



UNIVERSITÀ DI MILANO
“CENTRO DINO FERRARI”

PER LA DIAGNOSI E LA TERAPIA DELLE MALATTIE
NEUROMUSCOLARI E NEURODEGENERATIVE

FONDAZIONE I.R.C.C.S. CA' GRANDA
OSPEDALE MAGGIORE POLICLINICO
FONDAZIONE DI RICOVERO E CURA A CARATTERE



SCIENTIFICO DI NATURA PUBBLICA

Terapia genica per la CMT2A: i ricercatori del Centro Dino Ferrari impegnati nella ricerca grazie al supporto dell'associazione Progetto Mitofusina 2.

*Dr. Federica Rizzo, Dr. Monica Nizzardo, Prof. Stefania Corti, Prof. Giacomo P. Comi, Prof. Nereo Bresolin
Centro Dino Ferrari, Università degli Studi di Milano, Fondazione I.R.C.C.S. Ca' Granda Ospedale
Maggiore Policlinico.*

Il nostro progetto di ricerca ha come scopo finale quello di sviluppare un possibile approccio terapeutico per la CMT2A, una polineuropatia sensitivo-motoria, caratterizzata dalla morte dei neuroni motori e sensitivi. La patologia è dovuta a mutazioni nel gene *Mitofusina 2* (*MFN2*) che codifica per la proteina MFN2, localizzata nella membrana di un organello cellulare, il mitocondrio, che rappresenta la centrale energetica delle cellule e svolge delle funzioni biologiche essenziali. Ad oggi, purtroppo, non è ancora disponibile nessuna terapia risolutiva e pochissimi sono i gruppi di ricerca che si occupano di studiare questa malattia. La terapia genica rappresenta una promettente strategia in quanto finalizzata a correggere la causa genetica alla base della malattia stessa. Questo tipo di strategia sta dando risultati ottimali in trial clinici con vettori adeno-associati di tipo 9 (AAV9) per la forma comune di Atrofia Muscolare Spinale (SMA), associata a mutazioni del gene SMN (www.clinicaltrials.gov). La sperimentazione clinica è attualmente in corso anche presso il Policlinico di Milano ed è seguita dai nostri ricercatori. Sfruttando quindi le competenze che abbiamo acquisito in questo settore, ci proponiamo di utilizzare lo stesso tipo di approccio anche per la CMT2A. Tuttavia, nel caso di questa patologia, non solo la mancanza del gene “sano”, ma anche la presenza della proteina MFN2 “malata” sono la causa della patologia. Questo aspetto della malattia richiede quindi, in previsione di una terapia per i pazienti, di introdurre il gene “sano”,



UNIVERSITÀ DI MILANO
“CENTRO DINO FERRARI”

PER LA DIAGNOSI E LA TERAPIA DELLE MALATTIE
NEUROMUSCOLARI E NEURODEGENERATIVE

FONDAZIONE I.R.C.C.S. CA' GRANDA
OSPEDALE MAGGIORE POLICLINICO
FONDAZIONE DI RICOVERO E CURA A CARATTERE



SCIENTIFICO DI NATURA PUBBLICA

come si sta facendo per la SMA o per altre malattie dovute solo alla mancanza di una proteina, ma anche di spegnere il gene malato. Inoltre la proteina MFN2 proprio per il suo ruolo importante nella funzione dei mitocondri, deve essere presente “in opportune quantità”, né troppo scarsa né troppo elevata, altro aspetto che per altre proteine non è così essenziale proprio in relazione alla loro funzione.

Proprio per tutti questi motivi, lo sviluppo di una terapia genica per la CMT2A richiede degli sforzi aggiuntivi che si traducono in un maggior numero di esperimenti e quindi in tempi un po' più prolungati.

In base a tali premesse, la nostra strategia terapeutica per la CMT2A prevede di :

- 1) somministrare due vettori terapeutici, uno per spegnere il gene “malato” e uno per esprimere il gene “sano”, o in alternativa la produzione di un vettore unico, un po' più grande, in grado di svolgere entrambe le funzioni
- 2) riuscire ad avere dei livelli di MFN2 ottimali (né troppo scarsi né troppo elevati) in modo da poter evitare la comparsa di effetti avversi.

Attualmente abbiamo generato i costrutti necessari e abbiamo dimostrato il silenziamento del gene MFN2 “malato” e la corretta espressione della proteina MFN2 “sana”, utilizzando due vettori come descritto nel punto 1, sia nel modello cellulare che nel modello animale della malattia. In particolare, nel modello cellulare abbiamo osservato un marcato miglioramento del fenotipo patologico (Figura 1).



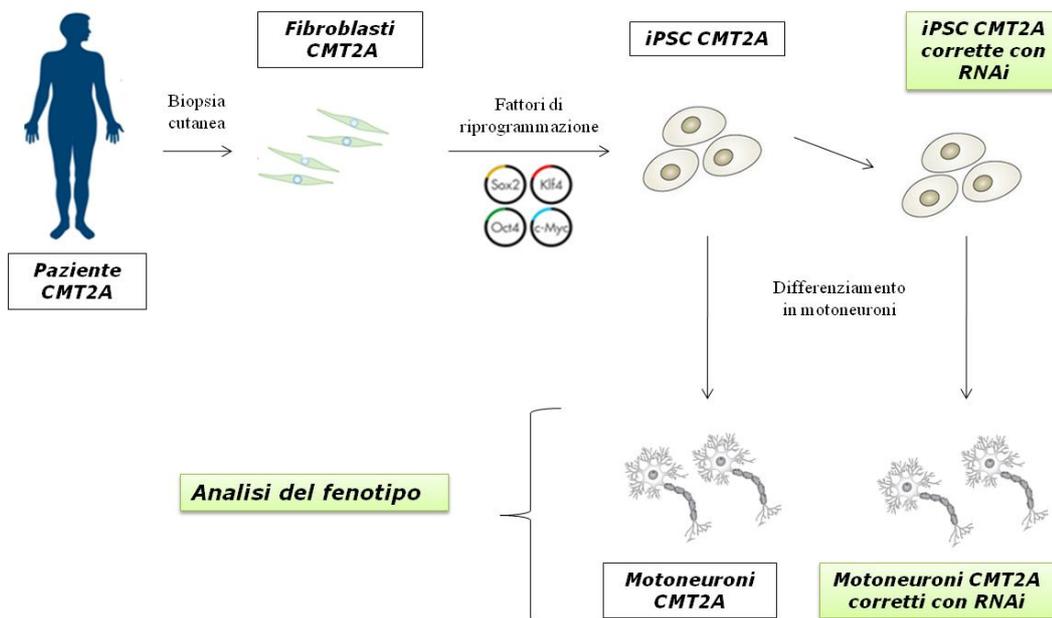
UNIVERSITÀ DI MILANO
"CENTRO DINO FERRARI"

PER LA DIAGNOSI E LA TERAPIA DELLE MALATTIE
NEUROMUSCOLARI E NEURODEGENERATIVE

FONDAZIONE I.R.C.C.S. CA' GRANDA
OSPEDALE MAGGIORE POLICLINICO
FONDAZIONE DI RICOVERO E CURA A CARATTERE



SCIENTIFICO DI NATURA PUBBLICA



DIRETTORE PROF. NEREO BRESOLIN

Via F. Sforza, 35 - 20122 Milano - Tel. 02.5503.3809 - Fax 02.503.20448

E-mail: nereo.bresolin@unimi.it - centro.dinoferrari@policlinico.mi.it - www.centrodinoferrari.com



UNIVERSITÀ DI MILANO
“CENTRO DINO FERRARI”

PER LA DIAGNOSI E LA TERAPIA DELLE MALATTIE
NEUROMUSCOLARI E NEURODEGENERATIVE

FONDAZIONE I.R.C.C.S. CA' GRANDA
OSPEDALE MAGGIORE POLICLINICO
FONDAZIONE DI RICOVERO E CURA A CARATTERE



SCIENTIFICO DI NATURA PUBBLICA

Figura1. Valutazione dell’impatto della strategia terapeutica nel modello cellulare di malattia.

Ci proponiamo di portare a termine questi esperimenti e di pubblicarli in una rivista scientifica indicizzata, contribuendo a porre le prime basi per un’effettiva terapia genica per i pazienti. L’approfondimento di questa strategia con ulteriori studi in modelli pre-clinici è necessario prima di poter proporre un trial clinico al FDA/EMA. A questo proposito lo sviluppo di modelli *in vivo* pre-clinici di malattia in grado di riprodurre in modo più fedele gli aspetti clinici e neuropatologici della CMT2A umana potrà sicuramente essere utile per la valutazione di efficacia della terapia genica.

I progressi finora compiuti nel progetto saranno presentati in una sessione del 71esimo Congresso dell’ American Academy of Neurology, la maggiore organizzazione professionale di neurologi del



UNIVERSITÀ DI MILANO
“CENTRO DINO FERRARI”

PER LA DIAGNOSI E LA TERAPIA DELLE MALATTIE
NEUROMUSCOLARI E NEURODEGENERATIVE

FONDAZIONE I.R.C.C.S. CA' GRANDA
OSPEDALE MAGGIORE POLICLINICO
FONDAZIONE DI RICOVERO E CURA A CARATTERE



SCIENTIFICO DI NATURA PUBBLICA

Nord-America, che si terrà dal 4 al 10 Maggio 2019 a Filadelfia. La presentazione dal titolo "RNAi/ gene therapy combined approach as therapeutic strategy for Charcot-Marie-Tooth 2A" (Rizzo F, Bono S, Salani S, Bordoni A, Melzi V, Ruepp M, Pagliarani S, Barbullushi K, Abati E, Cordiglieri C, Bresolin N, Comi G, Nizzardo M, Corti S) servirà a condividere i dati e a focalizzare l'attenzione di una vasta platea di ricercatori e clinici su questa malattia. L'impegno del nostro gruppo di ricerca nel richiamare l'interesse scientifico su questa malattia è dimostrato anche dalla recente pubblicazione in cui abbiamo condotto una revisione della letteratura in merito ai modelli in vitro e in vivo di CMT2A disponibili e ai possibili approcci terapeutici (Barbullushi K, Abati E, Federica Rizzo F, Bresolin N, Comi GP, Corti S. Disease modeling and therapeutic strategies in CMT2A: state of the art. in press *Molecular Neurobiology*).

Milano, 4 Marzo 2019