

1. Record Nr.	TD17049930
Autore	MARIOTTI, Barbara
Titolo	Non-coding RNAs in immunity and disease: a genome wide study [Tesi di dottorato]
Lingua di pubblicazione	Inglese
Formato	Tesi di dottorato
Livello bibliografico	Monografia
Note	diritti: info:eu-repo/semantics/closedAccess In relazione con info:eu-repo/semantics/altIdentifier/hdl/11562/939272
Sommario	<p>Nel corso degli ultimi decenni, sempre pi&#249; studi hanno dimostrato che la maggior parte del genoma d&#224; origine a molecole di RNA non codificanti per proteine, ma capaci di influenzare, a livello epigenetico, l&#8217;espressione genica (ncRNA). Le due principali tipologie di ncRNA, gli RNA lunghi non-codificanti (lncRNA) e i microRNA (miRNA), hanno un ruolo centrale nella regolazione di diversi processi fisiologici e patologici. Nonostante la funzione di lncRNA e miRNA sia oggetto di molteplici studi, molti dei meccanismi molecolari che governano la loro espressione e la loro funzione nella regolazione della risposta immunitaria rimangono ancora da chiarire. Sulla base di queste premesse, questo studio ha lo scopo di identificare e caratterizzare il ruolo dei ncRNA nella regolazione delle funzioni di cellule immunitarie in situazioni sia fisiologiche che patologiche. In particolare, lo studio si &#232; articolato in modo da perseguire tre obiettivi principali:(A) Identificazione e caratterizzazione del ruolo dei lncRNA in monociti e neutrofilo umani in risposta all&#8217;attivazione del TLR4;(B) Identificazione e caratterizzazione del ruolo dei lncRNA in monociti purificati da pazienti affetti da Sclerosi Sistemica (SSc);(C) Analisi dell&#8217;espressione di miRNA nella leucemia a Grandi Linfociti granulati (LGLL).(A) Questo studio ha</p>

dimostrato che l'attivazione di monociti e neutrofili da parte del lipopolisaccaride batterico (LPS) è in grado di indurre l'espressione dei lncRNA. In particolare abbiamo caratterizzato i lncRNA espressi in maniera cellulo-specifica. Un'analisi effettuata in silico ha inoltre evidenziato che i lncRNA identificati sono potenzialmente in grado di regolare diversi processi fisiologici di monociti e neutrofili, quali la produzione di citochine e chemochine, la morte cellulare, il rimodellamento della cromatina e la trasduzione del segnale. Infine, abbiamo caratterizzato la funzione di due lncRNA, LINC00085 e AC002480.3, dimostrando un loro ruolo nella regolazione dell'espressione del miR-99b e di IL-6. (B) La caratterizzazione dei lncRNA espressi in monociti è stato esteso alla SSc, una patologia in cui i monociti sono stati recentemente indicati come popolazione cellulare con un ruolo importante nella sua patogenesi. La SSc è una malattia autoimmune caratterizzata dallo sviluppo di un'ingravescente fibrosi cutanea e degli organi interni e da un'alterata risposta immunitaria caratterizzata anche da un aumento del numero di monociti. I risultati di questo studio hanno evidenziato che l'espressione dei lncRNA è alterata in tutti i sottotipi di SSc: non-cutaneous SSc (ncSSc), limited cutaneous (lcSSc) e diffuse cutaneous (dcSSc). Inoltre, abbiamo identificato tre gruppi di lncRNA, specificamente modulati in ciascuna classe di SSc, che possono essere utilizzati come marcatori biologici dello sviluppo e della progressione della malattia. Infine, mediante analisi in silico abbiamo dimostrato che i lncRNA sono coinvolti nella regolazione di alcuni processi biologici fondamentali per lo sviluppo della SSc, come la differenziazione dei monociti in miofibroblasti e la regolazione di geni interferone-dipendenti che caratterizzano la patologia. (C) Nel terzo studio abbiamo analizzato il ruolo dei miRNA nella patogenesi della T-LGLL, una malattia linfoproliferativa cronica caratterizzata da un aumento del numero di T-LGL. I risultati ottenuti dimostrano che i livelli di espressione dei miRNA in T-LGL sono alterati rispetto ai linfociti T citotossici normali. In particolare, questo studio ha evidenziato una forte correlazione tra l'espressione dei miRNA stessi, il fenotipo dei T-LGL e i livelli di attivazione di STAT3. In sintesi, in questo studio abbiamo descritto che l'espressione dei lncRNA è modulata in monociti e neutrofili umani attivati da LPS. Inoltre, abbiamo identificato, per la prima volta, che i livelli di espressione dei ncRNA sono alterati in cellule immunitarie coinvolte nella patogenesi della SSc e della T-LGLL. During past decades, genome-wide studies have revealed that mammalian genome is widely transcribed and this led to the identification and isolation of novel classes of non-coding RNAs (ncRNAs) that influence gene expression by epigenetic mechanisms. The regulatory ncRNAs can be classified into long non-coding RNAs (lncRNAs) and microRNAs (miRNAs) increasingly recognised to play a role in both physiological and pathological conditions. Despite the function of lncRNAs and miRNAs is the subject of intense studies, the molecular mechanism governing their expression and actions in immune cell function remains to be elucidated. Based on these premises, the purpose of this study is to provide a comprehensive identification and characterization of the role of ncRNAs in immune cell populations under both physiological and pathological conditions. In particular, the study is focused on three main goals: (A)

Identification and characterization of the role of lncRNAs in resting and activated human monocytes and neutrophils; (B)

Analysis of the expression of lncRNAs was extended to

monocytes of patients affected by Systemic Sclerosis (SSc). In fact, several observations suggest that monocytes are likely to play a pathogenetic role in SSc disease;(C) Identification and characterization of the role of miRNAs in Large Granular Lymphocyte Leukaemia (LGLL).(A) The results of this study show that TLR4 activation is able to modulate the expression of lncRNAs in both monocytes and neutrophils. Most importantly, a subset of lncRNAs selectively expressed and modulated by LPS in a cell specific manner was identified. In silico analysis of the putative function of differentially expressed lncRNAs was performed, and suggests that lncRNAs regulate innate immune cells functions such as cytokines and chemokines biosynthesis, cell death, chromatin remodelling and signal transduction. Finally, we started to characterize the function of LINC00085 and AC002480.3. Although further studies must be performed in order to fully understand the role of these lncRNAs, our results indicate that LINC00085 controls the expression of miR-99b, while AC002480.3 has a role in the regulation of IL-6 production.(B)

Monocytes have been recently indicated as crucial players in the pathogenesis of SSc. To identify the lncRNAs expressed and modulated in monocytes from SSc patients compared to healthy donors, RNA-seq analysis was performed. Our results show that all the progressive subset of SSc (ncSSc, lcSSc and dcSSc), are characterized by altered expression of lncRNAs in monocytes. Additionally, a detailed analysis of the expression levels of lncRNAs led to the identification of three groups of ncRNAs, specifically modulated in ncSSc rather than lcSSc, or dcSSc and that can be used as biomarker for SSc development and progression. Finally, by performing in silico analysis of lncRNA function we show that they are involved in the regulation of key biological processes for the development of SSc, such as the differentiation from monocyte into myofibroblast, and the establishment of the interferon signature that characterizes the SSc.(C) The role of miRNAs in the pathogenesis of LGLL, was examined. By using high-throughput analysis, we initially characterized the profile of miRNAs expressed in T-LGLs, revealing a previously undescribed differential expression of miRNAs in T-LGL from leukemic patients compared to normal cytotoxic T lymphocytes. Interestingly, we identify a strong correlation among the miRNAs expression profiles, the T-LGL phenotype and the activation levels of STAT3. In summary, we have described that the expression of lncRNAs is modulated in LPS-activated human monocytes and neutrophils. In addition, our results show, for the first time, that ncRNA expression levels are deregulated in immune cells involved in the pathogenesis of SSc (monocytes) and T-LGLL. The results we have found suggest that these ncRNAs could be considered new biomarkers for SSc and T-LGLL.

Localizzazioni e accesso

http://memoria.depositolegale.it/*/http://hdl.handle.net/11562/939272
