TITOLO DEL PROGETTO:
IDENTIFICAZIONE DI NUOVE STRATEGIE TERAPEUTICHE BASATE SU FARMACI E ANTICORPI NEUTRALIZZANTI L'INTERLEUCHINA 6 IN MODELLI SPERIMENTALI DI HGPS

Acronimo: TREAT-HGPS

Progetto presentato il: 13/10/2017

Responsabile del progetto:
Giovanna Lattanzi
Primo ricercatore CNR
Istituto di Genetica Molecolare CNR unità di Bologna, Bologna

Durata del progetto: 36 mesi.

Abstract
La Progeria di Hutchinson-Gilford (HGPS) è una malattia genetica estremamente rara (prevalenza: 1 su 20 milioni) caratterizzata da difetti multiorgano, invecchiamento accelerato e morte per infarto del miocardio o ictus ad una età media di 14 anni. È causata dall'accumulo di una prelamina A mutata farnesilata in modo permanente chiamata progerina. Non esiste ancora una cura per l'HGPS e le sperimentazioni cliniche che avevano come obiettivo la riduzione della farnesilazione della progerina hanno mostrato un incremento medio di sopravvivenza di soli 1,6 anni nei pazienti trattati. È quindi di primaria importanza sviluppare nuove strategie per trattare o curare l'HGPS.

Obiettivi specifici
1) Valutare se le combinazioni di farmaci già disponibili che hanno come bersaglio la progerina (rapamicina, acido trans-retinoico, sulforafano) o gli effetti indotti dalla progerina (anticorpi anti-IL6R) possono migliorare in maniera sinergica i sintomi della malattia nei modelli cellulari e murini di HGPS.
2) Valutare se la soppressione della progerina a livello sistemico eseguita a diversi time-point della vita del topo progerico impedisce la progressione della malattia, allo scopo ultimo di accertare il potenziale beneficio di approcci futuri mirati a ridurre l'espressione della progerina.

Descrizione del progetto
La Progeria di Hutchinson-Gilford (HGPS, OMIM 176670) è un disturbo genetico dominante e raro (prevalenza: 1 su 20 milioni) caratterizzato da invecchiamento accelerato accompagnato da riassorbimento osseo, alopecia, atrofia cutanea, perdita di grasso sottocutaneo e aterosclerosi severa. L'insorgenza dell'HGPS avviene tipicamente durante i primi 12-18 mesi di vita e i pazienti muoiono ad un'età media di 14,6 anni, principalmente per aterosclerosi, infarto del miocardio o ictus. Una grave disabilità è anche causata da difetti nel movimento articolare, osteoporosi e osteolisi, che compromettono la capacità di camminare e di compiere altre attività motorie. La maggior parte dei pazienti affetti da HGPS presenta in eterozigosi una mutazione puntiforme nel gene LMNA (c.1824C> T; p.G608G). Questa mutazione crea un sito criptico di splicing nell'esone 11 che porta alla produzione di una forma di prelamina A troncata chiamata progerina, che rimane permanentemente farnesilata. L'accumulo di progerina farnesilata causa diverse alterazioni cellulari quali dismorfismo nucleare, severa perdita di eterocromatina, alterata localizzazione o mancanza di proteine associate alla cromatina e di proteine responsabili della riparazione del danno al DNA,

disfunzione dei telomeri e dei mitocondri, che porta all'arresto del ciclo cellulare, all' attivazione del processo di senescenza ed infine alla morte cellulare.
Studi preclinici hanno permesso di identificare i meccanismi alla base dell'HGPS e di valutare l'efficacia di diverse strategie terapeutiche. Dopo aver dimostrato che gli inibitori della farnesiltrasferasi (FTI) portano ad un miglioramento del fenotipo progeroide nelle cellule e nei modelli murini di HGPS, i trials clinici su HGPS hanno dimostrato l'efficacia dell'FTI lonafarnib, usato solo oppure in combinazione con pravastatina e zolenodrate, nell'inibire la farnesilazione della progerina. Tuttavia, il beneficio clinico raggiunto fino ad ora è molto modesto, con un aumento della vita media di soli 1,6 anni nei pazienti trattati. Ulteriori ricerche sono necessarie per migliorare le terapie contro l'HGPS e per trovare una cura a questa devastante malattia. Poiché la malattia è tipicamente diagnosticata quando i sintomi sono già presenti, è inoltre molto importante definire se i danni causati dalla progerina prima dell'inizio della terapia possono essere risolti sopprimendo l'espressione della progerina.
TRAT-HGPS valuterà strategie terapeutiche basate sull'impiego di farmaci sulla base del miglioramento del fenotipo progeroide e del prolungamento dell'aspettativa di vita in modelli di topi progerici, focalizzandosi in particolare su specifici problemi inerenti 1) l'aspetto della malattia più pericoloso per la vita, vale a dire la compromissione del sistema cardiovascolare e 2) l'effetto più disabilitante dovuto all'accumulo di progerina, vale a dire il deterioramento delle ossa che porta ad una compromissione della funzione motoria.
In particolare, sulla base dei dati pubblicati e della valutazione dei nostri risultati preliminari, testeremo le combinazioni di farmaci già conosciuti per avere un effetto sulle principali vie di segnale coinvolte in HGPS, tra cui la rapamicina, l'acido trans-retinoico (ATRA), il sulforafano (SFN) e gli anticorpi che bloccano il recettore dell'interleuchina 6 (IL6R).
La rapamicina aumenta la degradazione della progerina e della prelamina A nelle cellule HGPS attraverso l'attivazione dell'autofagia, e in sinergia con l'ATRA, ripristina la maggior parte dei parametri cellulari alterati nelle cellule progeriche.
Utilizzando il modello di topo progerico Lmna $^{G609G/+}$ in studi preliminari, abbiamo dimostrato che il trattamento combinato ATRA-rapamicina determina un aumento del peso corporeo ed un prolungamento nella durata della vita. Inoltre, abbiamo riscontrato livelli elevati di IL6 nelle cellule HGPS ed una reversione dei difetti ossei e una migliorata funzionalità motoria in topi omozigoti Lmna $^{G609G/\ G609G}$ trattati con anticorpi diretti contro il recettore dell'IL6 atti a neutralizzare la via di segnale dipendente dall'IL6 (Storci, in preparazione).

Obiettivi
Gli obiettivi principali di TREAT-HGPS sono: a) servirsi dei modelli HGPS cellulari e murini già disponibili per sviluppare nuove strategie terapeutiche e b) generare conoscenze essenziali sulla reversibilità del fenotipo di HGPS per le cure future che hanno come bersaglio l'espressione della progerina.
TASK 1: Testare nuove combinazioni di farmaci (ATRA±Rapamicina±SFN±anti-IL-6R) in diversi modelli cellulari e scegliere le combinazioni più efficaci basandosi su a) riduzione dei livelli di progerina, b) capacità delle cellule di differenziare e proliferare, c) analisi della cromatina mediante microscopia elettronica, d) analisi dell'eterocromatina, dei marcatori epigenetici e delle proteine associate alla cromatina quali LAP2α e BAF.
Risultati attesi:
1) Identificazione delle nuove combinazioni sinergiche di farmaci per la terapia dell'HGPS;
2) identificazione dei geni/proteine bersaglio della nuova terapia come potenziali marcatori biologici di HGPS.

TASK 2.1: Valutare gli effetti delle combinazioni di farmaci selezionate su specifici aspetti clinici del topo progerico Lmna ^{G609G} ed in particolare gli effetti su: sistema cardiovascolare, displasia ossea, tessuto cutaneo e adiposo e funzionalità motoria.
TASK 2.2 Eseguire studi di longevità (curva di sopravvivenza Kaplan Meyer) su topi Lmna ^{G609G} trattati con la combinazione di farmaci selezionata.
Risultati attesi: Identificazione della combinazione di farmaci più efficace nel migliorare il fenotipo progerico e nel prolungare la durata della vita del topo progerico.

Costo totale previsto del progetto: € __50.000_