

Poster P.19.129

IDENTIFICATION AND THERAPEUTIC TARGETING OF NEW MOLECULAR PATHWAYS IN WILSON DISEASE

Catalano F.*, Polishchuk E., Petruzzelli R., Concilli M., Crispino R., De Cegli R., Carissimo A., Polishchuk R.

Telethon Institute of Genetics and Medicine ~ Pozzuoli ~ Italy

Wilson disease (WD) is an inherited copper (Cu) toxicosis caused by impairment in the biliary Cu excretion. WD arises from mutations in the ATP7B gene encoding liver-specific ATPase, which effluxes Cu across the cellular membrane at the expense of ATP hydrolysis. ATP7B senses and eliminates excess Cu into the bile using tightly regulated exocytic process (Polishchuk et al., 2014). Loss of ATP7B function leads to toxic accumulation of Cu in hepatocytes and to their consequent death culminating in liver failure. Although being effective in many cases, the existing WD treatments have been documented to cause serious side effects and exhibited limited efficiency in a large cohort of patients. Thus, supplementary and/or alternative therapeutic approaches are desirable and require identification of new pathways and drugs that reduce Cu toxicity in ATP7B-deficient hepatic cells.

To achieve this objective, we utilized combination of genomics, systems biology, bioinformatics and high throughput screening (HCS) approaches. Using these tools autophagy was identified as a novel pro-survival mechanism that helps ATP7B-deficient hepatocytes to handle copper build up through sequestration of damaged and, hence, potentially toxic cell components. Activation of autophagy significantly increased the ability of ATP7B-deficient cells to resist Cu, while suppression of autophagy promoted Cu toxicity in both cell and animal models of Wilson disease (Polishchuk et al., 2019). Bioinformatics search for autophagy-activating FDA-approved drugs revealed a safe compound, which allowed ATP7B-deficient cells and animals to tolerate Cu overload, indicating a potential candidate drug for WD cure.

In parallel, we screened FDA-approved drug and genome-wide shRNA libraries to detect small molecules and shRNAs reducing toxicities of Cu in ATP7B-deficient cells. As a result, a dozen of drugs and shRNAs corresponding to more than 100 genes were detected to increase tolerance of the cells to Cu. Thus, these screening revealed new molecular targets and FDA-approved compounds for further validation and development of novel therapeutic strategies to combat Wilson disease.

IDENTIFICAZIONE DI NUOVI MECCANISMI MOLECOLARI COME POTENZIALI TARGET TERAPEUTICI NELLA MALATTIA DI WILSON.

La malattia di Wilson (MW) è una tossicosi ereditaria di rame causata da difetto nell'escrezione biliare di rame. La MW nasce da mutazioni nel gene ATP7B che codifica l'ATPasi specifica del fegato, che trasporta rame attraverso la membrana cellulare utilizzando idrolisi ATP. ATP7B rileva ed elimina l'eccesso di rame nella bile utilizzando un processo esocitico strettamente regolato (Polishchuk et al., 2014). La perdita della funzione di ATP7B porta all'accumulo tossico di rame negli epatociti e alla loro conseguente morte che culmina nell'insufficienza epatica. Pur essendo efficace in molti casi, i trattamenti di MW esistenti causano gravi effetti collaterali e hanno esibito una limitata efficienza in una grande coorte di pazienti. Pertanto, gli approcci terapeutici supplementari e/o alternativi sono auspicabili e richiedono l'identificazione di nuove vie e farmaci che riducano la tossicità di rame nelle cellule epatiche carenti di ATP7B.

Per raggiungere questo obiettivo, abbiamo utilizzato una combinazione di genomica, bioinformatica e high content screening (HCS). Utilizzando questi strumenti l'autofagia è stato identificato come un nuovo meccanismo pro-sopravvivenza che aiuta gli epatociti carenti di ATP7B a gestire l'accumulo di rame attraverso il sequestro di componenti cellulari danneggiati e quindi potenzialmente tossici. L'attivazione dell'autofagia ha aumentato significativamente la capacità delle cellule carenti di ATP7B di resistere al rame, mentre la soppressione dell'autofagia ha promosso la tossicità del rame nei modelli cellulari e animali della malattia di Wilson (Polishchuk et al., 2019). La ricerca bioinformatica di farmaci approvati dalla FDA che attivano l'autofagia ha rivelato un composto, che ha permesso alle cellule e agli animali carenti di ATP7B di tollerare il sovraccarico di rame, indicando un potenziale farmaco candidato per la cura di MW.

Allo stesso tempo, abbiamo esaminato le librerie di shRNA (genome-wide) e di farmaci approvate dalla FDA per rilevare piccole molecole e shRNA che riducono la tossicità del rame nelle cellule carenti di ATP7B. Di conseguenza, una dozzina di farmaci e shRNA corrispondenti a più di 100 geni sono stati rilevati per aumentare la tolleranza delle cellule al rame. Pertanto, questi screening hanno rivelato nuovi target molecolari e composti approvati dalla FDA per un'ulteriore convalida e sviluppo di nuove strategie terapeutiche per combattere la malattia di Wilson.

Polishchuk EV, Concilli M, Iacobacci S, Chesi G, Pastore N, Piccolo P, Paladino S, Baldantoni D, Chan J, Chang CJ, Amoresano A, Pane F, Pucci P, Tarallo A, Parenti G, Brunetti-Pierri N, Settembre C, Ballabio A, Polishchuk RS. (2014) Wilson disease protein ATP7B utilizes lysosomal exocytosis to maintain copper homeostasis. *Dev Cell*. 29: 686-700.

Polishchuk EV, Merolla A, Lichtmanegger J, Romano A, Indrieri A, Ilyechova EY, Concilli M, Del Cegli R, Crispino R, Mariniello M, Petruzzelli R, Ranucci G, Iorio R, Pietrocola F, Einer C, Borchard S, Zibert A, Schmidt H, Di Schiavi E, Puchkova LV, Franco B, Kroemer G, Zischka H, Polishchuk RS. (2019) Activation of autophagy, observed in liver tissues from patients with Wilson disease and from Atp7b-deficient animals, protects hepatocytes from copper-induced apoptosis. *Gastroenterology*, 156: 1173-1189.

Malattia di Wilson

Coordinator: Roman Polishchuk

Duration (N. Years): 2

Starting year: 2017

Telethon Project (nr):

TIGEM

Disease Name:

Wilson Disease

Keywords:

Wilson disease, ATP7B, Copper homeostasis