

Targeted deletion of Apoptosis Antagonizing Transcription Factor (AATF) in mice decelerates lung tumorigenesis and causes degenerative renal disease

Abstract

A cell's genomic integrity is continuously challenged by DNA damage. In response to genotoxic stress, eukaryotic cells activate DNA damage checkpoint pathways to protect their genome. Upon DNA damage cells can be either removed via apoptosis or survive and continue cell cycle progression after repairing the damaged DNA. AATF is a modulator of the DNA damage response (DDR) signaling and is known to regulate p53-driven apoptosis following DNA damage in cell culture models.

The main focus of this work was to understand the role of AATF in DDR signaling under physiological and pathological conditions. Initially, we show that genetic loss of *Aatf* promotes p53-mediated apoptosis in highly proliferating intestinal crypts whereas a differentiated organ such as the heart remains unaffected in an inducible whole body knockout mouse model. Next, we confirm this apoptosis-promoting effect in highly proliferating cancer tissue by targeted deletion of *Aatf* in *Kras*-driven lung adenocarcinomas. Our results clearly demonstrate that *Aatf* loss slows down tumor progression and significantly increases overall survival in mice. Furthermore, we found *Aatf* inactivation to be more effective in *Kras*-driven adenocarcinomas with p53-proficient background (standard risk) as compared to mice with p53-deficient background (high risk). This data establishes AATF as a promising drug target for cancer treatment for primarily p53-proficient malignancies. Finally, we assessed the role of AATF in homeostasis of distal nephron function and architecture. Here, specific deletion of *Aatf* in epithelial cells of distal nephrons in mice results in a degenerative cystic and fibrotic renal phenotype resembling human nephronophthisis (NPH). These mice develop both, DDR signaling and ciliary defects, which are known underlying causes of NPH. Our data further revealed that a pool of endogenously expressed AATF is localized to the primary cilium in renal epithelial cells. In addition, we demonstrate that AATF depletion results in accumulation of DNA damage, un-resolved R-loops and increased double strand breaks (DSBs). Mechanistically, we show that AATF recruits to the site of the DNA damage and is required for the recruitment of other DSB repair proteins such as BRCA1 and RAD50.

In conclusion, AATF is indispensable for highly proliferating cells and is essential for maintenance of the renal epithelial cells of distal nephrons.

Targeted deletion of Apoptosis Antagonizing Transcription Factor (AATF) in mice decelerates lung tumorigenesis and causes degenerative renal disease

Zusammenfassung

Die genomische Integrität jeder lebenden Zelle wird kontinuierlich durch DNA Schäden gefährdet. Eukaryote Zellen reagieren auf genotoxischen Stress mit der Aktivierung eines speziellen Kontrollmechanismus für DNA Schäden, um ihr Genom zu schützen. Schädigung der DNA führt über die Aktivierung von p53 entweder zum Untergang der Zelle(n) durch den regulierten Zelltod (Apoptose) oder, nach der erfolgreichen Reparatur der geschädigten DNA, zum Fortsetzen des Zellzyklus und damit zum Überleben der Zelle. AATF ist ein wichtiger Regulator dieser DNA Schadensantwort (*DNA damage repair* / DDR) und reguliert in Zellkulturmodellen p53-getriebene Apoptose nach DNA Schaden.

Der Fokus dieser Arbeit liegt auf dem Verständnis der Rolle von AATF im DDR Signalweg unter physiologischen und pathologischen Bedingungen *in vivo*. Zunächst können wir zeigen, dass der Verlust von AATF die p53-medierte Apoptose in den stark proliferierenden Krypten des Dünndarms fördert, während differenziertere, weniger proliferierende Organe wie etwa das Herz in dem gleichen induzierbaren Knockout Mausmodell zunächst unbeeinflusst bleiben. Diesen Apoptose fördernden Effekt können wir weiterhin in stark proliferierendem Krebsgewebe bestätigen, in dem wir *Aatf* in Kras-getriebenen Adenokarzinomen der Lunge inaktivieren. Unsere Ergebnisse zeigen deutlich, dass der Verlust von *Aatf* das Tumorstadium verlangsamt und dabei die Überlebensrate von Mäusen signifikant erhöht. Zusätzlich zeigt sich, dass der Verlust von *Aatf* in Mäusen mit einem p53 positiven genetischen Hintergrund (Standardrisiko) effizienter ist als bei Mäusen mit einem p53 negativen Hintergrund (hohes Risiko). Diese Befunde lassen AATF als ein aussichtsreiches Target für die Krebstherapie vor allem bei p53 positive Tumorerkrankungen erscheinen.

Abschließend haben wir die Rolle von AATF bei der Homöostase der distalen Nephronfunktion und –architektur untersucht. Hier führt der spezifische Verlust von AATF in Epithelzellen des distalen Nephrons in Mäusen zu einem degenerativen zystischen und fibrotischen renalen Phänotyp, welcher der humanen Nephronophthise (NPH), einer pädiatrischen zystischen Nierenerkrankung, ähnelt. Die Nieren zeigen Hinweise auf Alterationen im DDR Signalweg sowie auf Defekte an primären Zilien. Beides wurde bereits früher ursächlich mit der NPH in Verbindung gebracht. Dazu passend belegen unsere Daten, dass ein Teil des endogen exprimierten AATF in primären Zilien in renalen Epithelzellen lokalisiert ist. Weitere Untersuchungen ergaben, dass der Verlust von AATF zu einer Anhäufung von DNA Schäden, ungelösten R-Loops und vermehrten Doppelstrangbrüchen (DSBs) führt. Im Hinblick auf zu Grunde liegende Mechanismen zeigen erste Daten, dass AATF an die Stelle der DNA Schäden rekrutiert wird und zusätzlich für die Rekrutierung anderer DNA Reparaturproteine, wie etwa BRCA1 und RAD50, notwendig ist. Zusammenfassend ist AATF sowohl unentbehrlich für stark proliferierende Zellen als auch essentiell für die Architektur und Funktion renaler Epithelzellen des distalen Nephrons.