

Poster P.24.150

THE ROLE OF TELOMERIC DILNCRNAS AND DDRNAS IN THE HUTCHINSON–GILFORD PROGERIA SYNDROME

Rossiello F.*^[1], Aguado J.^[1], Pessina F.^[1], Eriksson M.^[2], Tripodo C.^[3], Dreesen O.^[4], D'Adda Di Fagagna F.^[1]

^[1]I^{FOM} Foundation—FIRC Institute of Molecular Oncology Foundation ~ Milano ~ Italy, ^[2]Department of Biosciences and Nutrition, Center for Innovative Medicine, Karolinska Institutet ~ Huddinge ~ Sweden, ^[3]Tumor Immunology Unit, Department of Health Sciences, University of Palermo ~ Palermo ~ Italy, ^[4]Cell Ageing, Skin Research Institute Singapore ~ Singapore ~ Singapore

So far DNA damage response (DDR) pathways have been studied as a proteins-only network. Recently, the role of RNA has emerged as a novel key regulator of DDR pathways. We have shown that damage-induced long non-coding RNAs (dilncRNAs) are generated at sites of DNA double-strand breaks (DSBs) and are processed into shorter DNA damage response RNAs (DDRNAS) (Francia et al., Nature, 2012; Michelini et al., Nature Cell Biology, 2017). These RNAs, by interacting and retaining DDR protein factors at the lesion, are key to mount a full DDR and their inhibition by sequence-specific antisense oligonucleotides (ASOs) allows site-specific DDR inhibition.

Dysfunctional telomeres resemble DSBs and telomere deprotection upon TRF2 knockout or inhibition leads to telomeric dilncRNAs and DDRNAS transcription. Inhibition of such telomeric transcripts by telomeric ASOs (tASOs) prevents DDR activation at dysfunctional telomeres in cultured cells and in vivo in mice (Rossiello et al., Nature Communications, 2017).

Hutchinson–Gilford Progeria Syndrome (HGPS) is a rare genetic disease, characterized by premature aging features. It is caused by the expression of a mutant form of lamin A, called progerin, which leads to telomere dysfunction, DDR activation, and premature entry into cellular senescence.

Here we show that progerin-induced telomere dysfunction induces the transcription of telomeric dilncRNAs and DDRNAS. Their functional inhibition by tASOs prevents full DDR activation and premature cellular senescence in various HGPS cell systems, including HGPS patient fibroblasts, and in vivo tASOs treatment significantly enhances skin homeostasis and lifespan in a transgenic HGPS mouse model. In summary, our results demonstrate an important role for telomeric DDR activation in HGPS progeroid detrimental phenotypes in vitro and in vivo (Aguado et al., Nature Communications, in principle accepted).

The ability to specifically inhibit DDR activation at telomeres allows for the first time to determine the contribution of telomeric DDR in other physiological and pathological contexts, including accelerated ageing conditions. Finally, we have validated tASOs as a potent therapeutic agent for HGPS and potentially for any other disease caused by telomeric dysfunction.

Il ruolo dei dilncRNA e DDRNA telomerici nella sindrome di Hutchinson–Gilford

Sebbene la risposta al danno al DNA o DNA damage response (DDR) sia stata studiata finora solo nelle sue componenti proteiche, recentemente anche alcuni RNA non codificanti sono stati identificati come regolatori del DDR.

In particolare abbiamo identificato i long non-coding RNA (dilncRNA), che vengono trascritti al sito di danno al DNA e che vengono processati per generare degli RNA piu' corti, i DNA damage response RNA (DDRNA) (Francia et al., Nature, 2012; Michelini et al., Nature Cell Biology, 2017).

Questi RNA sono fondamentali per attivare il DDR completo e la loro inibizione da parte di oligonucleotidi antisenso (ASO) con una specifica sequenza consente l'inibizione del DDR al sito genomico con quella sequenza.

La disfunzione telomerica causata per esempio da deprotezione induce la trascrizione dei dilncRNA e DDRNA telomerici. L'inibizione di questa trascrizione mediante ASO telomerici (tASO) impedisce l'attivazione del DDR ai telomeri disfunzionali nelle cellule in coltura e in vivo nei topi (Rossiello et al., Nature Communications, 2017).

La sindrome di Hutchinson-Gilford o Hutchinson–Gilford Progeria Syndrome (HGPS) è una malattia genetica rara, caratterizzata da invecchiamento precoce. È causata dall'espressione di una forma mutante di lamina A, chiamata progerina, che porta alla disfunzione telomerica, all'attivazione del DDR e all'attivazione prematura della senescenza cellulare.

Abbiamo dimostrato che la disfunzione telomerica indotta dalla progerina induce la trascrizione di dilncRNA e DDRNA telomerici. La loro inibizione funzionale da parte dei tASO impedisce l'attivazione completa del DDR e la senescenza cellulare prematura in vari sistemi cellulari HGPS, inclusi fibroblasti da pazienti, e il trattamento con tASO in vivo migliora significativamente l'omeostasi cutanea e la durata della vita in un modello transgenico di topo HGPS. In sintesi, i nostri risultati dimostrano un ruolo importante dell'attivazione del DDR telomerico nei fenotipi progeroidi caratteristici della HGPS in vitro e in vivo (Aguado et al., Nature Communications, accettato).

La capacità di inibire specificamente l'attivazione del DDR ai telomeri consente per la prima volta di determinare il contributo del DDR telomerico in altri contesti fisiologici e patologici, comprese le condizioni di invecchiamento accelerato. Infine, abbiamo convalidato i tASO come un potente agente terapeutico per l'HGPS e potenzialmente per qualsiasi altra malattia causata da disfunzione telomerica.

Francia S, Michelini F, Saxena A, Tang D, de Hoon M, Anelli V, Mione M, Carninci P, d'Adda di Fagagna F. Site-specific DICER and DROSHA RNA products control the DNA-damage response. Nature, 2012

Michelini F, Pitchiaya S, Vitelli V, Sharma S, Gioia U, Pessina F, Cabrini M, Wang Y, Capozzo I, Iannelli F, Matti V, Francia S, Shivashankar GV, Walter NG, d'Adda di Fagagna F. Damage-induced lncRNAs control the DNA damage response through interaction with DDRNAs at individual double-strand breaks. Nature Cell Biology, 2017

Rossiello F, Aguado J, Sepe S, Iannelli F, Nguyen Q, Pitchiaya S, Carninci P, d'Adda di Fagagna F. DNA damage response inhibition at dysfunctional telomeres by modulation of telomeric DNA damage response RNAs. Nature Communications, 2017

Sindrome di Hutchinson–Gilford

Coordinator: Fabrizio d'Adda di Fagagna

Duration (N. Years): 3

Starting year: 2018

Telethon Project (nr):

GGP17111

Disease Name:

Hutchinson–Gilford Progeria Syndrome

Keywords:

Hutchinson–Gilford Progeria Syndrome, Telomeres, Antisense oligonucleotides