

Poster P.10.69

LYSOSOMAL STORAGE DISORDERS (LSD) - MODELING THE DISEASE COMPLEXITY TO REFINE GENE/CELL THERAPY TREATMENT STRATEGIES

Ricca A.^[1], Ornaghi F.^[1], Mangiameli E.^[1], Luciani M.^[1], Cascino F.^[1], Sala D.^[1], Tiradani L.^[1], Cecchele A.^[1], Morena F.^[2], Martino S.^[2], Gritti A.^[1]

^[1]1. San Raffaele Scientific Institute, San Raffaele Telethon Institute for Gene Therapy (SR-Tiget) ~ Milano ~ Italy,

^[2]University of Perugia ~ Perugia ~ Italy

Lysosomal storage disorders (LSD) are a heterogeneous group of inherited diseases with a collective frequency of ~1 in 7,000 births, resulting from the deficiency in one or more lysosomal proteins. Pathology results from the progressive accumulation of uncleaved substrates and secondary damage that affect the central nervous system (CNS; in >70% of LSD), peripheral nervous system (PNS) and periphery. Defects in the lysosomal enzymes arylsulfatase A (ARSA), β -galactocerebrosidase (GALC) and N-acetyl hexosaminidase (Hex) lead to MLD, GLD, and GM2 gangliosidosis, respectively. Our previous and current studies aim to study the mechanisms of disease pathogenesis and develop novel gene therapy (GT) approaches for these LSD that despite the shared multi-organ pathology display unique features, likely translating in different treatment requirements and/or different outcome of a given treatment. Based on promising pre-clinical and clinical data showing the therapeutic potential of GT in LSD (1–5), it is expected that combinatorial strategies addressing the complex LSD pathology and ensuring appropriate timing of intervention would become of increasing interest in the perspective of clinical translation (6). Our long-term goal is to enhance and complement the unique treatment modality provided by GT (i.e. the advantages of enzyme overexpression and widespread biodistribution) to develop innovative and safer therapeutic strategies that could address comprehensively the pathology of LSD that still lack effective curative options. To this end, a better understanding of the early pathogenic events and of the mechanisms of disease correction upon treatments (e.g. enzyme availability in affected tissues) is required. In this project, we extensively address these issues that have been only partially elucidated. We take advantage of relevant murine and human in vitro systems, including iPSC-derived 2D/3D cultures (7,8) and hematopoietic-derived cells coupled to -OMICS platforms (lipidomics, proteomics, genomics), lentiviral-mediated GT platforms, and relevant LSD animal models. Besides expanding our knowledge of GLD, MLD, and GM2-gangliosidosis pathogenesis, this work will provide insights into the biological process of lysosomal enzyme trafficking and secretion, key processes to ensure metabolic cross-correction of affected cells and tissues. Importantly, the proposed research project will exploit this knowledge to develop innovative GT approaches. We will report data obtained during the first three years of funding.

Malattie da accumulo lisosomiale – modellare la complessità della malattia per affinare strategie di terapia genica e cellulare

Le malattie da accumulo lisosomiale (LSD) sono un gruppo eterogeneo di condizioni genetiche con frequenza cumulativa di ~1 in 7,000 nascite, causate da deficit di uno o più enzimi lisosomiali e/o trasportatori. La patologia deriva da un progressivo accumulo di substrati non degradati e da danni secondari che colpiscono il sistema nervoso centrale e periferico, e altri organi. La mancanza di arilsulfatasi A (ARSA), beta-galattocerebrosidasi (GALC) e N-acetyl hexosaminidase (Hex) causa la leucodistrofia metacromatica (MLD), la leucodistrofia a cellule globoidi (GLD) e la GM2 gangliosidosi, rispettivamente. I nostri studi precedenti e quelli in corso hanno l'obiettivo di studiare i meccanismi di patologia e sviluppare nuove strategie di terapie genica per queste malattie che, pur avendo delle

caratteristiche comuni, presentano molti tratti distintivi che potrebbero richiedere differenti trattamenti e/o portare a differenti risultati a seguito dello stesso trattamento. Sulla base di promettenti risultati ottenuti in studi pre-clinici utilizzando piattaforme di terapia genica con vettori lentivirali (1–5), ci attendiamo che terapie combinate in grado di affrontare la complessità della patologia di queste malattie diventeranno di grande interesse per la futura traslazione clinica (6). Il nostro obiettivo a lungo termine è incrementare e complementare la peculiare modalità di trattamento rappresentata dalla terapia genica (es. espressione sovrafisiologica e distribuzione delle molecole terapeutiche) per sviluppare strategie terapeutiche innovative e sicure per le LSD severe che ancora non hanno un trattamento disponibile e/o efficace. A questo scopo, è necessario conoscere meglio i meccanismi patogenetici e i meccanismi alla base dell'effetto terapeutico di un determinato trattamento. In questo progetto affronteremo in modo dettagliato questi argomenti che a oggi sono stati solo parzialmente elucidati. A questo scopo, utilizzeremo modelli di malattia murini e umani, che includono colture 2D/3D derivate da cellule staminali pluripotenti umane paziente specifiche (7,8) e cellule di origine ematopoietica, accoppiati a piattaforme di terapia genica con vettori lentivirali e tecnologie di –OMICA (lipidomica, proteomica, genomica). Oltre ad accrescere la nostra conoscenza della patogenesi di GLD, MLD, e GM2-gangliosidosi, i risultati di questo lavoro consentiranno di approfondire la conoscenza di importanti processi biologici quali i meccanismi di traffico degli enzimi lisosomiali, che sono alla base della correzione metabolica dei tessuti affetti da LSD. Infine, questo progetto si propone di utilizzare queste conoscenze per sviluppare approcci innovativi di terapia genica. Descriveremo i dati ottenuti nel corso dei primi tre anni di finanziamento.

1. Lattanzi, A. et al. Therapeutic benefit of lentiviral-mediated neonatal intracerebral gene therapy in a mouse model of globoid cell leukodystrophy. *Hum. Mol. Genet.* 23, 3250–3268 (2014).
2. Meneghini, V. et al. Pervasive supply of therapeutic lysosomal enzymes in the CNS of normal and Krabbe-affected non-human primates by intracerebral lentiviral gene therapy. *EMBO Mol. Med.* 8, 489–510 (2016).
3. Lattanzi, A. et al. Widespread enzymatic correction of CNS tissues by a single intracerebral injection of therapeutic lentiviral vector in leukodystrophy mouse models. *Hum. Mol. Genet.* 19, 2208–2227 (2010).
4. Ricca, A. et al. Combined gene/cell therapies provide long-term and pervasive rescue of multiple pathological symptoms in a murine model of globoid cell leukodystrophy. *Hum. Mol. Genet.* pii: ddv08, 3372–3389 (2015).
5. Meneghini, V. et al. Generation of Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Bona Fide Neural Stem Cells for Ex Vivo Gene Therapy of Metachromatic Leukodystrophy. *Stem Cells Transl. Med.* 1–17 (2016). doi:10.5966/sctm.2015-0414
6. Ricca, A. & Gritti, A. Perspective on innovative therapies for globoid cell leukodystrophy. *Journal of Neuroscience Research* 94, 1304–1317 (2016).
7. Frati, G. et al. Human iPSC-based models highlight defective glial and neuronal differentiation from neural progenitor cells in metachromatic leukodystrophy. *Cell Death Dis.* (2018). doi:10.1038/s41419-018-0737-0
8. Mazzara, P. G. et al. Two factor-based reprogramming of rodent and human fibroblasts into Schwann cells. *Nat. Commun.* 8, (2017).

GLD, MLD, GM2 Gangliosidosi

Coordinator: Angela Gritti

Duration (N. Years): 5

Starting year: 2016

Telethon Project (nr):

TGT16D02

Disease Name:

GLD, MLD, GM2 Gangliosidosis

Keywords:

Gene therapy, neural stem cells, pluripotent stem cells