

ABSTRACT

Helicobacter pylori is one of the most important pathogenic bacteria associated with various gastric diseases, including cancer. This pathogen induces an acute mucosal inflammatory response and, if not eradicated, it could lead to chronic infection and eventually, in a subset of individuals, to gastric cancer. In response to the infection, the gastric mucosa releases several protective factors, including TFF1, which binds *Helicobacter* in the mucus layer and reduces inflammation caused by the infection. TFF1 is a gastro-specific tumor suppressor gene upregulated in the acute phase of the *Helicobacter* infection but silenced during the chronic infection. This Ph.D. thesis project aimed to evaluate the role of TFF1 in the context of infection.

First, TFF1 was assayed for its effects on *Helicobacter* at molecular and morphological levels. The results showed that *H. pylori* is more prone to aggregate in a TFF1-concentration-dependent manner and as consequence its motility through a physiological mucus layer is compromised.

Since *Helicobacter* chronic infection promotes TFF1 silencing impairing the mucosal protection and contributing to the development of malignant transformation, the second aim of this thesis was to investigate the molecular pathways involved in this silencing. Our hypothesis was that the cytokines secreted by activated immune cells during *H. pylori* chronic infection would cause the silencing of TFF1 in gastric cells. Based on our results, IFN γ plays the major role in the TFF1 downregulation. Moreover, examining the TFF1 promoter, this phenotype seems to occur via C/EBP β that works as a negative regulator during IFN γ stimulation. According to our evidence, IFN γ induces the expression of C/EBP β and favors its binding to the TFF1 promoter, repressing its transcription. In addition, the involvement of DNA methylation in this process was evaluated, suggesting that this epigenetic mechanism is also involved in IFN γ -dependent TFF1 silencing.

ASTRATTO

Helicobacter pylori è uno dei più importanti batteri patogeni associati a varie malattie gastriche, compreso il cancro. Questo patogeno induce una risposta infiammatoria acuta della mucosa e, se non debellato, potrebbe portare a un'infezione cronica e infine, in un sottogruppo di individui, al cancro gastrico. In risposta all'infezione, la mucosa gastrica rilascia diversi fattori protettivi, tra cui TFF1, che lega l'*Helicobacter* nello strato di muco e riduce l'infiammazione causata dall'infezione. TFF1 è un gene oncosoppressore gastro-specifico sovraregolato nella fase acuta dell'infezione da *Helicobacter* ma silenziato durante l'infezione cronica. Questo progetto di Dottorato è stato volto a valutare il ruolo di TFF1 nel contesto dell'infezione.

Innanzitutto, TFF1 è stato analizzato per i suoi effetti su *Helicobacter* a livello molecolare e morfologico. I risultati hanno mostrato che *H. pylori* è più incline ad aggregarsi in modo dipendente dalla concentrazione di TFF1 e di conseguenza la sua motilità attraverso lo strato di muco fisiologico è compromessa.

Poiché l'infezione cronica da *Helicobacter* promuove il silenziamento di TFF1 compromettendo la protezione della mucosa e contribuendo allo sviluppo della trasformazione maligna, il secondo obiettivo di questa tesi è stato quello di indagare le vie molecolari coinvolte in questo silenziamento. La nostra ipotesi era che le citochine secrete dalle cellule immunitarie attivate durante l'infezione cronica da *H. pylori* avrebbero causato il silenziamento di TFF1 nelle cellule gastriche. Sulla base dei nostri risultati, l'IFN γ svolge il ruolo principale nel silenziamento del gene TFF1. Inoltre, esaminando il promotore di TFF1, questo fenotipo sembra verificarsi tramite C/EBP β che funziona come regolatore negativo durante la stimolazione con l'IFN γ . Secondo la nostra evidenza, l'IFN γ induce l'espressione di C/EBP β e ne favorisce il legame al promotore di TFF1, reprimendone la trascrizione. Inoltre, è stato valutato il coinvolgimento della metilazione del DNA in questo processo, suggerendo che questo meccanismo epigenetico è coinvolto anche nel silenziamento TFF1 IFN γ -dipendente.