

## Poster P.13.99

### **AUTOSOMAL DOMINANT OSTEOPETROSIS TYPE 2 (ADO2): CLOSE TO THE CURE. WHAT DO WE MISS?**

Maurizi A., Rucci N., Teti A.M.\*

*Università dell'Aquila ~ L'Aquila ~ Italy*

Autosomal Dominant Osteopetrosis type 2 (ADO2) is a bone disease with high morbidity, but generally with a normal life expectancy. Patients manifest fragile bones prone to multiple fractures. The cells principally implicated in the disease are the bone resorbing osteoclasts, which remove the old and damaged bone that will then be replaced by new and healthy bone matrix. The impaired osteoclast activity prevents the enlargement of the bone cavities that lodge important tissues, such as the bone marrow and the nerves, causing hematological failures and motor-sensorial impairments (1). Furthermore, ADO2 disrupts also the activity of other cell types, therefore it should currently be considered a systemic disease rather than a bone disease only (2). Unfortunately, ADO2 has no cure and patients are treated only palliatively to stabilise fractures, reduce pain and cure anemia and infections. The aim of this project is to advance an innovative siRNA therapy for ADO2 proven in our laboratory to be specific, effective and safe in ADO2 mice (2-4). This therapy targets the heterozygous mutant gene, CLCN7, silencing the diseased mRNA without affecting the normal mRNA, thus rescuing the normal phenotype because of CLCN7 haplosufficiency. The gap to be filled to progress towards the regulatory toxicity studies, mandatory to gain the authorization to perform Phase I/II clinical trials, is to develop a clinically testable delivery system. The project will focus on the Clcn7G213R siRNA (CLCN7G215R siRNA in humans), that we have already extensively tested in our ADO2 mouse model. Options consist in 1) chemical modifications of the siRNA, 2) complexation of the siRNA with polyethylenimine (PEI) derivative nanoparticles and 3) encapsulation of the siRNA in proteic or lipidic nanoparticles. All options are aimed at improving systemic delivery, siRNA stability, biodistribution, pharmacokinetics and cellular uptake. Options will be investigated in vitro and those with the best specificity, efficacy and cellular safety will be tested in vivo in ADO2 mice, performing phenotypic and toxicity studies. The selected final formulation(s) will be suitable for Good Manufacturing Practice (GMP) and will allow to progress towards the regulatory Good Laboratory Practice (GLP) toxicity studies to be performed beyond the duration of the project. The therapy is patented. Therefore, we are in the position to move it to the clinic through industrial partnership, which is the final long-term goal of our project. Should this process be successful, this would be the very first targeted therapy for a disease with high morbidity and no cure.

### **OSTEPETROSI AUTOSOMICA DOMINANTE DI TIPO 2 (ADO2): PROSSIMI ALLA CURA. COSA MANCA?**

L'ADO2 è una malattia delle ossa fortemente debilitante, caratterizzata da ossa molto dense e fragili, che possono fratturarsi numerose volte. Le cellule implicate nell'ADO2 sono gli osteoclasti ed hanno il compito di erodere l'osso da eliminare per essere sostituito da osso nuovo che consente la stabilità dello scheletro. La riduzione dell'attività osteoclastica non crea spazio sufficiente per lo sviluppo normale del midollo osseo e per l'ampliamento dei canali neuronali, inducendo alterazioni ematologiche e moto-sensoriali (1). L'ADO2 coinvolge anche altri tipi cellulari e dovrebbe essere considerata una malattia sistemica (2). Non esistono cure per l'ADO2 ed i pazienti ricevono solo trattamenti palliativi. Lo scopo di questo progetto è di far progredire una terapia dell'ADO2 basata su una molecola chiamata siRNA, da noi inventata (3), specifica, efficace e non tossica in topi affetti dalla

malattia (2-4). Essa colpisce il gene mutato nell'ADO2, chiamato CLCN7, distruggendo la molecola malata senza modificare quella sana, ripristinando quindi una condizione di normalità in seguito al fatto che nell'ADO2 solo una copia del gene è alterata, mentre l'altra è normale e sufficiente per svolgere le funzioni proprie della corrispondente proteina (1,4). Ciò che manca per progredire verso studi regolatori preclinici di tossicità, propedeutici all'autorizzazione per gli studi clinici di fase I/II, è lo sviluppo di formulazioni farmacologiche di grado clinico. Il progetto sarà incentrato su un siRNA per la mutazione Clcn7G213R (CLCN7G215R nell'uomo) che abbiamo già testato nel nostro modello murino di ADO2. Le nostre opzioni sono: 1) modificazioni chimiche del siRNA, 2) formulazione di complessi del siRNA con nanoparticelle di polietilenimina (PEI) e 3) inserimento del siRNA in nanoparticelle proteiche o lipidiche. Lo scopo è di migliorare l'invio del siRNA agli organi specifici e la sua stabilità, biodistribuzione, farmacocinetica ed internalizzazione nelle cellule. Le formulazioni saranno studiate in cellule in vitro e quelle migliori saranno testate in vivo nei topi ADO2, nei quali eseguiremo studi fenotipici e tossicologici. La formulazione finale selezionata al termine del progetto dovrà poi essere preparata secondo le regole della Good Manufacturing Practice (GMP) che consentiranno di progredire verso gli studi tossicologici regolatori che dovranno essere conformi alle regole della Good Laboratory Practice (GLP) ed eseguiti al termine del presente progetto. Questa terapia è stata brevettata, quindi abbiamo la possibilità di stabilire un partenariato industriale che consenta il suo sviluppo clinico, scopo finale a lungo-termine del nostro progetto. Se questo obiettivo dovesse essere raggiunto, quella da noi inventata sarebbe la prima vera terapia specifica per l'ADO2, una malattia con elevata morbosità ed attualmente senza alcuna cura.

1. Teti A, Econs MJ. Osteopetroses, emphasizing potential approaches to treatment. *Bone*. 2017 Sep;102:50-59. doi: 10.1016/j.bone.2017.02.002.
2. Capulli M, Maurizi A, Ventura L, Rucci N, Teti A. Effective Small Interfering RNA Therapy to Treat CLCN7-dependent Autosomal Dominant Osteopetrosis Type 2. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2015 Sep 1;4:e248. doi: 10.1038/mtna.2015.21.
3. Maurizi A, Capulli M, Patel R, Curle A, Rucci N, Teti A. RNA interference therapy for autosomal dominant osteopetrosis type 2. Towards the preclinical development. *Bone*. 2018 May;110:343-354. doi: 10.1016/j.bone.2018.02.031
4. Maurizi A, Capulli M, Curle A, Patel R, Ucci A, Alves Cortes J, Oxford H, Lamande SR, Bateman JF, Rucci N, Teti A. Extra-skeletal manifestations in mice affected by Clcn7-dependent Autosomal Dominant Osteopetrosis Type 2. Clinical and therapeutic implications. *Bone Res*. 2019 Jun 11;7:17 doi: 10.1038/s41413-019-0055-x

Osteopetrosi Autosomica Dominante di tipo 2

Coordinator: Anna Maria Teti

Duration (N. Years): 3

Starting year: 2019

**Telethon Project (nr):**

GGP19031

**Disease Name:**

Autosomal Dominant Osteopetrosis Type 2

**Keywords:**

Osteopetrosi Autosomica Dominante di tipo 2, Osteoclasti, siRNA