

Poster P.09.59

EXPLOITING WHOLE-BRAIN STRATEGIES OF GENE THERAPY AND NOVEL THERAPEUTIC TARGETS IN RETT SYNDROME MOUSE MODELS

Luoni M.^[1], Giannelli S.^[1], Indrigo M.^[1], Massimino L.^[1], Gregori S.^[2], Broccoli V.*^[1]

^[1]Ospedale San Raffaele ~ Milano ~ Italy, ^[2]Telethon Institute for Gene Therapy (TIGET) ~ Milano ~ Italy

Rett syndrome (RTT) is an incurable neuroinfantile disorder caused by mutations in the gene encoding for methyl-CpG binding-protein 2 (MECP2). Gene therapy for this disease presents inherent hurdles since MECP2 is expressed throughout the brain and its duplication leads to severe neurological conditions as well. However, the recent introduction of PHP.eB, an engineered capsid with an unprecedented efficiency in crossing the blood-brain barrier upon intravenous injection, has provided an invaluable vehicle for gene transfer in the mouse nervous system. Herein, we use PHP.eB to deliver a novel instable *Mecp2* (*iMecp2*) transgene cassette which prevents supraphysiological MeCP2 protein levels in transduced neural tissues by increasing RNA destabilization and inefficient protein translation of the viral *Mecp2* transgene. Intravenous injections of the PHP.eB-*iMecp2* virus in symptomatic male and female *Mecp2* mutant mice resulted in complete protection from disease progression with improved locomotor activity, coordination, lifespan and normalization of altered gene expression and mTOR signaling. Remarkably, PHP.eB-*iMecp2* administration was safe in female *Mecp2* mutant and wild-type animals at all viral doses with only a marginally increase in MeCP2 protein levels throughout the brain. In contrast, we observed a strong immune response to the transgene in treated male *Mecp2* mutant mice that was overcome by immunosuppression. Overall, PHP.eB-mediated delivery of the *iMecp2* cassette provided widespread and efficient gene transfer maintaining physiological MeCP2 protein levels in the brain. This combination defines a novel viral system with strong therapeutic efficacy and increased safety holding important clinical implications for RTT.

NUOVE STRATEGIE DI TERAPIA GENICA E NUOVI OBIETTIVI TERAPEUTICI PER LA SINDROME DI RETT

La sindrome di Rett (RTT) è una malattia neuroinfantile incurabile causata da mutazioni nel gene che codifica per la proteina methyl-CpG binding-protein 2 (MECP2). La terapia genica per questa malattia presenta ostacoli intrinseci poiché MECP2 è espresso in tutto il cervello e la sua duplicazione porta anche a gravi condizioni neurologiche. Tuttavia, la recente introduzione di PHP.eB, un capsido virale ingegnerizzato con un'efficienza senza precedenti nell'attraversare la barriera emato-encefalica dopo iniezione endovenosa, ha fornito un veicolo prezioso per il trasferimento genico nel sistema nervoso del topo. In questo studio abbiamo messo a punto una nuova cassetta instabile del transgene *Mecp2* (*iMecp2*) che previene i livelli sopraffisiologici della proteina MeCP2 nei tessuti neurali trasdotti aumentando la destabilizzazione dell'RNA e la traduzione inefficiente delle proteine del transgene *Mecp2* virale. Iniezioni endovenose del virus PHP.eB-*iMecp2* in topi sia maschi che femmine mutanti *Mecp2* sintomatici hanno portato a una protezione completa dalla progressione della malattia con una migliore attività locomotoria, coordinamento, durata della vita e normalizzazione dell'espressione genica alterata e segnalazione mTOR. Sorprendentemente, la somministrazione di PHP.eB-*iMecp2* si è dimostrata sicura in mutanti *Mecp2* femmina ed animali di controllo a tutte le dosi virali con un aumento solo marginale dei livelli di proteine MeCP2 in tutto il cervello. Al contrario, abbiamo osservato una forte risposta immunitaria al transgene nei topi mutanti *Mecp2* maschi trattati che è stata superata solo con un trattamento di immunosoppressione. Complessivamente, la cassetta *iMecp2* nel virus terapeutico PHP.eB ha fornito un trasferimento genico diffuso ed efficiente

mantenendo i livelli fisiologici della proteina MeCP2 nel cervello. Questa combinazione definisce un nuovo sistema virale con una forte efficacia terapeutica e una maggiore sicurezza con importanti implicazioni cliniche per la RTT.

1) MECP2 disorders: from the clinic to mice and back.

Lombardi LM, Baker SA, Zoghbi HY.

J Clin Invest. 2015 Aug 3;125(8):2914-23.

2) Rett syndrome: a complex disorder with simple roots.

Lyst MJ, Bird A.

Nat Rev Genet. 2015 May;16(5):261-75.

3) Rett Syndrome: Crossing the Threshold to Clinical Translation.

Katz DM, Bird A, Coenraads M, Gray SJ, Menon DU, Philpot BD, Tarquinio DC.

Trends Neurosci. 2016 Feb;39(2):100-113.

Sindrome di Rett

Coordinator: Vania Broccoli

Duration (N. Years): 3

Starting year: 2019

Telethon Project (nr):

GGP19038

Disease Name:

Rett Syndrome

Keywords:

Rett syndrome, Gene therapy, neurological dysfunctions