

Poster P.08.51

INTERACTION OF PRRT2 WITH SODIUM CHANNELS: PATHOGENETIC BASIS AND NEW TARGETS FOR THE CURE OF PRRT2-ASSOCIATED PAROXYSMAL DISORDERS

Romei A.^[1], Sterlini B.^[2], Michetti C.^[1], Fruscione F.^[3], Grasselli G.^[1], Valente P.^[2], Fassio A.^[2], Baldelli P.^[2], Maragliano L.^[1], Corradi A.*^[2], Benfenati F.^[2]

^[1]Istituto Italiano di Tecnologia ~ Genova ~ Italy, ^[2]DIMES, University of Genova ~ Genova ~ Italy, ^[3]DINOEMI, University of Genova ~ Genova ~ Italy

PRRT2 is the single causative gene for pleiotropic paroxysmal syndromes including infantile epilepsy, paroxysmal kinesigenic dyskinesia, ataxia and migraine. The goal of the project is to dissect the contribution of voltage-gated Na-channels (NaV) in PRRT2 pathologies and identify targeted therapies. The objectives are to investigate: (i) the impact of PRRT2-NaV interactions on neuronal excitability in mouse PRRT2KO neurons; (ii) the molecular bases of the specific NaV involvement in PRRT2-linked diseases; (iii) the in vivo contribution of NaV to the PRRT2KO phenotype; (iv) the pathogenic mechanisms underlying the strong cerebellar involvement and (v) the phenotypic rescue with specific NaV-blocking drugs in mouse and human PRRT2KO neurons. We have previously investigated the physiological role of PRRT2 and found that it acts as a neuron-specific network stability gene. The PRRT2KO mouse, which we were first to characterize, mimics the human pathology and displays central network hyperexcitability. In addition to increased synaptic facilitation, the major contribution to the increased excitability was due to an increased Na⁺ current density in PRRT2KO mice and iPSC-derived human neurons. We also demonstrated that PRRT2 specifically modulates trafficking and biophysics of NaV1.2/1.6. Together with the exquisite sensitivity of PRRT2 symptoms to NaV-blockers, this suggests that PRRT2 disorders can be considered largely channelopathies. The modulation of NaV1.2/1.6 currents by PRRT2 will be studied in cell lines, constitutive/conditional PRRT2 KO mice and human neurons using cellular, molecular, computational and advanced physiological approaches. The demonstration of a specific modulation of NaV by PRRT2 provides a mechanistic basis for the pathogenesis of PRRT2 paroxysmal disorders and allows identifying targeted and effective therapies.

Interazioni di PRRT2 con i canali sodio: basi patogenetiche e nuovi bersagli terapeutici per le malattie parossistiche associate a mutazioni nel gene PRRT2

Disturbi parossistici come epilessia infantile benigna (BFIE), discinesia chinesigenica (PKD), convulsioni infantili e coreoatetosi (ICCA) ed emicrania emiplegica (HM), sono associati a mutazioni nel gene che codifica per la proteina Prolina-Rich 2 (PRRT2), una proteina specifica dei neuroni completamente sconosciuta fino a pochi anni fa. Il PRRT2 rappresenta quindi un gene malattia che vale la pena indagare per chiarire la patogenesi delle diverse forme parossistiche, tracciare le relazioni tra genotipo-fenotipo e sviluppare nuove terapie mirate. Abbiamo dimostrato che la proteina è associata alle membrane neuronali dell'assone e dei terminali sinaptici e la sua carenza altera i processi di plasticità sinaptica a breve termine e aumenta l'eccitabilità neuronale provocando un aumento dei canali sodio voltaggio-dipendenti esposti sulla membrana. Il progetto si propone di analizzare le basi molecolari delle interazioni tra PRRT2 e canali sodio, il loro contributo alle manifestazioni parossistiche e l'efficacia di nuovi farmaci selettivi per sottotipi di canali sodio nella cura di queste forme patologiche. Il progetto avrà un impatto futuro sui pazienti perché: (i) la caratterizzazione dei meccanismi patogenetici delle malattie da PRRT2 aprirà un nuovo campo per ottimizzare il loro trattamento, impiegando specifici bloccanti dei canali con minori effetti collaterali; (ii)

lo studio del forte contributo cerebellare ai parossismi contribuirà a chiarire meglio la variabilità clinica delle malattie da PRRT2 e identificare terapie efficaci; (iii) lo studio del fenotipo nei neuroni dei pazienti consentirà migliori correlazioni genotipo-fenotipo ed efficaci trattamenti personalizzati.

1. Valente P, Romei A, Fadda M, Sterlini B, Lonardoni D, Forte N, Fruscione F, Castroflorio E, Michetti C, Giansante G, Valtorta F, Tsai JW, Zara F, Nieuws T, Corradi A, Fassio A, Baldelli P, Benfenati F (2019). Constitutive inactivation of the PRRT2 gene alters short-term synaptic plasticity and promotes network hyperexcitability in hippocampal neurons. *Cereb Cortex* 29: 2010-2033. doi: 10.1093/cercor/bhy079.
2. Fruscione F, Valente P, Sterlini B, Romei A, Baldassari S, Fadda M, Prestigio C, Giansante G, Sartorelli J, Rossi P, Rubio A, Gambardella A, Nieuws T, Broccoli V, Fassio A, Baldelli P, Corradi A, Zara F, Benfenati F (2018). PRRT2 controls neuronal excitability by negatively modulating Na⁺ channel 1.2/1.6 activity. *Brain* 141: 1000-1016. doi: 10.1093/brain/awy051.
3. Michetti C, Corradi A, Benfenati F (2017). PRRT2, a network stability gene. *Oncotarget* 8: 55770-55771. doi: 10.18632/oncotarget.19506.
4. Michetti C, Castroflorio E, Marchionni I, Forte N, Sterlini B, Binda F, Fruscione F, Baldelli P, Valtorta F, Zara F, Corradi A, Benfenati F (2017). The PRRT2 knockout mouse recapitulates the neurological diseases associated with PRRT2 mutations. *Neurobiol Dis* 99: 66-83. doi: 10.1016/j.nbd.2016.12.018.
5. Valtorta F, Benfenati F, Zara F, Meldolesi J (2016). PRRT2: from paroxysmal disorders to regulation of synaptic function. *Trends Neurosci* 39: 668-679. doi: 10.1016/j.tins.2016.08.005.
6. Valente P, Castroflorio E, Rossi P, Fadda M, Sterlini B, Cervigni RI, Prestigio C, Giovedì S, Onofri F, Mura E, Guarnieri FC, Marte A, Orlando M, Zara F, Fassio A, Valtorta F, Baldelli P, Corradi A, Benfenati F (2016). PRRT2 Is a key component of the Ca²⁺-dependent neurotransmitter release machinery. *Cell Rep* 15: 117-131. doi: 10.1016/j.celrep.2016.03.005.
7. Rossi P, Sterlini B, Castroflorio E, Marte A, Onofri F, Valtorta F, Maragliano L, Corradi A, Benfenati F (2016). A novel topology of proline-rich transmembrane protein 2 (PRRT2): hints for an intracellular function at the synapse. *J Biol Chem* 291: 6111-6123. doi: 10.1074/jbc.M115.683888.

Discinesia parossistica kinesigenica

Coordinator: Fabio Benfenati

Duration (N. Years): 3

Starting year: 2019

Telethon Project (nr):

GGP19120

Disease Name:

Paroxysmal Kinesigenic Dyskinesia

Keywords:

paroxysmal disorders, paroxysmal kinesigenic dyskinesia, sodium channels