

Poster P.11.94

IN VIVO INDUCTION OF AG-SPECIFIC TOLERANCE BY HEPATOCYTE-TARGETED GENE TRANSFER.

Squeri G., Russo F., Curto R., Sala L., Cesana L., Naldini L., Annoni A.*, Gregori S.

San Raffaele Telethon Institute for Gene Therapy (SR-Tiget), IRCCS San Raffaele Scientific Institute ~ Milan ~ Italy

The LV.ET.142T platform has been effectively applied for gene replacement therapy in hemophilia B or for promoting/restoring Ag-specific tolerance in autoimmune diabetes (T1D), sustaining hepatocyte-targeted gene transfer as a novel way to promote tolerance. We demonstrated that a single administration of LV.ET.142T encoding for insulin B chain 9-23 (LV.InsB) in hepatocytes, arrests beta cells destruction in NOD mice at advanced pre-diabetic stage, by generating InsB-specific FoxP3+ T regulatory cells (Tregs) (1). Now we show that LV.InsB in combination with a suboptimal dose of anti-CD3 mAb (CT) reverts diabetes, prevents recurrence of autoimmunity, and maintains insulin independence in 50% of the mice, when provided after syngeneic or allogeneic pancreatic islet transplantation. CT schedule and dosage was optimized to induce the CT-driven tolerogenic program prior to islet transplantation. By CT optimization we obtained stable normoglycemia in 100% of NOD mice with residual endogenous beta cell mass, which is sustained by Tregs, expanded in pancreatic infiltrates and lymph-nodes. Overall, results indicate that optimized CT represents a curative treatment for T1D, when associated with allogeneic islet transplantation to restore activity of the endogenous beta cell mass.

The model of Mucopolysaccharidosis I (IDUA^{-/-}, MPS-1) is resistant to tolerance induction by LV.ET.142T, thus it represents a valuable model to test combined therapies to achieve stable gene correction. At the steady state we found an upregulation of several pro-inflammatory cytokines and chemokines in the sera of MPS-1 mice compared to wt age-matched control mice. Innate immune response triggered by LV favors the induction of the anti-transgene adaptive response. Thus, immunosuppressive drugs have been tested to abrogate pro-inflammatory signaling from innate-immunity cells in combination with the use of GP64-enveloped LV and co-expression of PDL-1, a T cell inhibitory co-stimulatory molecule. These strategies led to a significant reduction of T cell mediated IDUA-specific responses associated with increased T cell exhaustion in the liver.

La piattaforma LV.ET.142T è stata efficacemente applicata per la terapia genica dell'emofilia B o per promuovere/ripristinare la tolleranza antigene (Ag)-specifica nel diabete autoimmune (T1D), sostenendo il trasferimento genico mirato agli epatociti come una nuova strategia per indurre tolleranza immunologica.

Abbiamo dimostrato in precedenza che l'espressione LV mediata del frammento dell'insulina B 9-23 (LV.InsB) negli epatociti, arresta la distruzione delle cellule beta pancreatiche nei topi NOD allo stadio pre-diabetico avanzato, generando cellule T regolatorie InsB-specifiche (Tregs) (1). Abbiamo inoltre dimostrato che LV.InsB in combinazione con una dose sub-ottimale di anti-CD3 mAb (CT) cura il diabete, previene la ricomparsa di autoimmunità e mantiene l'indipendenza da insulina nel 50% dei topi, se fornito dopo trapianto di isole pancreatiche singeniche o allogeniche. Ora attraverso una ottimizzazione della CT, inducendo il programma tollerogenico prima di trapiantare le isole, abbiamo ottenuto il ritorno ad una stabile normoglicemia nel 100% dei topi NOD, che avessero un residuo di cellule beta endogene. Complessivamente, i risultati indicano che la CT ottimizzata rappresenta un trattamento curativo per T1D quando associato al trapianto di isole allogeniche per ripristinare l'attività delle cellule beta endogene.

Il modello di Mucopolisaccaridosi I (IDUA^{-/-}, MPS-1) è resistente alla induzione di tolleranza con LV.ET.142T, quindi rappresenta un modello prezioso per testare terapie da combinare per ottenere una correzione genica stabile con LV. La risposta immunitaria innata innescata da LV favorisce l'induzione della risposta adattativa contro il transgene. Pertanto, abbiamo testato composti immunosoppressivi per abrogare l'azione pro-infiammatoria dalle cellule dell'immunità innata in combinazione con l'uso di GP64-LV e la co-espressione di PDL-1 ottenendo una significativa riduzione della risposta immune verso le cellule esprimenti IDUA transgenica.

1. Akbarpour M, Goudy KS, Cantore A, Russo F, Sanvito F, Naldini L, Annoni A, Roncarolo MG. Insulin B chain 9-23 gene transfer to hepatocytes protects from type 1 diabetes by inducing Ag-specific FoxP3⁺ Tregs. *Sci Transl Med.* 2015 May 27;7(289):289ra81.

Diabete Tipo 1, Mucopolisaccaridosi tipo 1

Coordinator: Silvia Gregori

Partners: Cantore Alessio

Duration (N. Years): 5

Starting year: 2016

Telethon Project (nr):

TGT16G02

Disease Name:

Mucopolysaccharidosis I / Type 1 Diabetes

Keywords:

Liver-directed gene therapy, Ag-specific tolerance, Immune response to transgene