through the activation of the aryl hydrocarbon receptor (AhR). The ability of AhR to modulate many aspects of the innate and adaptive immune response, including antimicrobial activity via Th17 cell activation, epithelial cell repair and protection via IL-22 production, and control of inflammation via activation of regulatory T cells (Treg) creates exciting opportunities to harness the immunomodulatory action of AhR to adapt host responses to infection. The indole-3-aldehyde (3-IAld), produced by endogenous Lactobacilli, has recently been shown to preserve immune physiology at mucosal surfaces while inducing antimicrobial resistance. Much like probiotics, this microbial-derived metabolite protected mice from infection and immunopathologies in different experimental settings.

Hypothesis and objectives. 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 results showed that AhR activity is defective in CF but restored upon appropriate prophylactic treatment with 3-IAld. As AhR agonist, 3-IAld exerted beneficial effects in the lung of mice with aspergillosis by decreasing inflammation and restoring immunocompetence. No effect was observed on the recovery of CFTR functioning.

Conclusions. Should AhR agonism prevents or delays development of pathogenic inflammation in CF, our study represents a patentable, proof-of-concept demonstration, that targeting AhR 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-infiammatoria ed antimicrobica 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, in questo progetto abbiamo già valutato l'efficacia di 3-IAld in modelli preclinici di CF ed abbiamo sviluppato la formulazione farmaceutica per via inalatoria pronta per essere saggiata in ulteriori studi *in vivo* ed *in vitro*.

Metodi essenziali. Stiamo utilizzando approcci sperimentali sia *in vitro* che *in vivo* in topi con la mutazione F508.

Risultati preliminari. Il recettore degli idrocarburi arilici (AhR) regola l'omeostasi immunologica polmonare e fornisce le basi razionali per l'uso di 3-IAld, agonista di AhR in CF. La somministrazione di 3-IAld ha migliorato la patologia infiammatoria allergica in modelli sperimentali di CF.

Conclusioni. Dovesse l'efficacia di 3-IAld essere confermata in modelli preclinici di CF, le possibili ricadute potrebbero essere molteplici. A livello traslazionale il possibile sviluppo terapeutico di derivati indolici in grado di diminuire l'infiammazione e ristabilire l'immuno competenza, inoltre la possibile determinazione dei livelli di 3-IAld in matrici biologiche quali fattori predittivi di malattia. A livello culturale lo sviluppo di postbiotici quali farmaci "innovativi" grazie alla loro intrinseca capacità di regolare sia l'ospite (infiammazione) che i suoi microbi (virulenza).

60. Multi-task evaluation of TMA analogues as anti-inflammatory treatments for CF lung disease

Lampronti I¹, Chilin A²

¹Dip. Scienze della vita e biotecnologie, Sez. biochimica e biologia molecolare, Università di Ferrara, ²Dip. Scienze del Farmaco, Università di Padova (FFC#22/2019. New)



Ilaria Lampronti, seconda da destra, responsabile del progetto con le collaboratrici, e Adriana Chilin, partner di ricerca (nel riquadro)

Background and rationale. Trimethylangelicin (TMA) is an isoprenol with chemical structure similar to natural compounds and it was studied in many FFC projects. In order to identify com-

pounds with biological properties similar to those of TMA but with reduced or absent toxicity, new molecules had been synthesized. Some TMA analogues were previously studied for their interesting activity in CFTR correction/potentialiation (Laselva O, 2018). Now the attention is shifted on the anti-inflammatory effects. In the recent studies the anti-inflammatory activity of some TMA analogues was demonstrated by reduction of the gene expression of cytokines (IL-6 and IL-8), enzymes and signal transduction factors involved in inflammation triggered by TNF-alpha in bronco-epithelial CF cell lines (Marzaro G, 2018).

Hypothesis and objectives. The project is aimed to extend our previous studies in order to analyze the effects of new compounds on inflammatory response to both *P.aeruginosa* (*Pa*) infection and TNF-alpha stimulus, on CF cell lines and in murine model. The molecules will be evaluated for their double activity in CFTR gene correction and inflammation.

Essential methods. Optimized analogues will be prepared taking advantage from the microwave assisted organic synthesis (MAOS) technique. As reference cell model CFBE41o- cells will be used. Cells will be treated with TMA analogues and then infected with *Pa* strain PAO1 or stimulated with TNF-alpha. For the in vivo model of acute and chronic infection, C57Bl/6Ncr mice will be used.

Preliminary results. The correction/potentialiation activity of TMA analogues was recently demonstrated. Through EMSA experiments, the inhibition of NF-kB/DNA complex was studied. Since the TF NF-kB plays a critical role in IL-8 expression, the use of agents able to interfere with the NF-kB pathway can be an interesting therapeutic strategy.

Expected final results and their significance. New derivatives will be evaluated for their capability of inhibiting cytokine gene expression, as well as for studying the most interesting analogues in association with other known anti-inflammatory and antimicrobial agents, in a combined therapy model. The most active selected TMA analogues will be tested finally in vivo. The decisive goal is the research of modern therapies to combat the CF inflammation and the novelty is the possibility to develop dualistic drugs that may supplement or replace the use of current drugs to limit known side effects.

Valutazione multitasking di analoghi della TMA come agenti antinfiammatori per il trattamento della fibrosi cistica

Ragioni dello studio. La trimetilangelicina (TMA) è una molecola con struttura analoga a composti naturali ed è stata oggetto di numerosi studi. Con un recente progetto abbiamo identificato analoghi sintetici della molecola originale, privi degli effetti tossici di questa. Tra i derivati analizzati, uno in particolare ha dimostrato di essere un correttore di CFTR.

Ipotesi e obiettivi. Con questo progetto, verranno estesi i precedenti studi ed aumentate le conoscenze anche su nuovi analoghi della TMA, per valutarne la possibile doppia attività, anti-infiammatoria e di correzione. Sarà utilizzato il modello cellulare CFBE41o (cellule derivate da pazienti geneticamente manipolate in modo da replicarsi senza limiti). Queste cellule saranno prima esposte ad agenti infiammatori (TNF-alfa) o infettivi (*Pseudomonas aeruginosa*, *Pa*) che stimoleranno l'infiammazione e poi verranno trattate con gli analoghi in studio. Dopo il trattamento, saranno eseguite indagini sull'espressione genica di citochine note per essere coinvolte nei processi infiammatori della fibrosi cistica (CF). Inoltre saranno effettuati co-trattamenti con farmaci anti-infiammatori e antibiotici già in uso per la cura della CF. Questi primi screening serviranno per evidenziare il possibile effetto antinfiammatorio dei composti allo scopo scegliere i derivati migliori, che saranno successivamente saggiati anche in vivo su modello murino di infiammazione polmonare acuta e cronica.

Metodi essenziali. I nuovi analoghi saranno sintetizzati con moderne tecniche di sintesi organica. Il modello cellulare sarà rappresentato da cellule CF CFBE41o- che saranno trattate con i derivati ed infettate con *Pa* o stimolate con TNAalfa. Il modello murino sarà costituito da topi C57Bl/6Ncr.

Risultati preliminari. L'attività di correzione/potenzamento di alcuni derivati della TMA è stata di recente dimostrata; inoltre, sono stati effettuati studi preliminari per verificare un potenziale effetto anti-infiammatorio delle nuove molecole analizzando NF-kB, noto fattore con ruolo cruciale in processi infiammatori. I primi risultati hanno dimostrato che alcuni analoghi sono in grado di inibire NF-kB e di essere quindi i migliori candidati per approfondire le indagini.

Risultati finali attesi e loro significato. Siamo fiduciosi di poter individuare nuovi potenziali farmaci con doppia attività (correttiva e anti-infiammatoria) che potrebbero essere molto interessanti per la terapia della malattia polmonare in CF.

61. Potential action of phages as immunomodulators in cystic fibrosis

Cafora M¹, Forti F², Loberto N¹, Aureli M¹, Briani F², Pistocchi A¹

¹Dept. Medical Biotechnology and Translational Medicine, L.I.T.A., Università degli Studi di Milano, ²Dept. Biosciences, Università degli Studi di Milano, (FFC#23/2019. New)



Anna Silvia Pistocchi, seconda da destra, responsabile del progetto, assieme al gruppo di ricerca

Background/Rationale. Chronic inflammation is a common feature of Cystic Fibrosis (CF) patients and is mainly caused by *Pseudomonas aeruginosa* infections. However, new evidence suggests that constitutive inflammation is present in CF patients even in the absence of bacterial infection, due to CFTR dysfunctions. In a previous work, we demonstrated that a cocktail of four different bacteriophages (phages) not only efficiently counteracts *P. aeruginosa* infection in a zebrafish model of CF, but also shows anti-inflammatory effects in CF zebrafish embryos not infected by bacteria. Indeed, similar to human patients, CF embryos present a constitutive high inflammation state due to the loss of CFTR function.

Hypothesis and objectives. On the above premises, our hypothesis is that phages might mitigate the inflammation present in a CF background. To demonstrate this, we plan to investigate the mechanism through which phages might act as anti-inflammatory agents in the CF zebrafish model and on both primary and immortalized human bronchial epithelial cells homozygous for the CFTR mutation F508del.

Essential methods. In the CF zebrafish embryos we will characterize the immunomodulatory effects of the previously used phage-cocktail by dissecting the action of each single phage and of one or the other of the two phage components, DNA or virion proteins. To investigate the possible mechanisms through which phages modulate the inflammation, we will study the TOLL-like receptor. In human, we will administer the phage cocktail to the CuFi-1 cell line characterized by a high basal proinflammatory state, and primary bronchial epithelial cells obtained from the "Servizio Colture Primarie" of the Italian Cystic Fibrosis Research Foundation. As a read-out of the action of phages as immunomodulators, we will assess the expression of pro- and anti-inflammatory cytokines TNF-alpha, IL1-beta, IL-6, IL-8 by means of qPCR and ELISA techniques.

Preliminary results. In CF zebrafish embryos phages act as

immuno-modulators in the absence of bacterial infection and this effect is similar for each phage of the cocktail. Moreover, we showed that the DNA component of the phage is not necessary for the immunomodulatory response.

Conclusions. The research of new anti-inflammatory agents in a cheap and easy-of-use CF zebrafish model, together with the studies on the effects of phages on CF human cells could speed-up the translational potential of this research.

Fagi come agenti immunomodulatori in fibrosi cistica

Ragioni del progetto. I pazienti affetti da fibrosi cistica (FC), poiché sono estremamente soggetti ad infezioni batteriche croniche, presentano un'infiammazione elevata e costante. Tuttavia, ci sono evidenze che l'infiammazione nei pazienti FC sia presente anche in assenza di infezione batterica, come conseguenza dell'assenza o del malfunzionamento dei canali CFTR. In un lavoro precedente finanziato dalla FFC, abbiamo utilizzato un modello di FC di zebrafish (pesce a strisce chiamato pesce zebra, n.d.r.) per dimostrare che i fagi sono efficaci nel debellare le infezioni batteriche. Inoltre abbiamo osservato che i fagi, se inoculati da soli in assenza di batteri, avevano la capacità di abbassare lo stato di infiammazione cronica presente negli embrioni di zebrafish FC.

Obiettivi principali. In questo progetto di ricerca intendiamo dimostrare che lo stato infiammatorio cronico presente sia negli embrioni FC di zebrafish che in linee cellulari cellule epiteliali bronchiali umane mutate nel gene CFTR, può essere ridotto dalla somministrazione di fagi

Materiali, pazienti e metodi. Durante questo progetto annuale caratterizzeremo meglio come i fagi riescano ad abbassare lo stato infiammatorio nel modello FC di zebrafish ed e utilizzeremo, per confermare il loro effetto anti-infiammatorio.

Disegno dello studio. Lo stato infiammatorio verrà analizzato misurando l'espressione di citochine pro- e anti-infiammatorie in embrioni FC di zebrafish e nelle colture cellulari umane, prima e dopo la somministrazione di fagi.

Risultati attesi/Possibili ricadute. La nostra ipotesi è che i fagi possano agire da agenti immuno-modulatori e che la loro somministrazione possa ridurre lo stato infiammatorio presente nei pazienti FC. L'uso di zebrafish come modello di FC, poco costoso e facile da utilizzare, può aprire un nuovo campo di applicazione per la ricerca di nuovi farmaci utili nella cura di pazienti FC.

62. Enabling pulmonary delivery of siRNA in cystic fibrosis lung inflammation: therapeutic potential of hybrid lipid/polymer nanoparticles

Ungaro F¹, Merkel OM²

Università degli Studi di Napoli Federico II, Dip. Farmacia, Dept. Pharmazie, Ludwig-Maximilians Universität, München (FFC#25/2018. Concluded)

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. During previous FFC#23/2017 project, the most adequate formulation conditions to produce inhalable hybrid nanoparticles (hNPs) made up of a combination of lipids and polymers for siRNA delivery were identified. The developed hNPs displayed optimal aerosolization properties, were stable in simulated mucus and efficiently entrapped a siRNA pool against one of the most critical signals



Francesca Ungaro, seduta al centro, responsabile del progetto, con le ricercatrici del laboratorio, e Olivia Monica Merkel, foto sotto, terza da sinistra, partner del progetto

in evoking the inflammatory response in CF, the nuclear factor- κ B (NF- κ B). The aim of the present project is to go in depth into the in vitro/in vivo therapeutic potential of optimised hNPs.

Essential methods. hNPs delivering a siRNA pool against NF- κ B were prepared from biodegradable polymers and biocompatible phospholipids. The behaviour of hNPs upon contact with simulated mucus and human sputum from CF was evaluated through a combination of techniques. Uptake and efficacy of siRNA-loaded hNPs were evaluated in different human airway cell culture models, providing a tool to optimise hNP properties for in vivo pulmonary delivery. In vivo studies were performed in rats challenged intratracheally with LPS from *E. Coli* to induce pulmonary inflammation.

Results. In vitro studies demonstrated that the developed siRNA-loaded hNPs may penetrate lung extracellular barriers, as CF mucus, allowing a significantly higher uptake in human bronchial epithelial cells as compared to both free siRNA and siRNA/lipofectamine complexes. As a result, significant NF- κ B downregulation up to 72 h was observed in human bronchial epithelial cells treated with optimised siRNA-loaded hNPs. Finally, preliminary efficacy studies upon intratracheal administration in LPS-challenged rats highlighted the potential of the developed siRNA-loaded to downregulate NF- κ B also in vivo.

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

sviluppo di una nuova strategia formulativa in grado di promuovere l'assorbimento polmonare di siRNA in FC. Durante il progetto pilota FFC #23/2017, sono state prodotte nanoparticelle ibride a base di lipidi e polimeri. Le nanoparticelle sono aerosolizzabili e stabili in muco simulato, incapsulano efficacemente e rilasciano per tempi prolungati un siRNA in grado di inibire il fattore di trascrizione NF- κ B, un mediatore cruciale del processo infiammatorio polmonare caratteristico della FC. Obiettivo primario del progetto FFC#25/2018 è approfondire le potenzialità in vitro ed in vivo delle nanoparticelle contenenti siRNA ottimizzate.

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 per la loro capacità di penetrare attraverso muco simulato e sputo FC attraverso un'ampia gamma di metodiche. Studi di internalizzazione e silenziamento sono condotti in vitro su modelli diversi di epitelio polmonare. Studi di silenziamento in vivo sono stati condotti in un modello di infiammazione polmonare che prevede la somministrazione intratracheale di lipopolisaccaridi di origine batterica nel ratto.

Risultati. Gli studi *in vitro* confermano la capacità delle nanoparticelle ibride di penetrare attraverso il muco simulato e sputo FC, trasportare il siRNA all'interno delle cellule polmonari e silenziare in modo prolungato e potenziato rispetto al siRNA libero. Studi preliminari di silenziamento *in vivo* in modelli animali sottolineano le potenzialità del sistema di veicolazione, fornendo input per l'ottimizzazione dei successivi studi preclinici.

Conclusioni. Nanoparticelle inalabili per il rilascio modificato di siRNA al polmone in pazienti FC sono state sviluppate con successo. Le conoscenze acquisite stimolano all'approfondimento dell'efficacia preclinica del sistema, essenziale per la traslazione dello studio dal laboratorio alla clinica. 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.

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

Ferrera L, Gianotti A, Delpiano L, Capurro V

U.O.C. Genetica Medica, Istituto Giannina Gaslini, Genova (FFC#12/2016. Concluded)



Loretta Ferrera, responsabile del progetto

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 hypothesised that the rescue of the F508del-CFTR function by lumacaftor could increase the bicarbonate secretion, recovering the correct airway surface liquid (ASL) and pH homeostasis. According to our hypothesis, a direct treatment of airways with bicarbonate, determining an increase

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

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

Essential methods. We used primary bronchial cells monolayers from normal subjects and CF patients as epithelial models. Bicarbonate was directly applied to the apical surface of the monolayers. After 48 hours, water reabsorption, pH and mucus microviscosity, measured by the displacement of fluorescent nanobeads, characterise the properties of the ASL.

Results and their significance. Our results clearly indicate that the treatment with bicarbonate determines increase of ASL pH and significantly reduces the mucus viscosity in treated CF epithelia. 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 dimostrato che le proprietà viscoelastiche del muco FC possono migliorare dopo l'applicazione diretta di lumacaftor.

Ipotesi e obiettivi. Abbiamo ipotizzato che il recupero della funzione della proteina F508del-CFTR determinato da lumacaftor possa aumentare la secrezione di bicarbonato, ripristinando le proprietà del liquido sulla superficie delle vie aeree e l'omeostasi del pH. Secondo la nostra ipotesi, l'applicazione diretta di bicarbonato nelle vie aeree potrebbe determinare un aumento del pH con una conseguente azione benefica sullo spessore e della viscosità del muco. Gli obiettivi del progetto sono stati: 1) studiare se il trattamento con bicarbonato modifica il riassorbimento di acqua nel liquido periciliare; 2) analizzare l'effetto dell'applicazione diretta del bicarbonato sul pH del liquido periciliare; 3) verificare il ruolo del bicarbonato delle vie aeree sulle proprietà viscoelastiche del muco per 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. Abbiamo usato monostrati di cellule bronchiali primarie differenziate e derivate da soggetti normali e da pazienti FC omozigoti per la mutazione del F508-CFTR o eterozigoti per del F508-CFTR insieme a un'altra mutazione. Abbiamo applicato direttamente il bicarbonato sulla superficie apicale degli epitelii modello. Dopo 48 ore, il riassorbimento di acqua, il pH e la microviscosità del muco, misurate tramite lo spostamento di nanobiglie fluorescenti, rappresentano le proprietà chimico-fisiche del liquido periciliare.

Risultati e loro significato. I nostri risultati indicano che l'applicazione di bicarbonato determina l'aumento del pH del liquido periciliare e riduce significativamente la viscosità del muco negli epitelii CF trattati. 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.

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

Sandri A¹, Lleò MM¹, Boschi F²

¹Department of Diagnostics and Public Health, ²Department of Computer Science, University of Verona. (FFC#21/2017. Concluded Dec 31, 2018. Presentation only by poster no. 64)



Federico Boschi con le ricercatrici che collaborano al progetto

Background and rationale. *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 can allow to assess the anti-inflammatory effects of these molecules in vivo.

Hypothesis and objectives. We aimed at setting-up a convenient, non-invasive, in vivo imaging model to monitor lung inflammation in CF mice with *P. aeruginosa* acute lung infection, and to evaluate the possible anti-inflammatory effects of molecules interfering with proteases, such as protease inhibitors Marimastat and Ilomastat.

Essential methods. *P. aeruginosa* acute lung infection was established by intratracheal instillation in wild-type (WT) and CFTR-knockout (KO) C57BL/6 transgenic mice expressing the luciferase gene under control of bovine IL-8 promoter. Transgenic mice were treated with protease inhibitors Marimastat and Ilomastat, 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. Acute lung infection with *P. aeruginosa* PAO1 strain was established in both WT and KO mice. The infection induced IL-8-dependent bioluminescence emission indicating lung inflammation, along with low mortality of the animals in the first 48 hours. In infected mice with ongoing inflammation, intratracheal treatment with 150µM Marimastat and Ilomastat reduced the bioluminescence signal in comparison to untreated, infected animals. Bacterial

load in the lungs was not affected by the treatment, while in vitro the same dose of Ilomastat and Marimastat did not affect *P. aeruginosa* growth and viability. No adverse effects due to treatment with protease inhibitors were observed in mice.

Conclusions. Our results show that protease inhibition elicits beneficial effects in mice by reducing the lung inflammation caused by *P. aeruginosa* infection. Thus, Ilomastat and Marimastat might be potential candidate molecules for the treatment of patients with *P. aeruginosa* infection, encouraging further studies on protease inhibitors and their possible application in cystic fibrosis. Particularly, inhalable formulations could be a preferential therapy for CF patients, allowing local airways treatment.

Studio degli effetti antinfiammatori degli inibitori di metalloproteasi Ilomastat e Marimastat in topi CFTR-knockout con infezione da *P. aeruginosa* tramite tecniche di in vivo imaging

Problema e ragioni dello studio. Le proteasi, enzimi secreti da *Pseudomonas aeruginosa*, interferiscono con processi chiave dell'immunità e degradano il tessuto polmonare. Farmaci capaci di inibire le proteasi, già in uso o valutati per altri scopi clinici, potrebbero quindi limitare la risposta infiammatoria e il danno polmonare. Le moderne tecniche di imaging possono consentire di valutare gli effetti antinfiammatori di queste molecole in topi FC.

Ipotesi e obiettivi. Gli obiettivi principali del progetto sono stati lo sviluppo di un sistema conveniente e non invasivo per monitorare l'infiammazione polmonare in topi FC infettati con *P. aeruginosa* e la valutazione dei possibili effetti antinfiammatori di molecole che inibiscono le proteasi, come Marimastat e Ilomastat.

Metodi essenziali. Topi FC e sani sono stati trattati con *P. aeruginosa* per indurre un'infezione polmonare. I topi con infezione sono stati trattati con gli inibitori di proteasi Marimastat e Ilomastat. L'infiammazione polmonare è stata monitorata mediante una moderna tecnica di imaging di bioluminescenza. Gli effetti degli inibitori di proteasi su *P. aeruginosa* sono stati valutati anche in vitro.

Risultati. L'infezione polmonare acuta con *P. aeruginosa* è stata stabilita in topi FC e sani e ha causato emissione di bioluminescenza associata a infiammazione polmonare. Il trattamento con Marimastat e Ilomastat ha ridotto tale emissione, soprattutto nei topi FC. Gli inibitori di proteasi non hanno mostrato effetti inibitori sulla carica batterica, confermando che l'inibizione delle sole proteasi può ridurre l'infiammazione. Non sono stati osservati effetti avversi dovuti al trattamento con gli inibitori di proteasi nei topi.

Conclusioni. L'inibizione delle proteasi ha effetti benefici nei topi riducendo l'infiammazione polmonare causata da *P. aeruginosa*. Pertanto, Ilomastat e Marimastat potrebbero essere molecole potenzialmente candidate per il trattamento di pazienti con infezione da *P. aeruginosa*, incoraggiando ulteriori studi sugli inibitori di proteasi e sulla loro possibile applicazione in fibrosi cistica. In particolare, una formulazione inalabile potrebbe essere una terapia preferenziale per i pazienti affetti da FC, consentendo il trattamento delle vie aeree locali.

Appendix 1

Archive of Publications & Congress Abstracts from FFC Projects 2009-2019

Pubblicazioni e comunicazioni congressuali dagli studi finanziati da FFC dal 2009 al 2019

1. CFTR PATHOPHYSIOLOGY AND THERAPY OF THE BASIC DEFECT

Fisiopatologia CFTR e terapie del difetto di base

- FFC Project#1/2009 **"Interactome in cystic fibrosis: role of NHERF1 in actin cytoskeleton and tight junction pathophysiology"** Valeria Casavola (Dipartimento di Fisiologia Generale ed Ambientale - Università degli Studi di Bari), Massimo Conese (Dipartimento di Scienze Biomediche - Laboratorio di Morfologia - Università degli Studi di Foggia)

Publications

- Favia M. et al. "Na⁺/H⁺ exchanger regulatory factor 1 overexpression-dependent increase of cytoskeleton organization is fundamental in the rescue of F508del cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in human airway CFBE41o- Cells" *Molecular Biology of the Cell*, 2010 Jan 1;21(1):73-86

- FFC Project#2/2009 **"Development of small molecules to correct the defective chloride transport in cystic fibrosis"** J. Luis V. Galiotta (Lab. di Genetica Molecolare - Istituto G. Gaslini, Genova), Enrico Millo (Dip. Medicina Sperimentale, Sez. Biochimica - Univ. degli Studi di Genova), Mauro Mazzei (Dip. Scienze Farmaceutiche - Univ. degli Studi di Genova)

Publications

- Ferrera L. et al. "A minimal isoform of the TMEM16A protein associated with chloride channel activity" *Biochimica et biophysica acta-biomembranes*, 2011 Sep;1808(9):2214-23
- Sondo E. et al. "Rescue of the mutant CFTR chloride channel by pharmacological correctors and low temperature analyzed by gene expression profiling" *American Journal of Physiology-cell Physiology*, 2011 Oct;301(4):C872-85

- FFC Project#3/2009 **"Dissection by RNAi-mediated silencing of molecular mechanism leading to F508del-CFTR misprocessing"** Nicoletta Pedemonte (Lab. Fisiopatologia Molecolare delle Catene Ioniche, Centro Biotecnologie Avanzate, Genova)

Publications

- Pedemonte N. et al. "Influence of cell background on pharmacological rescue of mutant CFTR" *American Journal of Physiology-cell physiology*, 2010 Apr;298(4):C866-74
- Pedemonte N. et al. "Dual activity of aminoarylthiazoles on the trafficking and gating defects of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) chloride channel caused by cystic fibrosis mutations" *Journal of Biological Chemistry* 2011 Apr 29;286(17):15215-26

- FFC Project#4/2009 **"Signaling potential of the 508-CFTR mutation: a new paradigm to explain nonchannelopathy related aspects of cystic fibrosis"** Lorenzo Pinna (Dip. Chimica Biologica - Università degli Studi di Padova)

Publications

- Salvi M. et al. "Motif analysis of phosphosites discloses a potential prominent role of the Golgi casein kinase (GCK) in the generation of human plasma phospho-proteome" *Journal of Proteome research* 2010 Jun 4;9(6):3335-8

- FFC Project#5/2009 **"Functional evaluation of CFTR in blood leukocytes in human subjects as a new tool for diagnostic and clinical research applications"** Claudio Sorio (Dip. di Patologia Generale, Sez. Patologia generale, Università degli Studi di Verona), Paola Melotti (Centro regionale FC - Azienda Ospedaliera di Verona), Rosario Buffelli (Dip. di Scienze Neurologiche e della Visione, sez. Fisiologia, Univ. degli Studi 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" *PLOSE One*, 2011;6(7):e22212

- FFC Project#7/2009 **"Strategies for the suppression of Na⁺ and fluid hyperabsorption in cystic fibrosis airway disease"** Olga Zegarra (Laboratorio di Genetica Molecolare - Istituto "Giannina Gaslini" - Genova)

Publications

- Auriche C. et al. "CFTR expression and activity from the human CFTR locus in BAC vectors, with regulatory regions, isolated by a single-step procedure" *Gene Therapy* 2010 Nov;17(11):1341-54
- Becq F. et al. "Pharmacological therapy for cystic fibrosis: from bench to bedside" *Journal of Cystic Fibrosis*, 2011 Jun;10 Suppl 2:S129-45

- FFC Project#1/2010 **"Molecular and functional study of the epithelial Na⁺ channel (ENaC) in CF and CF-like disease"** Cristina Bombieri (Dip. Scienze della Vita e della Riproduzione - Sezione di Biologia e Genetica, Università di Verona), Manuela Seia (Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano), Marco Lucarelli (Dip. Biotecnologie Cellulari ed Ematologia, Università La Sapienza, Roma)

Publications

- Pompei F, Ciminelli BM, Bombieri C et al. "Haplotype block structure study of the CFTR gene. Most variants are associated with the M470 allele in several European populations" *European Journal of Human Genetics*, 2006, Jan;14(1):85-93

- FFC Project#5/2010 **"The search of HSP70/HSC70 complex inhibitors useful to correct the ΔF508-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 ΔF508-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.
- Melotti P, Mafficini A, Lebecque P et al. "Impact of MIF gene promoter polymorphism on F508del cystic fibrosis patient" *PLoS ONE*, 2014 Dec 12;9(12):e114274

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 sta-

- to 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 intrinsically 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 Necke, 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 NERFH1" 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 (cftr 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- κ B/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- κ 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.bbame.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 Investigator 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
- Tomati V, Pesce E, Caci E et al. "High-throughput screening identifies FAU protein as a regulator of mutant cystic fibrosis transmembrane conductance regulator channel" 2018 Jan 26;293(4):1203-1217

Abstracts

- Pedemonte N "Novel CFTR regulators identified by means of a functional genomics approach and their possible mechanisms of action" 2019 ECFS Conference, *New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis*. 27-30 March 2019, Dubrovnik, Croatia

- 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, Bezzerri 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
- Castellani S, Favia M, Guerra L et al. "Emerging relationship between CFTR, actin and tight junction in cystic fibrosis airway epithelium" *Histology and Histopathology*, 2017 May;32(5):445-459.

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 Δ F508 can be modulated by structurally unrelated compounds" 13th ECFS Basic Science Conference, 30 March - 02 April 2016, Pisa, Italy
 - Abbaticcianni 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 " **Δ F508-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
 - Marengo B, Speciale A, Senatore L et al. "Matrine in association with FD-2 stimulates F508del-cystic fibrosis transmembrane conductance regulator activity in the presence of corrector VX809" *Molecular Medicine Reports* 2017 Dec;16(6):8849-8853
- 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.
 - Ettore 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⁺]" 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⁺]" 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 approaches 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
 - Lentini L, Melfi R, Cancemi P et al. "Caffeine boosts Ataluren's readthrough activity" *Heliyon* 2019 Jun 21;5(6):e01963
- 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
- Caldrier 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
 - Caldrier 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
 - Caldrier 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, Baruzia A, Vercelloni 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).
 - Fossa P "Studi strutturali sulla proteina CFTR: opportunità e prospettive" *La chimica e l'industria, gen/feb 2019, n.1, anno 2, pp. 48-51*
- 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 Chilini (Dip. di Farmaceutica e Scienze Farmacologiche, Università di Padova)

Abstracts

 - Lampronti I, Milani R, Manzione 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.
- Favia M, de Bari L, Lassandro R et al. "Modulation of glucose-related metabolic pathways controls glucose level in airway surface liquid and fight oxidative stress in cystic fibrosis cells" *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 2019 Apr 27. doi: 10.1007/s10863-019-09797-5.
- FFC Project#2/2015 **"RN5/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)
 - Ashiqul Haque AKM, Dewerth A, Antony JS et al. "Chemically modified hCFTR mRNAs recuperate lung function in a mouse model of cystic fibrosis" *SCI REP* 2018 Nov 13;8(1):16776
 - Sondo E, Pesce E, Tomati V et al. "RN5, DAB2 and Friends: Novel Drug Targets for Cystic Fibrosis" *Current Pharmaceutical Design* 2017;23(1):176-186

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. "RN5 inhibitors as potential drugs for cystic fibrosis basic defect" ECFC Basic Science Conference 2018, 21 -24 March 2018, Loutraki Korinthias, Greece
 - Brusa I, Falchi F, Sondo E et al. "Hit optimization for the development of novel ubiquitin-ligase RN5 inhibitors" 2019 ECFS Conference, New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis. 27-30 March 2019, Dubrovnik, Croatia
 - Pesce E, Sondo E, Caci E et al. "Characterization of biological activity of RN5 inhibitors as potential drugs for cystic fibrosis basic defect" 2019 ECFS Conference, New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis. 27-30 March 2019, Dubrovnik, Croatia
- 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 Caldres (Dip. di Patologia e Diagnostica, sezione di Patologia Generale - Università di Verona)

Abstracts

 - Caldres 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, Meijns 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, Meijns 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, Albufeira, 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
 - Antonio 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
 - Maiuri L, Raia V, Piacentini M et al. "Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) and autophagy: hereditary defects in cystic fibrosis versus gluten-mediated inhibition in celiac disease" *Oncotarget*, 2019 Jul 8;10(43):4492-4500
 - 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
 - Trabucchi C, Mancini G, Munari S et al. "Ganglioside GM1 to stabilize the rescued F508del CFTR" 13th Cystic Fibrosis European Young Investigators' meeting (EYIM), February 27-28, March 1, Institut Pasteur, Paris
 - Loberto N, Mancini G, Trabucchi C et al. "Ganglioside GM1 improves the plasma membrane stabilization of F508del-CFTR rescued by the use of CFTR modulators" 2019 ECFS Conference, New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis, 27-30 March 2019, Dubrovnik, Croatia"
- 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-kB activity and IL-8 expression in cystic fibrosis IB3-1cells" *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 kB (NF-kB)" *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 nov 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)
 - Finotti A, Gasparello J, Fabbri E et al. "Enhancing the expression of CFTR using antisense molecules against microRNA miR-145-5p" *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 2019 Feb 27.
- 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
 - Strazzabosco M, Fiorotto R, Cadamuro M et al. "Pathophysiologic implications of innate immunity and autoinflammation in the biliary epithelium" *BBA - Molecular Basis of Disease* 2018 Apr;1864(4 Pt B):1374-1379.

Abstracts

- T eresinha 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 radiometric 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
- Reynaerts A, Melotti P, Vermeulen F et al. "Implémentation d'une version non-invasive, contrôlée par imagerie, du test de sécrétion B-adrenergique de la sueur: aide au diagnostic et marqueur d'efficacité thérapeutique" 19^e Colloque français des jeunes chercheurs, 20 février 2018, Institut Pasteur, Paris
- 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 (NACF), October 18-20, 2018, Denver, CO, US
- Nguyen-Khoa T, Drummond D, Hatton A et al. "Beta-adrenergic sweat secretion measured by evaporimetry allows resolution of inconclusive diagnosis of cystic fibrosis" North American Cystic Fibrosis Conference (NACFC), October 31 - November 2, 2019 Nashville, TN (USA)
- Nguyen-Khoa T, Hatto A, Schlatter J et al. "Bêta-adrenergic sweat evaporimetric test in patients with an inconclusive diagnosis of cystic fibrosis" 42nd European Cystic Fibrosis Conference, 5-8 June 2019, Liverpool, UK
- FFC Project#6/2016 "Understanding the mode of action of regulatory pathways controlling F508del-CFTR proteostasis and developing drugs that rescue F508del-CFTR by targeting these pathways synergistically" Alberto Luini (Consiglio Nazionale delle Ricerche, Dipartimento Scienze Biomediche, Istituto di Biochimica delle Proteine, Napoli)

Publications

- Hedge RN, Subramanian A, Pothukuchi P et al. "Rare ER protein misfolding-mistrafficking disorders: Therapeutic developments" Tissue and Cell 2017 Apr;49(2 Pt A):175-185
- 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

- Caldrex 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"
- Caldrex 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, Caldrex 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, Caldrex S et al. "Computing volumes of organoids from 3D confocal acquisition with CORVO" North American Cystic Fibrosis Conference (NACF), October 18-20, 2018, Denver, CO, USA
- Lecca P, Lecca M, Caldrex S et al. "Computing volumes of organoids from 3D confocal acquisition with CORVO" North American Cystic Fibrosis Conference (NACF), 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 (NACF), October 18-20, 2018, Denver, CO, USA
- Pauro F, Rescigno F, Farinazzo A et al. "CFTR modulator therotyping and functional impact of the rare CFTR genotype W57G/A234D in a cystic fibrosis patient" 42nd European Cystic Fibrosis Conference, 5-8 June 2019, Liverpool, UK
- Farinazzo A, Rescigno F, Esposito V et al. "Selective bicarbonate transport defects in human rectal biopsies with CFTR gene variants" 2019

ECFS Conference, New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis 27-30 March 2019, Dubrovnik, Croatia"

- Melotti P, Rescigno F, Farinazzo A et al. "Functional impact of the rare CFTR variants W57G/A234D and CFTR modulator therotyping in a CF patient" 2019 ECFS Conference, New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis. 27-30 March 2019, Dubrovnik, Croatia
- 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 proteinkinase 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, Vilardell 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)

Publications

- Ferrera L, Baroni D, Moran O "Lumacaftor-rescued F508del-CFTR has a modified bicarbonate permeability" Journal of Cystic Fibrosis 2019 Feb 6. pii: S1569-1993(18)30927-5

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)

Publications

- Maule G, Casini A, Montagna C et al. "Allele specific repair of splicing mutations in cystic fibrosis through AsCas12a genome editing" Nature Communications, 2019 Aug 7;10(1):3556.

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#2/2017 **"Identification of deubiquitinases and ubiquitin ligases that affect mutant CFTR rescue"** Luis Juan Vicente Galieta (Istituto Telethon di Genetica e Medicina - TIGEM, Napoli)

Publications

- Pesce E, Sondo E, Ferrera L et al. "The Autophagy Inhibitor Spautin-1 Antagonizes Rescue of Mutant CFTR Through an Autophagy-Independent and USP13-Mediated Mechanism" *Frontiers in Pharmacology* 2018 Dec 13;9:1464

- 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.
- Campofelice A, Lentini L, Di Leonardo A et al. "Strategies against Nonsense: Oxadiazoles as Translational Readthrough-Inducing Drugs (TRIDs)" *Molecular Science* 2019 Jul 6;20(13).
- Tutone M, Pibiri I, Lentini L et al. "Deciphering the Nonsense Readthrough Mechanism of Action of Ataluren: An in Silico Compared Study" *ACS Medicinal Chemistry Letters* 2019 Feb 7;10(4):522-527

Abstracts

- Lentini, Melfi R, Tutone M et al. "Identification of a new molecule with readthrough activity to rescue CFTR protein function" 5^o meeting biotecnologie, ricerca di base, interdisciplinare, traslazionale in ambito biomedico, Palermo, 5-6 Luglio 2018
- Pibiri, Lentini L, Tutone M et al. "Rescuing CFTR Protein Function: 1,3,4-oxadiazoles versus 1,2,4-oxadiazoles as readthrough inducing drugs" Italian-Spanish-Portuguese joint Meeting in Medicinal Chemistry MedChemSicily, Palermo 17-18 Luglio 2018
- Lentini L "Rescuing mutant CFTR in cystic fibrosis by genetic drugs" XIII Summer School on Advanced Biotechnology, Orto Botanico, Palermo, 2-5 Settembre 2018
- Lentini L, Pibiri I, Melfi R "Rescue of nonsense mutations by novel readthrough molecules in biological model systems and in cystic fibrosis cells" Convegno AGI, 7-9 Settembre 2017, Cortona
- Campofelice A, Culetta G, Tutone M et al. "Uno studio comparativo in silico sui possibili target di Ataluren e analoghi farmaci promotori di readthrough di codoni di stop prematuri" Convegno congiunto delle Sezioni di Calabria e Sicilia 2019. Palermo, 1-2 marzo 2019
- Campofelice A, Ricco Galluzzo P, Lentini L et al. "New molecules as translational readthrough promoters of nonsense mutations: rescuing the CFTR protein" XXXIX Convegno nazionale della Divisione di Chimica Organica della Società Chimica Italiana, Torino, 8-12 settembre 2019
- Pibiri I, Pace A, Tutone M et al. "Derivati ossadiazolici per il trattamento della fibrosi cistica: readthrough di mutazioni nonsense" Convegno congiunto delle Sezioni di Calabria e Sicilia 2019. Palermo, 1-2 marzo 2019
- Campofelice A, Ricco Galluzzo P, Lentini L et al. "New molecules as translational readthrough promoters of nonsense mutations: rescuing the CFTR protein" XXXIX Convegno Nazionale della Divisione di Chimica Organica, CDCO, 8-12 settembre 2019, Torino

- 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)

Publications

- Genovese M, Borrelli A, Venturini A et al. "TRPV4 and purinergic recep-

tor signalling pathways are separately linked in airway epithelia to CFTR and TMEM16A chloride channels" *Journal of Physiology* 2019 Oct 17. doi: 10.1113/JP278784

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" Thernschool2018, University of Trento, 18-22 June 2018

- FFC Project#9/2017 **"RNFS 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 PI3Ky 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 PI3Ky-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 PI3Ky 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 PI3Ky 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 PI3KI 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
- Murabito A, Li M, Melotti P et al. "Exploiting a PI3Ky mimetic peptide as a CFTR modulator in cystic fibrosis" North American Cystic Fibrosis Conference (NACFC), October 31 - November 2, 2019 Nashville, TN (USA)
- Murabito A, Sala V, Butnarusu CS et al. "Inhaled therapy with a cell-permeable PI3KG mimetic peptide to limit bronchoconstriction and lung inflammation in cystic fibrosis" North American Cystic Fibrosis Conference (NACFC), October 31 - November 2, 2019 Nashville, TN (USA)
- Murabito A, Sala V, Butnarusu CS et al. "Inhaled therapy with a cell-permeable PI3Kgamma mimetic peptide to limit bronchoconstriction and lung inflammation in cystic fibrosis" 2019 ECFS Conference, New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis. 27-30 March 2019, Dubrovnik, Croatia

- FFC Project#12/2017 **"Modulation of protein kinases in the regulation of chaperone machinery leading F508del-CFTR fate"** Mauro Salvi (Dipartimento di Scienze Biomediche, Università degli Studi di Padova)

Publications

- D'Amore C, Salizzato V, Borgo C et al. "A Journey through the Cytoskeleton with Protein Kinase CK2" *Curr Protein Pept Sci* 2019 20(6):547-562.

- FFC Project#4/2018 **"Towards the discovery of new correctors based on nitrogen heterocyclic systems"** Paola Barraja (Università degli Studi di Palermo, Dip. di Scienze e Tecnologie Biologiche, Chimiche e Farmaceutiche - STEBICEF, Lab. Sintesi degli Eterocicli), Paolo Scudieri (Telethon Institute of Genetics and Medicine, TIGEM)

Abstracts

- Scudieri P, Musante I, Spanò V et al. "Determination of drug sensitivity of orphan CFTR mutations: no patient left behind" North American Cystic Fibrosis Conference (NACFC), October 31 - November 2, 2019 Nashville, TN (USA)

- FFC Project#TFCF **"Task Force for Cystic Fibrosis"**, Luis Galieta (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 Cretech (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" *EU-ROMEDLAB*, 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 Innovative 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#6/2012 "**CFTR splicing correction mediated by Exon-Specific U1 small nuclear RNAs (ExSpe U1)**" Franco Pagani (ICGEB, Trieste)

Publications

- Ubby I, Bussani E, Colonna A et al. "TMEM16A alternative splicing coordination in breast cancer" *Molecular Cancer*, 2013; 12: 75
- FFC Project#5/2014 "**An RNA based approach based on ExSpeU1 for correction of CFTR splicing defects: analysis of efficacy in primary bronchial cells**" Franco Pagani (Centro Internazionale di Ingegneria Genetica e Biotecnologie - ICGEB, Trieste)

Publications

- Balestra D, Scalet D, Pagani F et al. "An Exon-Specific U1 snRNA Induces a Robust Factor IX Activity in Mice Expressing Multiple Human FIX Splicing Mutants" *Molecular Therapy - Nucleic Acids*, 2016 Oct 4;5(10):e370
- Rogalska ME, Tajnik M, Licastro D et al. "Therapeutic activity of modified U1 core spliceosomal particles" *Nature Communications*, 2016; 7: 11168.

- 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 (An-

alytical 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
- Armirotti A, Tomati V, Matthes E et al. "Bioactive Thymosin Alpha-1 Does Not Influence F508del-CFTR Maturation and Activity" *SCI REP* 2019 Jul 16;9(1):10310

Abstracts

- Braccia C "Proteomic profiling of mutated-CFTR expressing cells identify new pharmacological targets for cystic fibrosis" 3rd IMASS Network Congress (Parma, Italy, May 2019)
- Braccia C, Tomati V, Caci E et al. "Proteomic profiling of F508del-CFTR expressing cells to identify new pharmacological targets for cystic fibrosis" *Proteomic Forum* 2019, XIII. Annual Congress of the European Proteomics Association: From Genes via Proteins and their Interactions to Functions March 24–28, 2019, Potsdam, Germany"

- FFC Project#7/2018 **"Revealing the microRNAs-transcription factors network in cystic fibrosis: from microRNA therapeutics to precision medicine (CF-miRNA-THER)"** Roberto Gambari (Università degli Studi di Ferrara, Dip. di Scienze della Vita e Biotecnologia, Sez. Biochimica e Biologia molecolare), Roberto Corradini (Università degli Studi di Parma, Dip. di Chimica, Scienze della Vita e Sostenibilità ambientale)

Publications

- Finotti A, Fabbri E, Lampronti I et al. "MicroRNAs and Long Non-coding RNAs in Genetic Diseases" *Molecular Diagnosis & Therapy*, 2019 Jan 4.
- Gasparello J, Manicardi A, Casnati A et al. "Efficient cell penetration and delivery of peptide nucleic acids by an argininocalix[4]arene" *SCI REP* 2019 Feb 28;9(1):3036.
- Manicardi A, Gambari R de Cola et al. "Preparation of Anti-miR PNAs for Drug Development and Nanomedicine" *Methods in Mol Biol* 2018;1811:49-63.
- Gambari R "Targeting microRNAs in Cystic Fibrosis (CF)" *International Journal of Molecular Medicine* 44: supplement, 2019, page S22
- Gambari R, Gasparello J, Fabbri E et al. "Peptide Nucleic Acids for MicroRNAs Targeting" *Methods in Mol Biol*. *submitted*
- Sultan S, Fabbri E, Tamanini A et al. "A PNA-based masking strategy for CFTR upregulation by targeting miR-145-5p binding sites of CFTR mRNA" *International Journal of Molecular Medicine* 44: supplement, 2019, page S22

- FFC Project#8/2018 **"In depth-characterization of the molecular mechanisms underlying PI3K γ -mediated regulation of CFTR"** Emilio Hirsch (Università degli Studi di Torino, Dip. Biotecnologia molecolare e Scienze per la Salute, Centro di Biotecnologia Molecolare)

Publications

- Sala V, Murabito A, Ghigo A "Inhaled Biologicals for the Treatment of Cystic Fibrosis" *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov.* 2019;13(1):19-26

Abstracts

- Sala V, Murabito A, Butnarusu CS "Drug-like properties of an inhaled peptide-based therapy for Cystic Fibrosis" *ECFS Hands-On Workshop on Epithelial Systems: Physiology and Pathophysiology*, Lisbon, Portugal, 22-26 July, 2019

- FFC Project#10/2018 **"Dissecting the mechanism of action of the TG2 inhibitor cysteamine on Cystic Fibrosis"** Mauro Piacentini (Università Roma Tor Vergata, Dip. Biologia), Luigi Maiuri (Istituto Europeo Ricerca Fibrosi Cistica - IERFC c/o Istituto San Raffaele, Milano), Giovanni Delogu (Università Cattolica del Sacro Cuore, Fondazione Policlinico Gemelli, Istituto di Microbiologia, Roma)

Publications

- Villella VR, Esposito S, Ferrari E et al. "Autophagy suppresses the pathogenic immune response to dietary antigens in cystic fibrosis" *Cell Death and Disease*, 2019 Mar 15;10(4):258
- Esposito S, Villella VR, Ferrari E et al. "Genistein antagonizes gliadin-induced CFTR malfunction in models of celiac disease" *Aging* 2019 Apr 12. doi: 10.18632/aging.101888. [Epub ahead of print]

- FFC Project#11/2018 **"Rescuing defective CFTR applying a drug repositioning strategy based on computational studies, surface plasmon resonance and cell-based assays"** Marco Rusnati (Università degli Studi di Brescia, Dip. Medicina Molecolare e Traslazionale, Sez. Oncologia e Immunologia), Paola Fossa (Università degli Studi di Genova, Dip. di Farmacia), Alessandro Orro (Istituto di Tecnologie biomediche, CNR, Milano)

Publications

- D'Urso et al. "Exploitation of a novel biosensor based on the full-length human F508del-CFTR with computational studies, biochemical and biological assays for the characterization of a new Lumacaftor/Tezacaftor analogue" *Sensor and Actuators B: Chemical*, 2019 301:127131

Abstracts

- Khabibulina L, Fossa P "La strategia di riposizionamento di farmaci: un utile approccio per identificare nuovi composti per la terapia di fibrosi cistica" Tesi di Laurea in Chimica e Tecnologia Farmaceutica, Università degli Studi di Genova, Scuola di Scienze Mediche e Farmaceutiche (A.A. 2018-19)
- Uggeri M, Orro A, Urbinati C et al. "Multidisciplinary approaches to rescue CFTR impairments by drug repositioning" *BITS 2019, Bioinformatics Italian Society, Annual Meeting 2019*, June 26-28, Palermo
- Uggeri M, Orro A, Urbinati C et al. "Rescuing defective CFTR applying a drug repositioning strategy" *XXVI National Meeting in Medicinal Chemistry, XII Young Medicinal Chemists' Symposium*, Milan, Ca' Grandà, July 16-19, 2019

- FFC Project#13/2018 **"Testing intestinal organoids for the prediction of response to CFTR potentiators and correctors used in clinic"** Claudio Sorio (Università degli Studi di Verona, Dip. di Medicina)

Publications

- Calderer S, Bergamini G, Sandri A et al. "Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator functional evaluations in a G542X+/-IVS8Tn:T7/9 patient with acute recurrent pancreatitis" *World Journal of Clinical Cases*, *submitted*

Abstracts

- Kleinfelder K, Bertini M, Vicentini R et al. "Preliminary Evaluation of Corrector/Potentiator of CFTR in Patients with Cystic Fibrosis (CF) Homozygous for F508del mutation by Ratiometric Sweat Secretion Optical (RSSO) Test" 16th Annual Meeting European Cystic Fibrosis Society Diagnostic Network Working Group, 14-16 February 2019 - Tunis, Tunisia
- Kleinfelder K, Lecca P, Bertini M et al. "Use of Optical Ratiometric Rate Sweat test for evaluating CFTR function in cystic fibrosis patients" 12th European CF Young Investigators Meeting (EYIM), Paris, 27 February - 1 March 2019
- Lecca P, Bertini M, Vicentini R et al. "Multilinear regression analysis of sweat secretion volumes in cystic fibrosis patients" 23rd IEEE FRUCT Conference, Bologna 13-16 November 2018, Italy
- Sorio C "Nuovi approcci per la caratterizzazione funzionale di mutazioni in FC" 15th Meeting Nazionale della Società Italiana per lo Studio della Fibrosi Cistica (SIFC), 3-4 May 2019 - Rimini, Italy
- Sorio C "Potentiators and Correctors Therapy in Cystic Fibrosis" XLIII Congresso Nazionale Associazione Italiana per lo Studio del Pancreas (AISP), 19-21 Settembre 2019 - Verona, Italy

3. MICROBIOLOGY & INFECTION

Microbiologia e Infezione

- FFC Project#10/2009 **"Validation of novel vaccine candidates of *Pseudomonas aeruginosa*"** Alessandra Bragonzi (Unità di Infezione e fibrosi cistica, Div. di Immunologia, Trapianti e Malattie infettive - Istituto San Raffaele, Milano)

Publications

- Bianconi I, Alcalà-Franco B, Scarselli M et al. "Genome-Based Approach Delivers Vaccine Candidates Against *Pseudomonas aeruginosa*" *Frontiers in Immunology*, 2019 Jan 9;9:3021

- FFC Project#12/2009 **"Novel strategies for respiratory infection therapy in CF. Use of natural and designed antibacterial peptides"** Renato Gennaro (Dip. di Scienze della vita - Università degli Studi di Trieste), Giovanni Di Bonaventura (Dip. di Scienze Biomediche, Lab. di Microbiologia Clinica - Università G. D'Annunzio Chieti-Pescara), Ersilia Fiscarelli (Lab. di Microbiologia - Ospedale Bambino Gesù, Roma)

Publications

- Pompilio A. et al. "Antibacterial and anti-biofilm effects of cathelicidin peptides against pathogens isolated from cystic fibrosis patients" *Pep-tides* 2011 Sep;32(9):1807-14

- FFC Project#14/2009 **"In vivo characterization of a novel branched antimicrobial peptide specific for Gram-negative bacteria. Efficacy in *P. aeruginosa* lung infection and pharmacological profile"** Alessandro Pini (Dip. di Biologia Molecolare, Sez. di Chimica Biologica - Univ. di Siena)

Publications

- Pini A. et al. "A novel tetrabranch antimicrobial peptide that neutral-

- izes bacterial lipopolysaccharide and prevents septic shock in vivo" The FASEB Journal, 2010 Apr;24(4):1015-22
- Pini A. et al. "Efficacy and toxicity of the antimicrobial peptide M33 produced with different counter-ions" Amino Acids, 2012 Jul;43(1):467-73
 - FFC Project#15/2009 **"The role of RND transporters in Burkholderia cenocepacia life by microarray analysis"** Giovanna Riccardi (Dip. di Genetica e microbiologia - Univ. degli Studi di Pavia)
- Publications
- Perrin E. et al. "Exploring the HME and HAE1 efflux systems in the genus *Burkholderia*" BMC Evolutionary biology, 2010 Jun 3;10:164
 - Bazzini S. et al. "Deciphering the role of RND efflux transporters in *Burkholderia cenocepacia*" PLOSE One, 2011 Apr 19;6(4):e18902
 - Coyene T. et al. "Molecular mechanisms of chlorhexidine tolerance in *Burkholderia cenocepacia* biofilms" Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2011 May;55(5):1912-9
 - 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 (Universitäts-Klinikum 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.
 - 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 esculentin-1peptides: An 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 aeruginosa* infection" Fifth International Conference on Paraoxonases (SPON), 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 model" 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.
 - Bollati M, Villa R, Gourlay LJ et al. "Crystal structure of LptH, the periplasmic component of the lipopolysaccharide transport machinery from *Pseudomonas aeruginosa*" FEBS J, 2015 May;282(10):1980-97. doi: 10.1111/febs.13254
- Abstracts
- Martorana A. et al. "New insights into the Lpt Machinery for Lipopolysaccharide transport to the cell surface: functional dissection of LptC protein" 12th FISV 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)
- Publications
- Cigana C, Bernardini F, Facchini M et al. "Efficacy of the novel antibiotic POL7001 in preclinical models of *Pseudomonas aeruginosa* Pneumonia" Antimicrob Agents Chemother, 2016 Jul 22;60(8):4991-5000
- Abstracts
- Bragonzi A. et al., "Evaluation Of Efficacy of POL7001 Against Pseu-

domonas 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 Policlin., Dip. Pediatria, Milano), Daria Giacomini (Dip. Chimica, Università di Bologna)

Publications

- Cervellati R. et al. "Monocyclic β -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" Chem MedChem. 2011 Oct 4;6(10):1919-27. doi: 10.1002/cmdc.201100282. Epub 2011 Aug 10.
- Braschi I, Blasoli 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-methylazetidionones" 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.
- Presta L, Inzucchi I, Bosi E et al. "Draft Genome Sequence of *Flavobacterium* sp. Strain TAB 87, Able To Inhibit the Growth of Cystic Fibrosis Bacterial Pathogens Belonging to the *Burkholderia cepacia* Complex" Genome Announc. 2016, May 19;4(3)

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. Microorganismi), 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" 30th 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, Barcelon, 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 polymyxins"** 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.
- Pompilio A, Ciavardelli D, Crocetta V et al. "Stenotrophomonas maltophilia virulence and specific variations in trace elements during acute lung infection: implications in cystic fibrosis" *PLoS ONE*, 2014 Feb 28;9(2):e88769

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.chemiabiorganiczna.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/mmi.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 Disulphide 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 Traslazionale, 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. "Azithromycin 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
- Lo Sciuoto A, Martorana AM, Fernandez-Pinar R et al. "Pseudomonas aeruginosa LptE is crucial for LptD assembly, cell envelope integrity, antibiotic resistance and virulence" *Virulence* 2018;9(1):1718-1733
- Imperi F, Fiscarelli EV, Visaggio D et al. "Activity and Impact on Resistance Development of Two Antivirulence Fluoropyrimidine Drugs in *Pseudomonas aeruginosa*" *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2019 Mar 11;9:49.

Abstracts

- Costabile G. et al. "Repositioning niclosamide for anti-virulence therapy against *P. aeruginosa* lung infections: development of nanosuspensions 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-fluorocytosine 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- α 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" *AminoAcids* 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 microbiome-based 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 16-17th 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. et 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, Degasperi 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
- Mardirossian M, Pompilio A, Crocetta V et al. "In vitro and in vivo evaluation of BMAP-derived peptides for the treatment of cystic fibrosis-related pulmonary infections" *Amino Acids*, 2016 Sep;48(9):2253-60
- 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 Traslazionale NTMS - Lab. Patologia Generale, Università di Pisa)

Publications

- Corti A, Griese M, Hector A et al. "Increasing sputum levels of gamma-glutamyltransferase may identify cystic fibrosis patients who do not benefit from inhaled glutathione", *Journal of Cystic Fibrosis*, 2017, May;16(3):342-345
- Corti A, Pompella A, Bergamini G et al. "Glutathione inhalation treatments in cystic fibrosis: the interference of airway γ -Glutamyltransferase" *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 2014 Jan 15;189(2):233-4

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 Bioimmagini, 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 β (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, Mattoscio 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 GBA2 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 path-

- ological complexity of *Pseudomonas aeruginosa* respiratory infection" 40th European Cystic Fibrosis Conference Seville, Spain, 7–10 June 2017
- Loré 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
 - Cutone A, Lepanto MS, Rosa L et al. "Aerosolized bovine lactoferrin counteracts infections, inflammation and iron dysbalance in a cystic fibrosis mouse models of *Pseudomonas aeruginosa* chronic lung infection" *International Journal of Molecular Science* 2019, 20(9), 2128
- 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#13/2015 "**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
- Ferrara S, Falcone M, Macchi R et al. "The PAPI-1 pathogenicity island-encoded small RNA *PesA* influences *Pseudomonas aeruginosa* virulence and modulates pyocin S3 production" *PLoS ONE* 2017 Jun 30;12(6):e0180386
 - 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).
 - Bevivino A, Bacci G, Drevinek P et al. "Deciphering the Ecology of Cystic Fibrosis Bacterial Communities: Towards Systems-Level Integration" *Trends Mol Med* 2019 pii: S1471-4914(19)30185-6.
- 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 investigation 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
 - Hogan AM, Scoffone VC, Makarov V et al. "Competitive Fitness of Essential Gene Knockdowns Reveals a Broad-Spectrum Antibacterial Inhibitor of the Cell Division Protein FtsZ." *Antimicrob Agents Chemother*, 2018 Nov 26;62(12).
- 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 CepsI 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 inhal-

able hyaluronan/mannitol composite dry powders for flucytosine re-positioning 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.

- Bragonzi A, Horati H, Kerrigan L et al. "Inflammation and host-pathogen interaction: cause and consequence in cystic fibrosis lung disease" *Journal of Cystic Fibrosis*, 2018 Mar;17(2S):S40-S45.

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 aeruginosa* 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

- Brunetti J, Roscia G, Lampronti I et al. "Immunomodulatory and anti-inflammatory activity in vitro and in vivo of novel antimicrobial candidate" *Journal of Biological Chemistry*, 2016 Dec 2;291(49):25742-25748

- 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)

Publications

- Lorè NI, Sipione B, He G et al. "Collaborative cross mice yield modifiers for *Pseudomonas aeruginosa* infection in human lung disease" *Genome Research*, submitted

Abstracts

- Sipione B, De Fino I, Viviani F et al. "New-genetically diverse mice to mirror complexity of cysti 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)

Publications

- Mangiaterra G, Amiri M, Di Cesare A et al. "Detection of viable but non-culturable *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis by qPCR: a validation study" *BMC Infection Disease*, 2018 Dec 27;18(1):701. doi: 10.1186/s12879-018-3612-9

- Mangiaterra G, Cedraro N, Citterio B et al. "Tobramycin induces the Viable But Non-Culturable state in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm" *Journal of Cystic Fibrosis*, submitted

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

- Mangiaterra G, Cedraro N, Laudadio E et al. "Anti-persistence activity of the natural alkaloid berberine against *Pseudomonas aeruginosa*" Meeting of the Italian Society of Chemistry-Marche region section, September 2019

- Mangiaterra G, Cedraro N, Vaissica S et al. "Induction of Viable but Non-Culturable *Pseudomonas aeruginosa* by tobramycin in *in vitro* biofilms" 33rd Meeting of the Italian Society of General Microbiology and Microbial Biotechnology (SIMGBM), June 2019

- Mangiaterra M, Manso E, Cirilli N et al. "Effectiveness of qPCR for reliable *Pseudomonas aeruginosa* cystic fibrosis lung infection diagnosis" International Congress of Microbiology and Infectious Disease (ICMID), Rome, November 2019, *Invited speaker*

- 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)

Publications

- Casciaro B, d'Angelo I, Zhang X et al. "Poly(lactide-co-glycolide) Nanoparticles for Prolonged Therapeutic Efficacy of Esculentin-1a-Derived Antimicrobial Peptides against *Pseudomonas aeruginosa* Lung Infection: *in Vitro* and *in Vivo* Studies" *Biomacromolecules*, 2019 Apr 23. doi: 10.1021/acs.biomac.8b01829.

- Casciaro B, Cappiello F, Loffredo MR et al. "The Potential of Frog Skin Peptides for Anti-Infective Therapies: the Case of Esculentin-1a(1-21)NH₂" *Curr Med Chem* 2019, Jul 21. doi: 10.2174/0929867326666190722095408

- Casciaro B, Lin Q, Afonin S et al. "Inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation and expression of virulence genes by selective epimerization in the peptide Esculentin-1a(1-21)NH₂" *FEBS J* 2019 Oct;286(19):3874-3891

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 pneu-

- monia? 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, Cappiello F, Casciano B et al. "How to control *Pseudomonas 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
 - Cappiello F, Casciaro B, Loffredo MR et al. "Improvement of antimicrobial and immunomodulatory properties by two L-to D-amino acid substitutions in the frog-skin peptide Esc(1-21)" COST Action CM1407 Meeting dedicated to Early Career Investigators, Brussels, Belgium, 18-19 February, 2019
 - Casciaro B, Loffredo MR, Lin Q et al. "Esculentin 1-1a derivatives as new antipseudomonal agents: limited induction of resistance and inhibition of biofilm formation" 9th International Meeting on Antimicrobial Peptides, Utrecht University, The Netherlands, August 28-30, 2019
 - Loffredo MR, Casciaro B, Dutta D et al. "Encapsulation of esculentin-1a derived peptides into PLGA nanoparticole and their immobilization to contact lens for treatment and prevention of *Pseudomonas aeruginosa* infections" 9th International Meeting on Antimicrobial Peptides, Utrecht University, The Netherlands, August 28-30, 2019
 - Casciaro B, Loffredo MR, Mangoni ML "Anti-pseudomonas esculentin-1a derivatives versus conventional antibiotics: limited induction of resistance and inhibition of biofilm formation" 13th Cystic Fibrosis European Young Investigators' meeting (EYIM), February 27-28, March 1, Institut Pasteur, Paris
 - Mangoni ML, d'Angelo I, Ungaro F et al "Esculentin-1a derived peptides: Potential new drugs to target *Pseudomonas aeruginosa* pulmonary infection?" COST Action CM1407 Final Meeting, December 13-14, 2018, Tenerife, Canary Island, Spain
- 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)
- Publications
- Felicetti T, Machado D, Cannalire R et al. "Modifications on C6 and C7 positions of 3-phenylquinolone efflux pump inhibitors led to potent and safe anti-mycobacterial treatment adjuvants." ACS Infectious Diseases 2019 Mar 25. doi: 10.1021/acsinfectdis.9b00041
- 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
 - Felicetti T, Machado D, Cannalire R et al. "C-6/C-7 functionalization of the 3-phenylquinolone scaffold to obtain potent nontuberculous efflux inhibitors" Merck & Elsevier Young Chemists Symposium, Rimini (Italy), November 19-21, 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, Pirolo 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, Pirolo 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
 - Pirolo 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
 - Pirolo 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
 - Bevivino A, Bacci G, Taccetti G et al. "The personalised temporal dynamics of microbiome in the airways of cystic fibrosis patients" 42nd European Cystic Fibrosis Conference, 5-8 June 2019, Liverpool, UK
- 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 (NACF), 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, 2019 Feb 6;9(1):1527
- 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
- FFC Project#14/2018 **"Ex vivo study on Type I and III interferon response and virus-bacteria interactions in cystic fibrosis patients: a new approach to try to develop alternative therapeutic strategy"** Guido Antonelli (Dip. Medicina Molecolare, Lab. Virologia, La Sapienza Roma; Unità di Microbiologia e Virologia, Policlinico Umberto I)
- Publications
- Prezioso C, Di Lella FM, Rodio DM et al. "Merkel Cell Polyomavirus DNA Detection in Respiratory Samples: Study of a Cohort of Patients Affected by Cystic Fibrosis" Viruses, 2019 Jun 21;11(6). Pii: E571. doi: 10.3390/v11060571
- Abstracts
- Bitossi C, Viscido A, Nonne C et al. "Age and genotype related Rhinovi-

rus infection rate in Cystic Fibrosis patients attending a Regional Reference Center" SIM 2019 (Rome September 2019)

- FFC Project#15/2018 **"Off-target effects of CFTR-modulators in pre-clinical infection models"** Cristina Cigana (Unità Infezioni e Fibrosi Cistica, divisione di Immunologia, Trapianti e Malattie Infettive, Istituto San Raffaele Milano)

Abstracts

- Mancini G, Caslini C, Alcalà-Franco B et al. "Impact of CFTR modulators on susceptibility to antibiotics and CFTR expression during *Pseudomonas aeruginosa* infection" North American Cystic Fibrosis Conference (NACFC), October 31 - November 2, 2019 Nashville, TN (USA)

- FFC Project#17/2018 **"Drug repurposing for antivirulence therapy against *Pseudomonas aeruginosa*"** Livia Leoni (Università Roma Tre, Dip. Scienze, Lab. Microbiologie dei microrganismi)

Publications

- D'Angelo F, Baldelli V, Halliday N et al. "Identification of FDA-Approved Drugs as Antivirulence Agents Targeting the pqs Quorum-Sensing System of *Pseudomonas aeruginosa*" Antimicrob Agents Chemother 2019 Oct 24;62(11).

- Mellini M, Di Muzio E, D'Angelo F et al. "In silico Selection and Experimental Validation of FDA-Approved Drugs as Anti-quorum Sensing Agents" Frontiers in Microbiology 2019 Oct 10;10:2355

- FFC Project#19/2018 **"New weapons against Mycobacterium abscessus and other nontuberculous mycobacteria"** Maria Rosalia Pasca (Università degli Studi di Pavia, Dip. di Biologia e Biotecnologia Lazzaro Spallanzani, Lab. Microbiologia molecolare)

Publications

- Degiacomi G, Sammartino JC, Chiarelli LR et al. "*Mycobacterium abscessus*, an emerging and worrisome pathogen among cystic fibrosis patients" International Journal of Molecular Sciences, submitted

Abstracts

- Sammartino JC, Degiacomi G, Chiarelli LR et al. "Fighting Mycobacterium abscessus infection in cystic fibrosis patients" Microbiology 2019, XXXIII SIMGBM Congress, University of Florence, June 19-22, 2019

4. INFLAMMATION

Infiammazione

- FFC Project# 18/2009 **"Mapping IL-8 gene transcription machinery in bronchial epithelial cells"** Giulio Cabrini (Lab. Patologia Molecolare - Lab. Chimica Clinica ed Ematologia OCM - Azienda Ospedaliera di Verona), Piero Pucci (CEINGE - Biotecnologie Avanzate scrl, Napoli)

Publications

- Bezzetti V. et al. "Phospholipase C- β 3 is a key modulator of IL-8 expression in cystic fibrosis bronchial epithelial cells" Journal of Immunology, 2011 Apr 15;186(8):4946-58

- FFC Project# 19/2009 **"Role of CFTR-Connexin interaction on PGE2 signaling and inflammation: implication for cystic fibrosis"** Marc Chanson (Dipartimento di Pediatria, Lab. indagini cliniche - Ospedale Universitario di Ginevra), Maria Cristina Dehecchi (Lab. Patologia Molecolare, Lab. Chimica Clinica ed Ematologia OCM - Azienda Ospedaliera di Verona)

Publications

- Schechenbach KE et al. "Prostaglandin e2 regulation of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator activity and airway surface liquid volume requires gap junctional communication" American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology, 2011 Jan;44(1):74-82

- FFC Project# 22/2009 **"Origin of lung fluid gamma-glutamyltransferase and its effects in modulation of antioxidant balance, inflammation and CF respiratory dysfunction"** Alfonso Pompella (Dip. di Patologia Sperimentale - Università degli Studi di Pisa)

Publications

- Bergamini G. et al. "Effects of Azithromycin (AZM) on Glutathione-S-Transferases (GST)s in cystic fibrosis airways cells" American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology 2009 Aug;41(2):199-206

- Bramanti E. et al. "Exogenous vs. endogenous γ -glutamyltransferase activity: implications for the specific determination of S-nitrosoglutathione in biological samples" Archives of biochemistry and Biophysics 2009 Jul 15;487(2):146-52

- Bramanti E. et al. "The determination of S-nitrosothiols in biological samples - procedures, problems and precautions" LIFE SCIENCES, 2011 Jan 17;88(3-4):126-9

- 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 regulates 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.

- Giorgi C. et al. "Mitochondria associated membranes (MAMs) as critical hubs for apoptosis" Communicative & integrative biology, 2011 May;4(3):334-5

- 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

- Dechecchi 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)
- Dechecchi 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
- Dechecchi 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
- Dechecchi MC. et al., "Inhibitors of glucosylceramide synthase (GluCerT) reduce the transcription of IL-8 induced by *P. aeruginosa* in CF bronchial cells" *ECFC Basci Science Conference Tirrenia - Pisa, Italy* 30 March - 2 April 2011
- Dechecchi 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
- Dechecchi 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.
- Dechecchi 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
- Dechecchi 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 epithelial cells" 9th ECFS Basic Science Conference, Sainte-Maxime, France from 28 March - 1 April 2012
- Dechecchi 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
- Dechecchi C. et al. "Aminosugar-based inhibitors of ceramide glucosyltransferase (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- κ B 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 κ B (NF- κ B) of a focus library: identification of bioactive furocoumarin derivatives in-

hibiting NF- κ B 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 Fc γ 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 Fc γ 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 Fc γ 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 Fc γ Receptors in the protective activity of the long pentraxin PTX3 against *Aspergillus fumigatus* and *Pseudomonas aeruginosa*", *Toll2011 Meeting, Decoding Innate Immu-*

nity, 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# 19/2010 **"Metabolomic analysis by nuclear magnetic resonance spectroscopy as a new approach to understanding inflammation and monitoring of pharmacological therapy in children and young adults with cystic fibrosis"** Paolo Montuschi (Dip. di Farmacologia, Facoltà Medicina, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma), Vincenzina Lucidi (Dip. Pediatria, Ospedale Bambin Gesù, Roma), Andrea Motta (Istituto di Chimica Molecolare CNR, Napoli)

Publications

- 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, Paris D, Melck D et al. "NMR spectroscopy metabolomic profiling of exhaled breath condensate in patients with stable and unstable cystic fibrosis" *Thorax*, 2012 Mar;67(3):222-8
- 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
- Montuschi P, Lucidi V, Paris D et al. "Metabolomic Analysis by Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy as a New Approach to Understanding Inflammation and Monitoring of Pharmacological Therapy in Children and Young Adults With Cystic Fibrosis" *Frontiers in Pharmacology*, 2018 Jun 18;9:595

- 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), Edwin 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-inflammatories 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. Batteriologia 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
- Riva C, C. Cigana, NI. 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
- Funciello 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. "Antiinflammatory 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-κB delivered through inhalable particles prevents LPS-induced rat airway inflammation" *Am J Respir Cell Mol Biol*. 49(2013):288-95.
 - d'Angelo I, Perfetto 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-κB 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-κB" 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-κB" 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-κB 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 Dececchi (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, Dececchi 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.
 - Milani R, Marcellini A, Montagner G et al. "Phloridzin derivatives inhibiting pro-inflammatory cytokine expression in human cystic fibrosis IB3-1 cells" *European Journal of Pharmaceutical Science*, 2015 Oct 12;78:225-33
- 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 β-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 Biologiche, 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 *Aspergillus*" 6th Advances Against *Aspergillus* 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 *Aspergillus* 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 Cfr-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 Cfr-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- γ signaling as a novel target to limit NF- κ B-dependent inflammation in Cystic Fibrosis biliary epithelium" EASL International Liver Congress™ 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 Congress™ 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 Cfr-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* (*Infections 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

- Paoerio 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 ECOMM/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 (Labo-

torio 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" XIth 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)

Publications

- Cabrini G "Innovative therapies for cystic fibrosis: the road from treatment to cure" *Molecular Diagnosis & Therapy*, 2018 Nov 26
- Rimessi A, Bezzerri V, Salvatori F et al. "PLCB3 Loss of Function Reduces *Pseudomonas aeruginosa*-Dependent IL-8 Release in Cystic Fibrosis" *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 2018 Oct;59(4):428-436.

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* 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, Napolioni V, Oikonomou V et al. "IL-1 receptor antagonist ameliorates inflammasome-dependent inflammation in murine and human cystic fibrosis" *Nature Communications*, 2016 Mar 14;7:10791
- 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/imr.12623
- Costantini C, Renga G, Oikonomou V et al. "The Mast Cell-Aryl Hydrocarbon Receptor Interplay at the Host-Microbe Interface" *Mediators of Inflammation*, 2018 Oct 28;2018:7396136
- Puccetti M, Paolicelli G, Oikonomou V et al. "Towards Targeting the Aryl Hydrocarbon Receptor in Cystic Fibrosis" *Mediators of Inflammation*, 2018 Feb 18;2018:1601486
- 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 β -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 γ scaffold function to activate airway CFTR, limit lung inflammation and promote bronchorelaxation 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 γ /PKA/PDE signaling complex augments cAMP/PKA signaling and CFTR activity in non-CF and Δ F508-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 inflamma-

tion: 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 Dececchi (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, Dececchi MC, Rimessi A et al. " β -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
- Dececchi MC, Tamanini A, Cabrini G "Molecular basis of cystic fibrosis: from bench to bedside" *Annals of Translational Medicine* 2018 Sep;6(17):334
- De Fenza M, D'Alonzo D, Esposito A et al. "Exploring the effect of chirality on the therapeutic potential of N-alkyl-deoxyiminosugars: anti-inflammatory response to *Pseudomonas aeruginosa* infections for application in CF lung disease" *Eur J Med Chem* 2019 Aug 1;175:63-71.

Abstracts

- Dececchi 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 et al. "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 on 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 Strazabosco (Dipartimento di Chirurgia e Medicina Traslazionale, Laboratorio 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 Δ F508 human cholangiocytes and improves CFTR correctors efficacy" *Hepatology* 2017 Jul 24. doi: 10.1002/hep.29400

- FFC Project#23/2015 **"Targeting PI3K γ 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 γ /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 γ -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 γ 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
- Murabito A, Ren K, Pirozzi F et al. "Exploiting a PI3K γ mimetic peptide as a CFTR modulator in cystic fibrosis" 2019 ECFS Conference, New Frontiers in Basic Science of Cystic Fibrosis. 27-30 March 2019, Dubrovnik, Croatia

- 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. "Resolvin D1 enhances the resolution of lung inflammation caused by long-term *Pseudomonas aeruginosa* infection" Mucosal Immunol, 2018 Jan;11(1):35-49
- Recchiuti A, Mattoscio D, Isopi E "Roles, action, and therapeutic potential of specialized pro-resolving lipid mediators for the treatment of inflammation in cystic fibrosis" Frontiers in Pharmacology 2019 Apr 2;10:252.

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
- Isopi E, Mattoscio D, Romano M et al. "Protective role of RVD1 and its receptor in cystic fibrosis" North American Cystic Fibrosis Conference (NACFC), October 31 - November 2, 2019 Nashville, TN (USA)
- Mattoscio D, Isopi E, Lamolinara A et al. "Resolvin D1 promotes resolution of inflammation, infection, and damage in CF" North American Cystic Fibrosis Conference (NACFC), October 31 - November 2, 2019 Nashville, TN (USA)
- Recchiuti A, Mattoscio D, Isopi E et al. "Actions of Resolvin D1 and D2 in cystic fibrosis MRSA lung infection and inflammation" North American Cystic Fibrosis Conference (NACFC), October 31 - November 2, 2019 Nashville, TN (USA)

- FFC Project#21/2017 **"Testing the anti-inflammatory effects of matrix metalloprotease inhibitors in *P. aeruginosa*-infected CFTR-knockout mice by in vivo imaging techniques"** Federico Boschi (Dipartimento di Informatica, Università degli Studi di Verona)

Abstracts

- Sandri A, Lleo MM, Boschi F "Protease inhibitors elicit anti-inflammatory effects in mice with *Pseudomonas aeruginosa* acute lung infection" 42nd European Cystic Fibrosis Conference, 5-8 June 2019, Liverpool, UK

- 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 Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Granada, Spain, March 19-22, 2018

- FFC Project#24/2018 **"Pharmacology and therapeutics of inhaled indoles, as aryl hydrocarbon receptor ligands, in cystic fibrosis"** Luigina Romani (Università degli Studi di Perugia, Dip. Medicina Sperimentale)

Publications

- Napolioni V, Pariano M, Borghi M et al. "Genetic Polymorphisms Affecting IDO1 or IDO2 Activity Differently Associate With Aspergillosis in Humans" Frontiers in Immunology, 2019 May 7;10:890
- van de Veerdonk F, Servillo G, De Luca A et al. "Anakinra restores cellular proteostasis by coupling mitochondrial redox balance to autophagy" Science, submitted

- FFC Project#25/2018 **"Enabling pulmonary delivery of siRNA in cystic fibrosis lung inflammation: therapeutic potential of hybrid lipid/polymer nanoparticles"** Francesca Ungaro (Università degli Studi di Napoli Federico II, Dip. Farmacia), Olivia Monica Merkel (Dept. Pharmazie, Ludwig-Maximilians Universität, München)

Abstracts

- Baldassi D, Costabile G, Conte G et al. "In vitro evaluation of siRNA loaded hNPs for the treatment of cystic fibrosis" International Conference on Nanomedicine and Nanobiotechnology 2019 (ICONAN 2019), October 16th – 18th, 2019, Munich, Germany
- d'Angelo I, Conte G, Costabile G et al. "Enabling pulmonary delivery of siRNA in cystic fibrosis lung inflammation through hybrid lipid/polymer nanoparticles" International Society for Aerosol in Medicine e.V., 22nd ISAM Congress, Montreaux, Switzerland, May 25-29, 2019
- d'Angelo I, Conte G, Costabile G et al. "Tailored hybrid lipid/polymer nanoparticles for pulmonary delivery of siRNA in cystic fibrosis" IV International Caparica Symposium on Nanoparticles/Nanomaterials and Applications 2020 (ISN2A2020), January 20th-23rd, 2020, Caparica, Portugal
- Ungaro F "Overcoming lung barriers to siRNA delivery in cystic fibrosis through tailored lipid/polymer hybrid nanoparticles" 11th Annual RNA Therapeutics Conference Focus Day – Oligonucleotide Delivery Systems, 18th February 2020, London, UK
- Costabile G, Buroni S, Provenzano R et al. "Elongated mucus-penetrating nanocrystals for lung delivery of a new anti-*Burkholderia* agent in cystic fibrosis" International Society for Aerosol in Medicine e.V., 22nd ISAM Congress, Montreaux, Switzerland, May 25-29, 2019
- Costabile G, Provenzano R, Mitidieri E et al. "Repurposing Gallium for local treatment of *P. aeruginosa* lung infections through sustained-release dry powders for inhalation" International Society for Aerosol in Medicine e.V., 22nd ISAM Congress, Montreaux, Switzerland, May 25-29, 2019
- d'Angelo I, Casciaro B, Zhang X et al. "Biodegradable nanoparticles for prolonged therapeutic efficacy of antimicrobial peptides against *Pseudomonas aeruginosa* lung infections" International Society for Aerosol in Medicine e.V., 22nd ISAM Congress, Montreaux, Switzerland, May 25-29, 2019

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" SIM-MENS 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)

Publications

- Ciet P, Bertolo S, Ros M et al. "Detection and monitoring of lung inflammation in cystic fibrosis during respiratory tract exacerbation using diffusion-weighted magnetic resonance imaging" *European Respiratory Journal*, 2017 Jul 20;50(1)

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 IRCCS Ca' Granda, Milano), *Mirella Collura* (Centro FC, Ospedale "G. Di Cristina", Palermo), *Giuseppe Magazzù* (Centro FC, Messina), *Valeria Raia* (Centro FC, Napoli)

Publications

- Dolce D, Neri S, Grisotto L et al. "Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* eradication in cystic fibrosis patients: A randomized multicenter study" *PLoS ONE*, 2019 Mar 22;14(3):e0213497

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 Pantone-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 methicil-

lin-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
- Alicandro G, Battezzati A, Bianchi ML et al. "Estimating body composition from skinfold thicknesses and bioelectrical impedance analysis in cystic fibrosis patients" *Journal of Cystic Fibrosis*, 2015 Nov;14(6):784-91

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), Baroukh Maurice Assael (Centro fibrosi cistica, AOUI Verona)

Publications

- Bortoluzzi CF, Pontello E, Pintani E et al. "The impact of chest computed tomography and chest radiography on clinical management of cystic fibrosis lung disease" *Journal of Cystic Fibrosis*, 2019 Sep 4. pii: S1569-1993(19)30837-9.

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 IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano), Clelia Di Serio (CUSSE-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 Transgenized 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., Caldrea 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., Caldrea 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
- Dolce D, Ravenni N, Campana S et al. "Phenotyping and molecular

monitoring of *P. aeruginosa* during early eradication treatment” North American Cystic Fibrosis Conference (NACFC), October 31 - November 2, 2019 Nashville, TN (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)

Publications

- Colombo C, Alicandro G, Gambazza S et al. “Ventilation inhomogeneity is associated with OGTT-derived insulin secretory defects in cystic fibrosis” *Pediatr Pulmonol* 2018 Dec 21. doi: 10.1002/ppul.24212.

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)

Publications

- Passarelli Mantovani R, Sandri A, Boaretti M et al. “Toothbrushes may convey bacteria to the cystic fibrosis lower airways” *Journal of Oral Microbiology*, 2019 Aug 7;11(1):1647036. doi: 10.1080/20002297

Abstracts

- Sandri A, Cazzaroli 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
- Passarelli Mantovani R, Burlacchini G, Sandri A et al. “Human and environmental reservoirs of bacterial species colonising the lower airways of cystic fibrosis patients” 42nd European Cystic Fibrosis Conference, 5-8 June 2019, Liverpool, UK
- Passarelli Mantovani R, Signoretto C, Sandri A et al. “Investigação do papel dos reservatórios bacterianos para infecção pulmonar crônica em paciente com fibrose cística” *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, VII Congresso Brasileiro de Fibrose Cística, 1-4 de maio de 2019, Expo D. Pedro, Campinas, SP

- FFC Project#30/2018 **“Cystic Fibrosis screen positive inconclusive diagnosis (CFSPID): an Italian multicenter survey evaluating prevalence, clinical data, management and outcome”** Vito Terlizzi (Centro FC, AOU Meyer, Firenze), Rita Padoan (Centro supporto FC, Spedali Civili, Brescia); Antonella Tosco (Centro FC, Università Federico II, Napoli), Laura Elisabetta Claut (IRCCS Ca’ Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano)

Publications

- Terlizzi V, Mergni G, Buzzetti R et al. Cystic fibrosis screen positive inconclusive diagnosis (CFSPID): experience in Tuscany, Italy, *Journal of Cystic Fibrosis*, 2019 Jul;18(4):484-490
- Terlizzi V, Mergni G, Centrone C et al. Trend of sweat chloride values in a cohort of patients carrying *cftr* mutations of varying clinical consequence, *Pediatr Pulmonol*, *submitted*

Abstracts

- Terlizzi V, Mergni G, Buzzetti R et al. “Cystic fibrosis screen positive. inconclusive diagnosis: six years of experience in an Italian cystic fibrosis center” 32th Annual North American Cystic Fibrosis Conference (NACFC) 2018

FFC Facilities

- **Cystic Fibrosis animal Core facility 1 (CFaCore 1)** 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 Culture 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.

Appendix 2

Institutes and Laboratories involved in the 395 projects funded by Italian CF Research Foundation 2002-2019

Istituti e Laboratori attivi nei 395 progetti finanziati da FFC dal 2002 al 2019

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
- 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 ISTEC, 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, La Sapienza, Roma
- Unità di Microbiologia e Virologia, Policlinico Umberto I
- Divisione Microbiologia clinica, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma

- Dip. Chimica e Tecnologia del Farmaco, Università La Sapienza, 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 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 biomedica, IRGB - CNR, Milano
- Divisione Genetica e Biologia Cellulare, Unità dinamica della cromatina, Ospedale San Raffaele, Milano
- Politecnico di Milano, Dip. Elettronica, Informazione e Bioingegneria
- Dip. Psicologia, Università Cattolica, Milano

MARCHE

- Centro Fibrosi Cistica-Ospedale dei Bambini - Centro FC, Ancona
- Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università Politecnica delle Marche
- Scuola di Bioscienze e Medicina Veterinaria, Università di Camerino
- Dip. Scienze Biomolecolari e Biotecnologiche, Università di Urbino

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
- Dip. Scienze e Innovazione Tecnologica, Università Piemonte Orientale

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
- Unità di Gastroenterologia Pediatrica e Fibrosi Cistica, AOU Messina

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 Trasazionale 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
- Istituto 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 Medicine, 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, Universitäts Klinikum, Munster
- 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

Appendix 3

International Reviewers of FFC Projects (2002-2019)

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

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 Krejsek

Denmark

Thomas Bjarnsholt

Oana Ciofu

Niels Hojby

Christian Koch

Marie Johannesson

Jette Elisabeth Kristiansen

Søren Molin

Peter E. Nielsen

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 Goyenvalle

Genevieve Hery Arnaud

Jacky Jaquot

Jean Paul Latgé

Frederic Laurent

Fabien Lecaille

Patricia Lemarchand

Christine Linard

Olivier Mignen

Anne Munk

Patrizia Paterlini-Brèchot

Jean-Marc Rolain

Marie Catherine Romey

Juliet Royet

Magali Taulan-Cadars

Isabelle Sermet

Virginie Scotet

Olivier Tabary

Pascal Trouvé

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

Catherine Greene

Siobhán McClean

Irene Oglesby

Cian O'Leary

Emer Reeves

Italy

Guido Antonelli

Tiziano Bandiera

Giovanna Batoni

Flavia Bazzoni

Alessandra Bragonzi

Carlo Castellani

Paola Catastini

Antonio De Flora

Fabrizio De Ponti

Luis Juan Vicente Galiotta

Silvio Garattini

Marco Lucarelli

Giuseppe Magazzù

Oscar Moran

Nicoletta Pedemonte

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

Lidewji Henneman

Erik Hulzebos

Peter JFM Merkus

Charlotte Robbroeks

Harm Tiddens

Bernt Van Der Blink

U.K. - Northern Ireland

Matthew Avison

Maria G. Belvisi

Charlotte Billington

James Birchall

Marina Botto

Malcolm Brodlie

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

Jo Fothergill

Peter Gahan

Erol Gaillard

Claire Glasscoe

John Govan

Michael Gray

Robert Gray

Andrew Greening

Uta Griesenbach

Katjia Hill

Alexander Horsley

Eshwar Mahenthiralingam

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

Ungary

Mónika Homa

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

NORTH AMERICA

Canada

Christine Bear

André Cantin

Tom Clandinin

Elizabeth Cowley

Lori Burrows

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

U.S.A.

Alabama
Bakhrom K. Berdiev
David Bedwell
John Paul Clancy
Kim Keeling
Lisa Schwiebert
Robert Wang

California
Myriam Amsallem
William Balch
Annelise Barron
Carroll Cross
Beate Illek
Ryan Hunter
Ronald Kopito
Klaus Ley
Terry Machen
Richard Moss
Malla M. Reddy
Evan Powers
Paul Quinton
David A. Stevens
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
Jerold 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
Samuel 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 Slaugenhaupt

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 Gentzsch
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
Ann Harris
Daniel Hasset
Scott Herness
Craig Hodges
Lloyd Horrocks
Valerie Hudson
Christopher Karp
Thomas J. Kelley
Michael Konstan
Benjamin Kopp
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
Ronald Rubenstein
Douglas Wilson

South Carolina
Patrick Flume

Tennessee
John Christman
Michael Laposata
Vasily 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
Moir 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

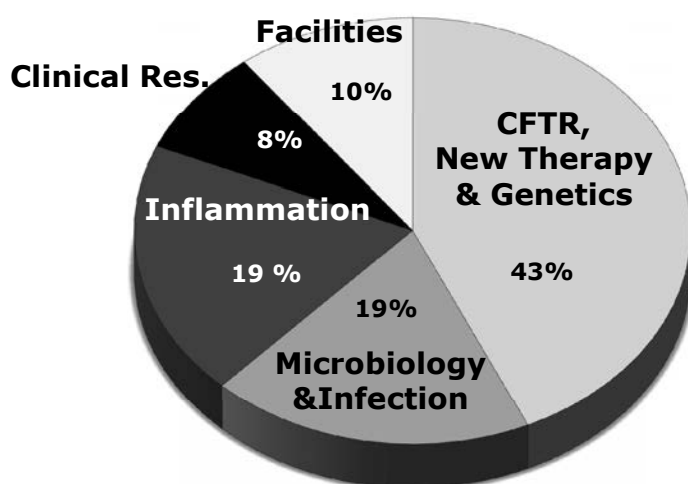
The Italian Cystic Fibrosis Research Foundation (FFC) wishes to thank all the reviewers who have so far contributed to evaluate research proposals submitted annually to the Foundation. Their strong commitment to critical analysis and targeted suggestions have helped to optimally qualify the activities of the FFC research network.

2002-2019 FFC Projects: funding and publications

Progetti FFC 2002-2019: finanziamento e pubblicazioni

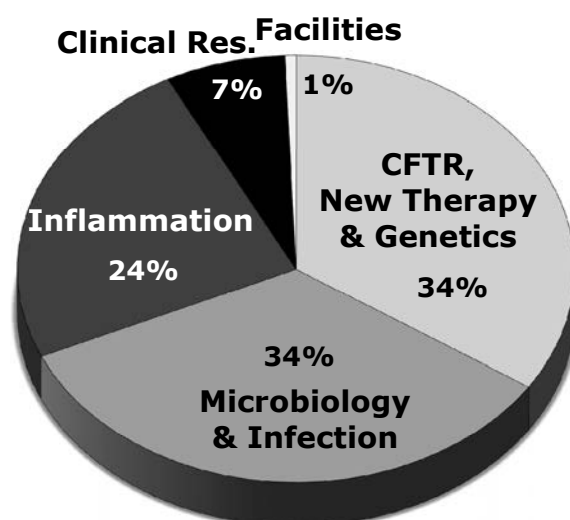
FFC Funding by Research Areas and Facilities (2002-2019)

Total Funding: € 27.920.349



FFC Publications by Research Areas (2002-2019)

Total number of Publications: 627



FFC Research funding (1997-2019)

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	2019	2002-2019
CFTR physiopathology, New Therapy & Genetics	263.000 2 proj.	328.000 8 proj.	189.000 8 proj.	315.000 7 proj.	285.000 8 proj.	333.000 7 proj.	390.000 5 proj.	505.000 9 proj.	470.000 8 proj.	545.000 9 proj.	565.000 6 proj.	415.000 7 proj.	1.682.000 10 proj.	487.000 9 proj.	665.000 12 proj.	688.000 11 proj.	1.142.149 13 proj.	2.029.000 15 proj.	11.296.149 154 proj.
Microbiology & 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.	447.000 7 proj.	360.000 5 proj.	4.946.000 108 proj.
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.	263.000 4 proj.	5.121.000 85 proj.
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.	316.000 4 proj.	2.158.000 48 proj.
Core Facilities (F)							200.000 Quantif. (3 yrs)	400.000 CFaCore (3 yrs)	6.500 Primary Colt	7.200 Primary Colt	802.000 CFaC.(3yrs) Prim.C.(3yrs) CFDB	50.000 CFDB	20.000 CFDB	260.000 CFDB CFaCore Prim.Colt.	253.000 CFDB CFaCore Prim.Colt.	243.000 CFDB CFaCore Prim.Colt.	248.000 CFDB CFaCore Prim.Colt.	243.000 CFDB CFaCore Prim.Colt.	2.732.700 4 Facilities
Research projects	4 proj.	13 proj.	19 proj.	17 proj.	24 proj.	20 proj.	17 proj.+ 1F.	24 proj.+ 1F.	29 proj.+ 1F.	26 proj.+ 1F.	20 proj.+ 3F.	23 proj.+ 1F.	30 proj.+ 1F.	30 proj.+ 3F.	22 proj.+ 3F.	24 proj.+ 3F.	31 proj.+ 3F.	28 proj.+ 3F.	395 proj.+ 4F
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	1.558.000	2.374.149	3.211.000	26.253.849
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	224.000	1.666.500
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	1.736.000	2.554.149	3.435.000	27.920.349

Research investment 2002 - 2019: 27.920.349 €

Research support at Verona CF centre 1997 - 2002: 777.217 €

Total research investment 1997 - 2019: 28.697.566 €

FFC projects (2017-2019) presented at the Convention and adopted by FFC Supporters

Progetti FFC (2017-2019) presentati alla Convention e adottati da Sostenitori FFC

Progetto strategico FFC/TFCF - *Task Force for Cystic Fibrosis*
Responsabile: Luis Galiotta (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)

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 Galiotta (Telethon Institute of Genetics and Medicine - TIGEM, Napoli)

Costo: € 2.000.000. Adottato parzialmente da: Evento *“Marafibrositona 2017”* promosso dalla Delegazione FFC di Como Dongo (€ 56.000), *Il cuore degli amici di Bergamo* (€ 40.000), *Piazzalunga srl* (€ 10.000), Quota parziale Cinque per mille redditi 2016 (€ 146.400), *Dondup* (€ 10.000), *Fondazione Bruno Maria Zaini* (€ 35.000), *Marcella e Lorenzo Turazza* (€ 22.000), *Donazioni Campagna di Pasqua 2017 finalizzate Task Force* (€ 50.000), *“Dai energia alla ricerca”* (€ 100.000), *Lascito Famiglia Scarpa* (€ 20.000), Evento *“Insieme per donarti un respiro” 4ª ed. promosso dalla Delegazione FFC di Vittoria Ragusa* (€ 10.000), Evento *“Artisti per un respiro” 4ª ed. promosso dalla Delegazione FFC di Catania Mascalucia* (€ 10.000), *“Alla ricerca di un sorriso 6”* promosso da Gruppo di Sostegno FFC di Seregno (€ 25.000), *SEI Toscana* (€ 12.000), *Saint Gobain* (€ 10.000), *Amici per la Ricerca di Bassano* (€ 31.500), *Loifur* (€ 20.000), *Latteria Montello* (€ 15.000), *Ma.Gia srl* (€ 10.000), Progetto *“Tredici/43”* promosso dalla Delegazione FFC di Vicenza (€ 50.000), *Proventi libro “Smeraldi a colazione” - 2017* (€ 20.000), *#CorrerePerUnRespiro 2018* (€ 20.000), *Metropole* (€ 21.000), *Famiglia Calabrese De Feo* (€ 20.000), *Bike Tour FFC 2017* (€ 47.000), *Sfoglia Torino srl* (€ 20.000), Evento *“Verdi legge Verdi”, omaggio a Marta Marzotto* (€ 11.000), *Amici della ricerca di Milano* (€ 20.000), *“In ricordo di Dani Copes”*. Raccolta fondi promossa dall'Associazione Trentina Fibrosi Cistica - Onlus (€ 10.000), Quota parziale Campagna Nazionale FFC 2017 (€ 50.000), *Numero Solidale 2017* (€ 17.471),

Quota parziale Campagna di Natale FFC 2017 (€ 100.000), *“La Camminata del Respiro”* e altri eventi promossi dalla Delegazione Sondrio Valchiavenna (€ 30.000), Quota parziale Campagna di Pasqua FFC 2018 (€ 25.000); *“Project Hope - Rosa Pastena”* (€ 35.000), *Wind Tre in ricordo di Francesca Cascone* (€ 10.000), Quota parziale *“Marafibrositona 2018”* promosso dalla Delegazione FFC di Como Dongo (€ 63.200), Quota parziale Campagna Nazionale FFC 2018 (€ 50.000), *Bike Tour FFC 2018* (€ 50.000), *Numero Solidale 2018* (€ 12.370), *“Together for life”* (€ 91.000), *Asta UK-Italy Business Boost 2018* (€ 31.300), *Castelli 24 H Feltre 2018* (€ 8.250), *“Un calcio ai 60”* (€ 11.300), *Amici della ricerca Bassano 2018* (€ 24.000), *Brandart* (€ 10.000), *Bricoman* (€ 15.000), Quota parziale Campagna di Pasqua FFC 2019 (€ 25.000), Quota parziale *“Marafibrositona 2019”* promossa dalla Delegazione FFC di Como Dongo (€ 100.000), *“Aziende per Task Force”*, raccolta promossa da Delegazione FFC di Verona Val d'Alpone (€ 20.000), *Lega Italiana Fibrosi Cistica di Messina - Fund Raising Dinner Claudio Miceli* (€ 15.000), *Fibrosirun 2019* (€ 21.000), *Guadagnin Srl* (€ 10.000), Evento *“Un respiro sotto le stelle”* promosso dal Gruppo di sostegno FFC di Crevalcore Bologna (€ 12.000). Adottabile per € 291.209

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#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 Galiotta (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#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" Assemini - Cagliari* (€ 8.000), *Gruppo di Sostegno FFC di Vigevano* (€ 15.000), *Delegazione FFC della Valdadige* (€ 8.000), *Delegazione FFC di Lodi* (€ 9.000)

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#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#21/2017

Studio degli effetti antinfiammatori degli inibitori di metalloproteasi Ilomastat 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#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 totalmente da: *Delegazione FFC di Taranto Massafra* (€ 15.000), *Delegazione FFC Cosenza Sud* (€ 8.000), *Guadagnin SRL* (€ 8.000), *Delegazione FFC della Valpolicella* (€ 50.000)

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 totalmente da: *Delegazione FFC di Vigevano* (€ 39.000), *Delegazione FFC di Verbania e V.C.O.* (€ 20.000), *Delegazione FFC di Como Dongo* (€ 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 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 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 Trarate 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. *Adottato totalmente da: Gruppo di Sostegno FFC di Morbegno* (€ 35.000), *Delegazione FFC di Milano* (€ 63.000)

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 totalmente da: Delegazione FFC di Ascoli Piceno* (€ 20.000), *Delegazione FFC di Novara* (€ 12.000), *Delegazione FFC di Brindisi Torre* (€ 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. *Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Sassari Castelsardo e Gruppo di Sostegno FFC di Siniscola*

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 totalmente da: Latteria Montello* (€ 15.000), *Delegazione FFC di San Giuseppe Vesuviano* (€ 13.000), *Con Cecilia amici della ricerca* (€ 12.000).

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 Dechecchi** (Dip. Patologia e Diagnostica, Lab. Patologia Molecolare, AOUI Verona)

Costo: € 50.000. *Adottato totalmente da: Emanuela Cricri e amici della ricerca* (€ 10.000), *Delegazione FFC di Villa d'Almè - Bergamo* (€ 15.000), *Gruppo di Sostegno FFC di Magenta* (€ 10.000), *Donazione privata* (€ 15.000)

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 totalmente da: Gruppo di Sostegno FFC di Saviano* (€ 40.000), *Gruppo di sostegno di Martinsicuro – Tera-mo* (€ 12.000), *Iacomini Anna* (€ 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 Scrivia 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)

FFC#1/2019**Scoprire nuovi bersagli intracellulari per il trattamento farmacologico di CFTR-F508del**

Responsabile: **Andrea Armirotti** (Istituto Italiano di Tecnologia, Chimica Analitica e Farmacologia in vivo - Genova)

Costo: € 55.000. *Adottato totalmente da: Gruppo di sostegno FFC di Nichelino* (€ 20.000), *Delegazione di Prato* (€ 8.000), *Delegazione di Rovigo* (€ 19.000), *Amici della Ritty* (€ 8.000)

FFC#2/2019**Correlare muco-microbiota-genotipo per definire nuovi modelli animali di fibrosi cistica**

Responsabile: **Alessandra Bragonzi** (Unità Infezioni e Fibrosi cistica, Divisione di Immunologia, Trapianti e Malattie Infettive, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano)

Costo: € 120.000. *Adottato parzialmente da: Delegazione FFC di Pavia* (€ 20.000), *Delegazione FFC di Bergamo Villa D'Almè* (€ 10.000), *Delegazione FFC di Bovolone* (€ 8.000).

Adottabile per € 82.000

FFC#3/2019**Sfruttare la tecnologia CRISPR/Cas9 per neutralizzare il difetto CFTR-F508del**

Responsabile: **Anna Cereseto** (Università di Trento, CIBIO-Laboratorio di Virologia Molecolare)

Costo: € 120.000. *Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Vercelli* (€ 30.000), *Delegazione FFC di Verona Val d'Alpone* (€ 60.000), *Associazione Trentina Fibrosi Cistica in ricordo di Marco Menegus* (€ 20.000), *Delegazione FFC di Olbia* (€ 10.000).

FFC#4/2019**Ripristino della proteostasi difettiva in fibrosi cistica: nuove strategie per il recupero di CFTR-F508del**

Responsabile: **Giorgio Cozza** (Università di Padova, Dip. di Medicina Molecolare, Sez. Chimica Biologica)

Costo: € 95.000. *Adottato totalmente da: Lega Italiana Fibrosi Cistica Onlus* (€ 10.000), *Delegazione FFC di Lucca* (€ 20.000), *Delegazione FFC di Manciano Grosseto* (€ 12.000), *Delegazione di Cecina* (€ 35.000), *Delegazione di Taranto Massafra* (€ 18.000)

FFC#5/2019**Utilizzo di piccole molecole che modulano lo splicing di CFTR come nuovi farmaci amplificatori**

Responsabile: **Stefano Duga** (Università Humanitas, Genetica Medica e Biologia dell'RNA, Rozzano, Milano)

Costo: € 60.000. *Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Acqui Terme in memoria di Maurizio Zunino ed Emilia Mela* (€ 25.000), *Delegazione FFC di Boschi Sant'Anna Minerbe* (€ 35.000)

FFC#6/2019**Identificazione di deubiquitinasi e ubiquitina-ligasi che influenzano la correzione della proteina CFTR mutata**

Responsabile: **Luis Galietta** (Istituto Telethon di Genetica e Medicina – TIGEM, Pozzuoli, Napoli)

Costo: € 120.000. *Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Alba Cuneo*

FFC#7/2019**Il segnale transmembrana di regolazione della proteostasi e della infiammazione come bersaglio farmacologico per la correzione della proteina CFTR difettosa nella fibrosi cistica**

Responsabile: **Alberto Luini** (Istituto di Biochimica delle Proteine, Dip. Scienze Biomediche CNR, Napoli)

Costo: € 60.000. *Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Palermo*

FFC#8/2019**Peptidi antimicrobici da pelle di anfibio per il trattamento della patologia polmonare nella fibrosi cistica: caratterizzazione funzionale *in vitro* e *in vivo***

Responsabile: **Maria Luisa Mangoni** (Università La Sapienza Roma, Dip. di Scienze Biochimiche, Lab. di Peptidi Bioattivi)

Costo: € 105.000. *Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Imola e Romagna con Gruppo di sostegno FFC di Faenza*

FFC#9/2019

Mutazioni orfane presenti nei pazienti italiani con FC: caratterizzazione della risposta ai modulatori di CFTR e saggio della risposta agli inibitori di RNF5

Responsabile: Nicoletta Pedemonte (IRCCS Istituto Giannina Gaslini, UOC Genetica Medica, Genova)

Costo: € 120.000. *Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Genova con Gruppo di sostegno FFC di Savona Spotorno* (€ 70.000), *Delegazione FFC di Valle Scrivia Alessandria* (€ 16.000), *Delegazione FFC di Montescaglioso* (€ 8.000), *Delegazione FFC di Ascoli Piceno* (€ 26.000)

FFC#10/2019

Riposizionamento di farmaci, 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 (Dip. Medicina Molecolare e Traslazionale Sez. di Oncologia e Immunologia, Università di Brescia)

Costo: € 36.000. *Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Vittoria Ragusa e Siracusa con Delegazione FFC di Catania Masalucia*

FFC#11/2019

Ruolo di modifiche post-traduzionali nel recupero funzionale di CFTR-F508del

Responsabile: Mauro Salvi (Università di Padova, Dipartimento di Scienze Biomediche)

Costo: € 40.000. *Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Fabriano Ancona con il Gruppo di sostegno FFC di Umbertide Città di Castello Perugia*

FFC#12/2019

Approccio proteomico per l'identificazione di nuovi biomarkers leucocitari correlati al recupero di funzionalità del canale CFTR dopo trattamento ex vivo con il potenziatore VX-770

Responsabile: Monica Aversa (Università di Genova, Dipartimento di Medicina Sperimentale)

Costo: € 50.000. *Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Torino*

FFC#13/2019

Attivazione integrinica monocitaria come test di monitoraggio di farmaci per fibrosi cistica

Responsabile: Carlo Laudanna (Università di Verona, Dipartimento di Medicina, Sez. Patologia Generale)

Costo: € 60.000. *Adottato totalmente da: Delegazione FFC della Valpolicella*

FFC#14/2019

Studio dell'interazione tra epitelio e stroma in un modello 3D di FC su chip per la valutazione di nuove strategie terapeutiche

Responsabile: Paolo Netti (Istituto Italiano di Tecnologia, Centro di Ricerca Interdipartimentale sui Biomateriali, Università di Napoli)

Costo: € 120.000. *Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Napoli San Giuseppe Vesuviano* (€ 50.000), *Delegazione FFC di Alberobello* (€ 40.000), *Gruppo di sostegno FFC di Crotona "Vita in te ci credo"* (€ 20.000), *Delegazione FFC di Roma Monterotondo con Delegazione FFC di Roma Vaticano* (€ 10.000)

FFC#15/2019

Inibizione farmacologica della resistenza alla colistina nei patogeni Gram-negativi della fibrosi cistica

Responsabile: Fiorentina Ascenzioni (Dip. Biologia e Biotecnologie C. Darwin, Università La Sapienza, Roma)

Costo: € 65.000. *Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Trarate Gallarate*

FFC#16/2019

Lotta contro le forme persistenti di Pseudomonas aeruginosa nell'infezione polmonare FC: miglioramento delle tecniche diagnostiche e delle strategie terapeutiche

Responsabile: Francesca Biavasco (Dip. Scienze Ambientali e della Vita, Università Politecnica delle Marche, Ancona)

Costo: € 35.000. *Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Treviso Montebelluna*

FFC#17/2019

Studio preclinico in vitro e in vivo di un approccio immunoterapeutico basato su liposomi bioattivi per il controllo dell'infezione causata da Mycobacterium abscessus

Responsabile: Daniela Maria Cirillo (Fondazione Centro San Raffaele, Divisione di immunologia Unità patogeni batterici emergenti, Milano)

Costo: € 60.000. *Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Palermo*

FFC#18/2019

Studio della patogenicità e del ruolo clinico di Achromobacter xylosoxidans nell'infezione polmonare in fibrosi cistica

Responsabile: Maria M. Lleò (Dip. Diagnostica e Sanità Pubblica, Università di Verona)

Costo: € 80.000. *Adottato parzialmente da: Delegazione FFC di Novara* (€ 10.000), *Delegazione FFC di Messina* (€ 10.000), *Gruppo di sostegno FFC di Seregno* (€ 8.000).

Adottabile per € 52.000

FFC#19/2019

Il gallio come agente antibatterico in fibrosi cistica: studi su modelli animali per il trasferimento di nuove formulazioni inalabili in clinica

Responsabile: Paolo Visca (Dipartimento di Scienze, Unità Microbiologia, Università Roma Tre)

Costo: € 120.000. *Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Franciacorta*

FFC#20/2019

Studio di trattamenti antinfiammatori per la patologia polmonare FC in modelli murini di infezione delle vie aeree: approfondimenti sull'effetto antinfiammatorio del betasitosterolo e sull'attività antinfiammatoria/antinfettiva di L-miglustat

Responsabile: Maria Cristina Dehecchi (Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona, Laboratorio di Patologia Molecolare-Laboratorio Analisi)

Costo: € 65.000. *Adottato totalmente da: Gruppo di sostegno FFC di Melilli* (€ 10.000), *Delegazione FFC di Pesaro con Gruppo di sostegno FFC di Rivarolo Canavese e Gruppo di sostegno FFC di Parma Fidenza* (€ 45.000), *Gruppo di sostegno FFC di Tremestieri* (€ 10.000)

FFC#21/2019

Studio preclinico di una strategia terapeutica combinata basata su liposomi bioattivi e batteriofagi contro le infezioni causate da Mycobacterium abscessus

Responsabile: Maurizio Fraziano (Dip. Biologia, Università Tor Vergata, Roma)

Costo: € 120.000. *Adottato totalmente da: Delegazione FFC del Lago di Garda*

FFC#22/2019

Valutazione multitasking di analoghi della TMA come agenti antinfiammatori per il trattamento della fibrosi cistica

Responsabile: Ilaria Lampronti (Dip. Scienze della vita e biotecnologie, Sez. biochimica e biologia molecolare, Università di Ferrara)

Costo: € 60.000. *Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Bologna* (€ 45.000), *Delegazione FFC di Ferrara* (€ 15.000)

FFC#23/2019

Azione potenziale dei batteriofagi come immunomodulatori nella fibrosi cistica

Responsabile: Anna Silvia Pistocchi (Dip. Biotecnologie Mediche e Medicina Traslazionale, Università degli Studi di Milano)

Costo: € 18.000. *Adottato totalmente da: Associazioni Un Respiro in più Onlus con La mano tesa onlus*

FFC#24/2019

Alterazioni precoci della tolleranza al glucosio in fibrosi cistica: effetti dei modulatori di CFTR

Responsabile: **Alberto Battezzati** (Centro Internazionale per lo Studio della Composizione Corporea, DeFENS, Università di Milano)

Costo: € 120.000. *Adottato totalmente da: Gruppo di sostegno FFC di Milano Magenta* (€ 10.000), *Delegazione FFC di Reggello* (€ 25.000), *Delegazione FFC di Sondrio Valchiavenna* (€ 30.000), *Delegazione FFC di Roma Pomezia* (€ 20.000), *Delegazione FFC di Cerea* (€ 12.000), *Matilde e Paola per Elsa* (€ 10.000), *Delegazione FFC di Lecce* (€ 13.000)

FFC#25/2019

Il coinvolgimento attivo nel programma di cura del paziente con fibrosi cistica: uno studio trasversale con le diverse parti interessate

Responsabile: **Rosaria Casciaro** (IRCCS Istituto Giannina Gaslini, Centro Fibrosi Cistica, Genova)

Costo: € 36.000. *Adottato totalmente da: Gruppo di sostegno FFC di Genova "Mamme per la ricerca"*

FFC#26/2019

Standardizzazione di un protocollo di *imaging* con risonanza magnetica (MRI) per lo studio di ventilazione, infiammazione, perfusione e struttura al fine di migliorare il monitoraggio della patologia polmonare FC

Responsabile: **Giovanni Morana** (Ospedale Ca' Foncello, Dip. Radiologia Diagnostica e Interventistica, Treviso)

Costo: € 75.000. *Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Vittoria Ragusa e Siracusa con Delegazione FFC di Catania Mascalucia*

FFC#27/2019

Disfunzione del ventricolo destro in pazienti con fibrosi cistica sottoposti a trapianto di polmoni

Responsabile: **Vittorio Scaravilli** (Fondazione IRCCS Ca' Granda - Ospedale Maggiore Policlinico Milano, Dipartimento Anestesia, Rianimazione ed Emergenza)

Costo: € 85.000. *Adottato totalmente da: Delegazione FFC di Napoli San Giuseppe Vesuviano* (€ 20.000), *Delegazione FFC di Como Dongo* (€ 65.000)



**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 Riccardo Boatto
 Cesare Braggion Sandro Caffi
 Francesco Cobello Michele Gangemi
 Giuseppe Lauria Pinter Giuseppe Magazzù
 Gianni Mastella Laura Minicucci
 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 alla Comunicazione: Flaminia Malvezzi
Tel. 045 8127027 / flaminia.malvezzi@fibrosicisticaricerca.it
– Assistente all'Organizzazione: Federica Lavarini
Tel. 045 812 7037 / federica.lavarini@fibrosicisticaricerca.it

Comitato di Consulenza Scientifica

Presidente: Giorgio Berton
Consulenti: Paolo Bernardi
 Paola Bruni
 Roberto Buzzetti
 Carlo Castellani
 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: fibrosicisticaricerca.it
- 5 x mille dell'IRPEF: Cod. Fisc. 93100600233

Le donazioni effettuate a favore di Onlus comportano il diritto di usufruire di alcune agevolazioni fiscali, così come previsto dal nostro sistema tributario. Per approfondire: fibrosicisticaricerca.it/sostieni-la-fondazione nella sezione benefici fiscali.

fibrosicisticaricerca.it

Redazione:

Gianni Mastella, Graziella Borgo,
Flaminia Malvezzi, Federica Lavarini,
Tecla Zarantonello.

Grafica:

Ada Frapporti

Stampa:

Tipolitografia Artigiana snc
San Giovanni Lupatoto (VR)
Stampato il 14 novembre 2019



Certificazione IID 2008/10

FFC aderisce all'Istituto Italiano della Donazione che ne attesta l'uso trasparente ed efficace dei fondi raccolti, a tutela dei diritti del donatore.



**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
INDUSTRIA ARTIGIANATO
AGRICOLTURA VERONA