Titolo del progetto:
RUOLO DEI RECETTORI NUCLEARI NELL'ACCUMULO DI PRELAMINA A E PROGERINA

acronimo: PRE-RECEPTORS

Responsabile del progetto:
Giovanna Lattanzi,
Dirigente di Ricerca CNR Istituto di Genetica Molecolare CNR unità di Bologna 40136 Bologna

Durata del progetto: 36mesi
Progetto presentato il: 8 Settembre 2022

Abstract
La Progeria di Hutchinson-Gilford (HGPS) è causata da una mutazione del gene LMNA sul cromosoma 1 che porta all'accumulo di una prelamina A mutata farnesilata in modo permanente chiamata progerina. Altre sindromi progeroidi causate da mutazioni del gene LMNA o da mutazioni dell'enzima di processazione della prelamina A, ZMPSTE24, sono determinate da accumulo di prelamina A. Queste patologie sono la displasia mandibuloacrale (MADA e MADB) e la progeria atipica (APS). E' dunque chiaro che la prelamina A e la progerina hanno un ruolo determinante nell'insorgenza dei processi di invecchiamento accelerato. Tuttavia, il fatto che le cellule abbiano sviluppato un sistema di processazione della prelamina A apparentemente mirato alla sola produzione di lamina A matura e che la prelamina A non abbia un ruolo fisiologico, non sembra plausibile. Nel nostro Istituto (IGM-CNR), abbiamo dimostrato che la prelamina A si accumula nel nucleo in seguito a stress ossidativo e durante il differenziamento muscolare normale. Sembra quindi che esista un sistema di reclutamento nucleare della prelamina A in condizioni ben determinate. L'ipotesi su cui si basa il nostro progetto è che la prelamina A venga riconosciuta nel reticolo endoplasmatico o nell'apparato di Golgi da recettori specificamente attivati durante la risposta allo stress. Recentemente, abbiamo dimostrato che l'inibizione del recettore dell'interleuchina 6 (IL6Ra) mediante uno specifico anticorpo neutralizzante (tocilizumab) migliora il fenotipo di cellule che accumulano progerina e dell'intero organismo degli animali progerici. Inaspettatamente, abbiamo osservato che l'inibizione di IL6Ra mediante tocilizumab riduce anche i livelli di progerina nucleare. Queste osservazioni suggeriscono che il recettore dell'interleuchina 6 sia coinvolto nel reclutamento della progerina (e della prelamina A) sulla lamina nucleare. Nostri studi preliminari in immunofluorescenza hanno dimostrato un reclutamento dell'IL6Ra sull'involucro nucleare a seguito di stimoli di stress, meccanismo osservato sia in fibroblasti controllo che in cellule HGPS. Questo progetto ha lo scopo di chiarire il ruolo di IL6Ra nella patogenesi dell'HGPS e di valutare se l'inibizione di IL6Ra può in effetti avere una particolare efficacia nelle condizioni di stress. Il coinvolgimento di IL6Ra nell'accumulo di progerina sarà determinato in cellule HGPS analizzando l'interazione diretta tra progerina e IL6Ra mediante proximity ligation assay (PLA) in presenza e in assenza di stress ed in presenza o in assenza di tocilizumab. Gli stessi esperimenti saranno ripetuti in diverse linee di cellule HGPS e in cellule da altre laminopatie progeroidi. Valuteremo inoltre se i recettori di altre citochine infiammatorie quali interleuchina 1 alfa e beta, interagiscono con le varie forme di prelamina A, inclusa la progerina. Nel caso si ottengano risultati positivi, valuteremo l'efficacia dei diversi inibitori del recettore dell'interleuchina 1 in cellule HGPS, inibitori già sperimentati con successo nell'artrite reumatoide. Valuteremo inoltre il ruolo di un altro recettore, il mineralcorticoid receptor (MR), nel processo di reclutamento al nucleo della progerina. MR è stimolato dall'aldosterone e in seguito a stimolo è importato nel nucleo delle cellule bersaglio, tra cui cellule endoteliali dei vasi, cellule muscolari lisce e adipociti bianchi, tipi cellulari particolarmente coinvolti nella patogenesi della progeria di Hutchinson-Gilford.

Obiettivi

I principali obiettivi del progetto PRE-RECEPTORS sono:

1) Valutare se il recettore di IL6 è reclutato nel nucleo di cellule HGPS in seguito a diversi tipi di stimoli di stress (stress ossidativo, stress meccanico, stress da aumento di nutrienti, deprivazione di nutrienti, stress da aumento di glucosio).

2) Valutare se il recettore di IL6 interagisce con la progerina nel nucleo e/o nel reticolo endoplasmatico in condizioni di stress o in condizioni basali.

3) Valutare se la quantità di progerina reclutata nel nucleo si riduce in seguito a trattamento con tocilizumab (anticorpo che neutralizza IL6Ra)

4) Valutare se l'inibizione di MR con spironolattone in cellule HGPS è in grado di ridurre i livelli di interleuchina 6 e gli effetti patogenetici dell'interleuchina 6.

5) Identificare il meccanismo che collega l'aumento di MR all'espressione di progerina.

Costo complessivo del progetto: €_50.000_