

Poster P.13.101

EMERGING ROLES OF ER-PHAGY IN MAINTAINING CELLULAR FITNESS AND FUNCTION IN CHONDROCYTES

De Leonibus C.*^[2], Cinque L.^[1], Barolomeo R.^[1], Forrester A.^[1], Settembre C.^[1]

^[1]Telethon Institute of Genetics and Medicine ~ Napoli ~ Italy, ^[2]~ Italy

The endoplasmic reticulum (ER) is the largest cellular organelle playing different functions, from calcium storage to protein biosynthesis. Protein misfolding eventually occurs in the ER and leads to ER dysfunction, representing a primary pathogenic mechanism in multiple human disorders. Mammals have developed quality control mechanisms at the ER. The best characterized is the ER-associated degradation (ERAD), through which misfolded proteins translocate from the ER to the cytosol being proteasomally degraded. However, novel lysosomal pathways are emerging for ER quality control. The lysosome is a main hub for cellular clearance for the degradation of cytosolic substrates including proteins and organelles. ER-phagy is a novel identified pathway targeting ER portions via autophagy for lysosomal degradation. It is a critical regulator of ER homeostasis, content and function through ER-phagy receptors, ER-resident proteins with the ability to bind autophagosomal LC3 protein via a cytosolic LC3 interacting domain. Among them, FAM134B protein has emerged as the first and better characterized.

Chondrocytes represent highly secretory cells with an abundant ER, producing predominantly procollagen (PC) in the extracellular matrix during endochondral ossification. They reside in a poorly vascularized tissue as the growth plate with scarcity of nutrients, representing a good cellular model to study ER-phagy. We and others have shown that the lack of autophagy leads to PC accumulation in the ER, ER dysfunction and impaired bone growth. Moreover, defects in lysosomal hydrolases cause lysosomal storage diseases (LSDs), in which bone growth retardation is one of the main clinical feature. In LSD chondrocytes, the block in autophagy flux is associated to a failure in collagen secretion, whereas the stimulation of autophagy in LSD mouse models restores collagen levels in cartilage and ameliorates the bone phenotype.

Further work in our lab has led different lines of evidence underlying the physiological importance of ER-phagy in cellular health. Firstly, FAM134B-mediated ER phagy serves as a selective clearing mechanism for misfolded PC that otherwise accumulates in the ER, together in complex with the ER chaperone Calnexin. Secondly, ER-phagy has emerged as a transcriptionally induced mechanism during starvation and differentiation in chondrocytes, with the induction of FAM134B by the MiT/TFE transcription factors and a concomitant inhibition of the PI3K-PKB/Akt/mTORC1 signalling pathway. Third, the lack of FAM134B and of the other FAM134 family members, along with silencing of PC, an ER-phagy cargo, determines important effects in the fine regulation of cellular signaling including mTORC1 kinase activity and cellular metabolism.

Taken together, these data unveil a role for autophagy and ER-phagy in maintain cellular fitness in chondrocytes and suggest potential therapeutic approaches for the treatment of skeletal features in multiple human diseases.

Ruoli Emergenti di ER-phagy nel mantenimento del benessere cellulare in condrociti

Il reticolo endoplasmatico (ER) e' il piu' grande organello nella cellula con diverse funzioni cellulari: dallo storage di calcio alla sintesi proteica. Durante la sintesi proteica, alcune proteine possono avere un alterato ripiegamento nell'ER, causando ER stress e una disfunzione dell'organello. I mammiferi

hanno sviluppato meccanismi di controllo al livello dell'ER. La 'ER-associated degradation' (ERAD) rappresenta il pathway meglio caratterizzato, in cui le proteine mal ripiegate traslocano dall'ER al citosol e vengono degradate dal proteasoma. Tuttavia, esistono nuovi meccanismi lisosomiali di controllo al livello dell'ER. Il lisosoma e' il principale organello di degradazione di substrati citosolici. La 'ER-phagy' e' un nuovo pathway identificato in cui porzioni dell'ER vengono trasportate ai lisosomi per degradazione attraverso l'autofagia. La ER-phagy regola la omeostasi dell'ER attraverso recettori selettivi, ossia proteine residenti all'ER contenenti un dominio LIR che ha la capacita' di legare LC3 a livello degli autofagosomi. Tra essi, FAM134B rappresenta il recettore meglio caratterizzato.

I condrociti sono cellule molto secernenti con abbondante ER, e producono prevalentemente procollagene (PC) nella matrice extracellulare durante l'ossificazione endocondrale. Risiedono nella cartilagine di accrescimento, un tessuto poco vascolarizzato e povero di nutrienti, rappresentando percio' un buon modello cellulare per studiare la ER-phagy. E' stato dimostrato in precedenza che la mancanza di autofagia comporta un accumulo di PC al livello dell'ER, disfunzione dell'ER e alterato accrescimento osseo (1). Inoltre, difetti di idrolasi lisosomiali causano malattie da accumulo lisosomiale (LSD), in cui il ritardo di accrescimento osseo e' uno dei segni clinici principali. Nei condrociti modelli di LSD, il blocco dell'autofagia si associa ad una alterata secrezione di collagene, mentre la stimolazione dell'autofagia in modelli murini di LSD migliora i livelli di collagene nella cartilagine ed il fenotipo scheletrico (2).

Lavori piu' recenti nel nostro laboratorio hanno portato nuove linee di evidenza che sottolineano l'importanza dell'ER-phagy nel mantenimento del benessere cellulare. Primo, la ER-phagy attraverso FAM134B e' coinvolta nella rimozione del PC mal ripiegato che altrimenti si accumula all'ER (3). Secondo, la ER-phagy e' un meccanismo indotto trascrizionalmente durante condizioni di stress cellulare e differenziamento. Terzo, l'assenza di FAM134B o il silenziamento del PC, un substrato di ER-phagy, determina effetti importanti nella regolazione del signaling (es. mTORC1) e metabolismo cellulari.

In conclusione, questi dati evidenziano il ruolo dell'autofagia ed ER-phagy nel mantenimento del benessere cellulare nei condrociti, suggerendo un potenziale approccio terapeutico per il trattamento dei disturbi scheletrici in molteplici malattie umane.

1. Cinque L, et al. Nature 2015; 528(7581):272-5.
2. Bartolomeo R, et al. JCI 2017; 127(10):3717-3729.
3. Forrester A, et al. EMBO J; 38(2). pii: e99847.

Condrodisplasie

Coordinator: Carmine Settembre

Telethon Project (nr):

TIGEM

Disease Name:

Chondrodysplasias

Keywords:

ER-phagy, Autophagy, Chondrocytes