

Poster P.11.97

INTEGRATED APPROACHES TO GENE THERAPY OF WILSON DISEASE

Monti M., Padula A., Ferriero R., Piccolo P.*

Telethon Institute of Genetics and Medicine ~ Pozzuoli ~ Italy

Wilson disease (WD) is a recessive inherited disorder caused by alterations in copper metabolism due to mutations in ATP7B, a P-type copper transporting ATPase. In WD, copper accumulates systemically and primarily in the liver, causing organ degeneration until cirrhosis, neurological and psychiatric deficits, and renal dysfunction. Therapies for WD are based on removal of copper deposits by chelating agents and reduction of copper intestinal absorption by zinc salts. Therapy is effective in most but not all WD patients and non-responders usually require liver transplantation. Moreover, current treatments often fail to ameliorate the neuropsychiatric symptoms. In patients responding to therapy compliance to treatments is often an issue given the drug side effects and duration of the treatment. WD represents an attractive target for liver-directed gene therapy and human ATP7B gene transfer to Atp7b^{-/-} mouse liver have shown efficacy in correcting copper metabolism. Nevertheless, several hurdles remain toward the development of gene therapy for WD patients.

Full-length human ATP7B is too big to be accommodated in recombinant adeno-associated viral vectors (rAAVs), currently the vectors of choice for liver gene therapy. We are engineering human ATP7B by deleting domains that are not necessary for copper transport function, in order to generate optimized shorter human ATP7B that can fit in the rAAV genome and rescue the phenotype in Atp7b^{-/-} mouse model. To address human ATP7B size issue we are also using a novel dual vector approach which allows to split human ATP7B in two halves. Co-transduction of hepatocytes by both rAAV vectors bearing ATP7B halves will allow for full-length protein reconstitution.

WD often arises in children and adolescents and using episomal vectors like rAAVs for gene transfer in a growing liver may result in progressive dilution of the transgene and loss of therapeutic effect. We are exploring strategies to achieve safe targeted integration of the ATP7B sequences into a safe harbor locus and avoid transgene dilution, whilst allowing high levels of expression of the transgene in the liver.

In conclusion, we are developing novel approaches to overcome major hurdles toward effective liver-directed gene therapy for WD.

APPROCCI INTEGRATI DI TERAPIA GENICA PER LA MALATTIA DI WILSON

La malattia di Wilson è una patologia ereditaria del metabolismo del rame causata da mutazioni nel gene ATP7B, che ha la funzione di favorire l'eliminazione del rame in eccesso dall'organismo. Nei pazienti colpiti dalla malattia, il rame si accumula in diversi organi ed in particolare a livello del cervello e del fegato, danneggiandolo fino all'insufficienza epatica. La terapia corrente non è efficace in tutti i pazienti ed è spesso associata ad importanti effetti collaterali. La terapia genica potrebbe dunque rappresentare una valida alternativa all'attuale trattamento. I vettori adeno-associati (AAV) sono ad oggi considerati i vettori di scelta per il trattamento delle patologie ereditarie del fegato e sono stati impiegati con successo nel trattamento di altre patologie ereditarie. L'obiettivo di questo progetto è quello di sviluppare approcci di terapia genica diretta al fegato per la malattia di Wilson mediante vettori AAV in un modello murino della patologia.

Una delle maggiori difficoltà relative allo sviluppo della terapia genica per la malattia di Wilson riguarda le dimensioni del gene ATP7B, troppo grandi per consentirne l'inserimento in vettori AAV. Per

questo motivo stiamo testando varianti “corte” del gene ATP7B che, pur essendo prive di alcune parti, mantengano la funzione di trasporto del rame e possano essere inserite all’interno di vettori AAV. Una strategia alternativa consiste invece nel dividere ATP7B in due parti ed inserirle in due differenti vettori AAV: all’interno delle cellule bersaglio le due porzioni possono combinarsi tra loro e ricostituire la proteina intera e funzionale.

Un ulteriore approccio che stiamo sviluppando consiste nell’integrazione mirata di una copia del gene ATP7B nel genoma delle cellule epatiche, in una posizione tale da garantirne elevati livelli di espressione nel fegato. Essendo parte integrante del genoma, la copia corretta di ATP7B è stabilmente presente all’interno della cellula bersaglio e, in caso di duplicazione della cellula, viene ereditata dalle cellule figlie. Questo approccio presenta notevoli vantaggi per il trattamento di bambini ed adolescenti, nei quali il fegato è ancora in crescita, in quanto consentirebbe l’espressione a lungo termine del gene terapeutico.

Polishchuk et al., Dev Cell 2014

Murillo et al., J Hepatol 2016

Murillo et al., Hepatology 2019

Malattia di Wilson

Coordinator: Pasquale Piccolo

Duration (N. Years): 3

Starting year: 2019

Telethon Project (nr):

TIGEM

Disease Name:

Wilson Disease

Keywords:

Wilson disease, Gene therapy, ATP7B