

Poster P.23.147

THERAPEUTIC STRATEGIES TO RESCUE SKIN EROSIONS IN AEC SYNDROME.

Sol S., Urciuoli G., Russo C., Antonini D., Missero C.*

CEINGE ~ Napoli ~ Italy

AEC syndrome is an autosomal dominant disorder characterized by severe and long-lasting skin erosions that develop postnatally and for which there is no effective treatment. The disorder is caused by mutations in the p63 gene encoding a master regulator of epidermal commitment and differentiation.

Using a recently developed conditional mouse model and patient-derived epidermal cells, we have shown that mutations in p63 cause reduced expression of bona fide p63 target genes, including hemidesmosome and desmosome components, leading to reduced cell-matrix and cell-cell adhesion. In addition, the intrinsic mechanical resistance of basal epidermal cells is weakened by reduced expression of basal keratins. Finally, epidermal hypoplasia and delayed wound healing is associated with reduced number of progenitor cells due to defective Fibroblast Growth Factor signaling.

AEC syndrome causative mutations fall in the poorly characterized C-terminal domain of the p63 α isoform. We discovered that AEC syndrome is a protein aggregation disorder as AEC-associated p63 mutations lead to thermodynamic protein destabilization, misfolding and accumulation of high molecular weight protein aggregates in the nucleus. Variants that abolish aggregation of the mutant p63 proteins are able to rescue p63's transcriptional function, thus opening a window of therapeutic opportunities. Screening of a chaperone library is ongoing to identify members of the chaperone family that may be able to specifically disaggregate and/or prevent aggregation of mutant p63. In addition we are also screening a library of small compounds already approved for clinical use for the ability of recovering p63 activity in a heterozygous setting.

A third strategy that we are pursuing is to restore p63 functions in AEC syndrome, by replacing the p63 α with the p63 β isoform by deleting/skipping a single exon. Our preliminary results indicate that such replacement leads to defective limb and palate development in the mouse, but surprisingly has no detrimental effects on mouse skin development or adult skin homeostasis, nor on human epidermal cell fate commitment, indicating that it may be a safe strategy for therapeutic intervention in postnatal skin.

La sindrome di Hay-Wells è una malattia autosomica dominante caratterizzata da erosioni cutanee gravi e di lunga durata che si sviluppano dopo la nascita e per le quali non esiste un trattamento efficace. Il disturbo è causato da mutazioni del gene p63 che codifica per un regolatore fondamentale della pelle.

Utilizzando un modello di topo condizionale recentemente sviluppato e cellule derivate da pazienti, abbiamo dimostrato che le mutazioni in p63 causano una ridotta espressione di alcuni geni bersaglio di p63 causando una riduzione dell'adesione cellulare e di cheratine, e quindi un indebolimento della struttura meccanica intrinseca della pelle.

Le mutazioni causali della sindrome di Hay-Wells ricadono nel dominio C-terminale scarsamente caratterizzato dell'isoforma della proteina p63 α . Abbiamo scoperto che la sindrome AEC è una patologia dovuta ad aggregazione proteica poiché le mutazioni p63 associate ad AEC portano alla destabilizzazione termodinamica di p63 e accumulo di aggregati proteici ad alto peso molecolare nel nucleo. Abbiamo scoperto che varianti della proteina che aboliscono l'aggregazione delle proteine mutanti del p63 sono in grado di ripristinare la funzione trascrizionale di p63, aprendo così una finestra

di opportunità terapeutiche.

È in corso lo screening di varie proteine che prevencono l'aggregazione o aiutano a disaggregare varie proteine cellulari per stabilire se sia possibile ripristinare le funzioni della proteina mutata o eliminarla in maniera specifica.

Una seconda strategia che stiamo perseguendo è quella di ripristinare le funzioni di p63 nella sindrome, sostituendo la p63 α con l'isoforma p63 β eliminando un singolo esone. I nostri risultati preliminari indicano che tale sostituzione porta allo sviluppo di arto e palato difettosi, ma sorprendentemente non ha effetti dannosi sullo sviluppo della pelle del topo o sull'omeostasi della pelle dell'adulto, né su cellule epidermiche umane, indicando che potrebbe essere una strategia sicura per l'intervento terapeutico in pelle postnatale.

Ferone, G., Thomason, H., Antonini, D., De Rosa, L., Hu, B., Gemei, M., Zhou, H., Ambrosio, R., Rice, D., Acampora, D., van Bokhoven, H., Del Vecchio, L., Koster, M., Tadini, G., Spencer-Dene, B., Dixon, M., Dixon, J., Missero, C. (2012). Mutant p63 causes defective expansion of ectodermal progenitor cells and impaired FGF signaling in AEC syndrome. *EMBO Mol. Med.*, 4 (3) 192-205.

Ferone, G. Mollo, M.R., Thomason, H.A., Antonini, D., Zhou, H., Ambrosio, R., De Rosa, L., Salvatore, D., Getsios, S., van Bokhoven, H., Dixon, J., Missero, C. (2012). p63 control of desmosome gene expression and adhesion is compromised in AEC syndrome. *Hum. Mol. Gen.*, 22(3):531-43.

Ferone G, Mollo MR, Missero C. Epidermal cell junctions and their regulation by p63 in health and disease. *Cell & Tissue Research*. Accepted for publication Dec 22 2014.

Antonini D, Sirico A, Aberdam E, Ambrosio R, Campanile C, Fagoonee S, Altruda F, Aberdam D, Brissette JL, Missero C. A composite enhancer regulates p63 gene expression in epidermal morphogenesis and in keratinocyte differentiation by multiple mechanisms. *Nucleic Acid Res*. 2015 Jan;43(2):862-74. doi: 10.1093/nar/gku1396.

Ferone G, Mollo MR, Missero C. Epidermal cell junctions and their regulation by p63 in health and disease. *Cell Tissue Res*. 2015 Jun;360(3):513-28. doi: 10.1007/s00441-014-2108-1.

Richardson R, Mitchell K, Hammond NL, Mollo MR, Kouwenhoven EN, Wyatt ND, Donaldson IJ, Zeef L, Burgis T, Blance R, van Heeringen SJ, Stunnenberg HG, Zhou H, Missero C, Romano RA, Sinha S, Dixon MJ, Dixon J. p63 exerts spatio-temporal control of palatal epithelial cell fate to prevent cleft palate. *PLoS Genet*. 2017 13(6):e1006828. doi: 10.1371/journal.pgen.1006828.

Russo C, Osterburg C, Sirico A, Antonini D, Ambrosio R, Würz JM, Rinnenthal J, Ferniani M, Kehloesser S, Schäfer B, Güntert P, Sinha S, Dötsch V, Missero C. Protein aggregation of the p63 transcription factor underlies severe skin fragility in AEC syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018 115(5):E906-E915. doi 10.1073/pnas.1713773115.

Mollo MR, Cirillo L, Russo C, Antonini D, Missero C. Functional and Mechanistic Insights into the Pathogenesis of P63-Associated Disorders. *J Investig Dermatol Symp Proc*. 2018 Dec;19(2):S98-S100. doi: 10.1016/j.jisp.2018.10.004.

Sindrome di Hay-Wells

Coordinator: Caterina Missero
Duration (N. Years): 3
Starting Year: 2017

Telethon Project (nr):

GGP16235

Disease Name:

AEC Syndrome or Hay-Wells Syndrome

Keywords:

Skin, exon skipping, protein aggregation