

Poster P.13.103

FIBROUS DYSPLASIA: A ROADMAP TO TREATMENT ENABLED BY DISCOVERY OF UNPREDICTED MECHANISMS IN FIRST-IN CLASS MOUSE MODELS.

Remoli C.^[1], Palmisano B.^[1], Labella R.^[1], Donsante S.^[1], Di Filippo A.^[1], Persichetti A.^[1], Coletta I.^[1], Spica E.^[1], Saggio I.^[2], Robey P.^[3], Corsi A.^[1], Riminucci M.*^[1]

^[1]Department of Molecular Medicine, Sapienza University of Rome ~ Rome ~ Italy, ^[2]Dept of Biology and Biotechnology "C Darwin" Sapienza University ~ Rome ~ Italy, ^[3]Skeletal Biology Section, NICDR, NIH ~ Bethesda ~ United States of America

Fibrous Dysplasia /McCune-Albright Syndrome (FD/MAS, OMIM#174800) is a genetic disorder caused by gain-of-function mutations of *Gsa* that affects bone and other organs. The bone disease is the most severe and least treatable aspect of FD/MAS. Affected bones deform, fracture and ache causing crippling and wheelchair confinement. Neurological symptoms and, rarely, death may also occur (1). In FD, normal bone and marrow are replaced by a fibrotic tissue including newly formed bone that is soft and fragile due to deficient mineralization (osteomalacia) and increased resorption (osteolysis). Using an FD mouse model that we generated in our previous Telethon projects, EF1a-GsaR201C mice (2), we first demonstrated that osteomalacia and osteolysis in the FD bone are caused, respectively, by ectopic production of Matrix-Gla-Protein (MGP) and excess secretion of Receptor Activator of Nuclear factor Kappa-B Ligand (RANKL). Then we showed that targeting RANKL in FD mice, by an anti-mouse RANKL antibody, reverted established skeletal lesions and prevented the development of new ones (3). These effects have never been observed with Bisphosphonates (BPs), anti-resorptive drugs currently used to treat FD that provide some clinical benefits but do not affect the pathology and the natural history of the disease. Pending further studies on the relapse of skeletal lesions after treatment discontinuation, our results show that RANKL inhibition may be a potential effective therapy for FD patients. To this regard, it must be noted that a humanized anti-RANKL antibody (denosumab) is already available and used for some skeletal diseases. Our results also show, for the first time, that osteoclasts and/or osteoclast precursors negatively modulate osteogenic activity within the FD tissue, thus indicating a new line of research that may lead to the identification of further therapeutic targets. Finally, we investigated the specific cellular sources of MGP and RANKL in the FD microenvironment by developing new GsaR201C transgenic mouse lines with tissue-targeted expression of the transgene. Since we previously demonstrated that transgenic mice expressing GsaR201C in osteoblasts do not reproduce FD (4), we targeted the expression of the mutation to osteoprogenitor cells (SM22-Cre;R26-LSL-GsaR201C mice) and to marrow adipocytes at late and early stages of differentiation (AdipoQ-Cre;R26-LSL-GsaR201C and AP2-Cre;R26-LSL-GsaR201C mice, respectively). SM22-Cre;R26-LSL-GsaR201C mice develop a skeletal phenotype essentially characterized by osteolysis, consistent with our hypothesis that perivascular osteoprogenitor cells contribute to RANKL production in FD. AdipoQ-Cre;R26-LSL-GsaR201C mice develop a complex skeletal phenotype but do not reproduce FD. In contrast, AP2-Cre;R26-LSL-GsaR201C mice develop a full-blown FD phenotype, thus demonstrating for the first time that the cellular origin of FD must be sought for in cell types of the bone/bone marrow that express AP2.

La Displasia Fibrosa/Sindrome di McCune-Albright (FD/SMA, OMIM#174800) è un disordine genetico causato da mutazioni attivanti di *Gsa* che colpisce le ossa e altri organi. La malattia scheletrica è l'aspetto più grave e meno trattabile della DF/SMA. Le ossa si deformano, si fratturano e dolgono causando grave invalidità. Sono possibili anche sintomi neurologici e raramente la morte (1). Nella DF osso e midollo sono sostituiti da un tessuto fibroso comprendente osso neoformato soffice e fragile in

quanto caratterizzato da ridotta mineralizzazione (osteomalacia) e aumentato riassorbimento (osteolisi). Utilizzando un modello murino DF generato nei nostri precedenti progetti Telethon, topi EF1a-GsaR201C (2), abbiamo prima dimostrato che l'osteomalacia e l'osteolisi nell'osso DF sono causate, rispettivamente, da produzione inappropriata di Matrix-Gla-Protein (MGP) e da eccessiva secrezione di Receptor Activator of Nuclear factor Kappa-B Ligand (RANKL). Quindi abbiamo dimostrato che la somministrazione di un anticorpo anti-RANKL murino ai topi DF, determinava la reversione delle lesioni scheletriche preesistenti e preveniva lo sviluppo di nuove lesioni (3). Questi effetti non sono mai stati osservati con i Bifosfonati (BP), farmaci anti-riassorbimento usati per trattare la DF che riducono il dolore ma non modificano la patologia e la storia naturale della malattia. In attesa di ulteriori studi sulla recidiva delle lesioni al termine del trattamento, i nostri risultati dimostrano che l'inibizione di RANKL può rappresentare una terapia potenzialmente efficace per la DF. A questo proposito, va notato che un anticorpo anti-RANKL umanizzato (denosumab) è già disponibile e utilizzato per alcune malattie scheletriche. I nostri risultati dimostrano anche, per la prima volta, che gli osteoclasti e/o i loro precursori modulano negativamente l'osteogenesi nelle lesioni DF, indicando così una nuova linea di ricerca che può portare all'identificazione di ulteriori target terapeutici. Infine, abbiamo studiato l'origine cellulare di MGP e RANKL nella DF sviluppando nuovi topi transgenici. Poiché in precedenza abbiamo dimostrato che topi che esprimono GsaR201C negli osteoblasti non riproducono la DF (4), abbiamo indotto l'espressione della mutazione nelle cellule osteoprogenitrici (topi SM22-Cre;R26-LSL-GsaR201C) e negli adipociti midollari in stadi tardivi o precoci del differenziamento (topi AdipoQ-Cre;R26-LSL-GsaR201C e AP2-Cre;R26-LSL-GsaR201C, rispettivamente). I topi SM22-Cre;R26-LSL-GsaR201C sviluppano osteolisi, coerentemente con la nostra ipotesi che le cellule osteoprogenitrici perivascolari contribuiscono alla produzione di RANKL nella DF. I topi AdipoQ-Cre;R26-LSL-GsaR201C sviluppano un fenotipo scheletrico diverso dalla DF. Al contrario, i topi AP2-Cre; R26-LSL-GsaR201C riproducono la DF, dimostrando così per la prima volta che l'origine cellulare della DF deve essere ricercata in cellule dell'osso/midollo osseo che esprimono AP2.

1. Corsi A, Cherman N, Donaldson DL, Robey PG, Collins MT, Riminucci M. Neonatal McCune-Albright Syndrome: a unique syndromic profile with an unfavorable outcome. *JBMR Plus*. 2019 Jan 15;3(8):e10134. doi: 10.1002/jbm4.10134.
2. Saggio I, Remoli C, Spica E, Cersosimo S, Sacchetti B, Robey P, Holmbeck K, Boyde A, Bianco P, Riminucci M. Constitutive expression of GsaR201C in mice produces a heritable, direct replica of human fibrous dysplasia bone pathology and demonstrates its natural history. *J Bone Miner Res* 2014, 29:2357-68.
3. Palmisano B, Spica E, Remoli C, Labella R, Di Filippo A, Donsante S, Bini F, Raimondo D, Marinozzi F, Boyde A, Robey P, Corsi A, Riminucci M. RANKL Inhibition in Fibrous Dysplasia of Bone: A Preclinical Study in a Mouse Model of the Human Disease. *J Bone Miner Res*. 2019 Jul 11. doi: 10.1002/jbmr.3828. [Epub ahead of print]
4. Remoli C, Michienzi S, Sacchetti B, Di Consiglio A, Cersosimo S, Spica E, Robey PG, Holmbeck K, Cumano A, Boyde A, Davis G, Saggio I, Riminucci M, Bianco P. Osteoblast-specific expression of the Fibrous Dysplasia (FD) causing mutation, GsaR201C produces a high bone mass phenotype but does not reproduce FD in the mouse. *J Bone Miner Res* 2015, 30:1030-43

Displasia Fibrosa

Coordinator: Mara Riminucci

Telethon Project (nr):

GGP15198

Disease Name:

Fibrous Dysplasia

Keywords:

animal models, preclinical studies, genotype/phenotype correlation