

Entwicklung von langen nicht-kodierenden RNA-basierten Strategien zur Modulation der Gewebevaskularisierung

J. Fiedler, T. Thum

Medizinische Hochschule Hannover, Institut für Molekulare und Translationale Therapiestrategien

▲ Zusammenfassung

In der Arbeit von Fiedler et al. (1) wurde in einem globalen RNA-Sequenzierungsansatz (RNA-Seq) die Expression von langen nicht-kodierenden RNAs (lncRNAs) nach Hypoxie in humanen Endothelzellen untersucht.

Hypoxie ist ein Induktor für Angiogenese, sodass aus den Expressionsdaten der lncRNAs wichtige pro- oder antiangiogene Charakteristika abgeleitet werden können. Endogene lncRNAs sind in einer Vielzahl (>30.000) vorhanden und deshalb in der Funktion nur wenig verstanden. Für einige lncRNAs ist eine nukleäre Funktionsweise (Chromatinmodifikation, Genregulation) beschrieben, für andere dagegen cytoplasmatische Funktionsweisen (Interaktion mit anderen RNAs, Proteinen). Bisher sind hypoxiesensitive endotheliale lncRNAs nicht global untersucht worden, sodass die vorliegende Arbeit eine wichtige Grundlage für zukünftige Studien mit dem Ziel der Verbesserung von Kapillarbildung (z.B. bei der Herzinsuffizienz) sein wird.

Der oben beschriebene pro-angiogene Modellansatz führte zu der Identifizierung von zwei bisher unbekannt lncRNAs, LINC00323-003 und MIR503HG, die nach Hypoxie stark heraufreguliert werden. Das Ausschalten der LINC00323-003 über spezifische antagonistische

Referat zu: **Development of Long Noncoding RNA-Based Strategies to Modulate Tissue Vascularization.** J Am Coll Cardiol 2015;66:2005-2015.

Sequenzen in vitro induzierte den Verlust endothelialer Proliferation und eine Verminderung der Kapillarbildung auf einer Matrix. Auf molekularer Ebene konnte gezeigt werden, dass der endotheliale Transkriptionsfaktor GATA2 nach Repression der

LINC00323-003 differenziell reguliert wird. Über sogenannte „pull-down“-Analysen wurde der Mechanismus der LINC00323-003 genauer entschlüsselt und beinhaltet die Interaktion mit eIF4A3, einem wichtigen cytoplasmatischen Translationsfaktor für GATA2 mRNA. Für die MIR503HG wurden ebenfalls detaillierte Funktionsstudien durchgeführt. Die endogene Inhibition der MIR503HG vermindert die endotheliale Proliferation und schwächt das Migrationsverhalten. Die lncRNA MIR503HG ist interessanterweise eine Vorläuferstruktur für eine microRNA (miR-503). Zudem wird die Expression einer weiteren benachbarten microRNA, miR-424, über MIR503HG reguliert. Dieser „cis-Effekt“ steuert somit eine weitere RNA-Spezies und ist im Vergleich zu der LINC00323-003 eine nukleäre Funktionsweise.

Endogene lncRNAs sind im Unterschied zu microRNAs schwächer konserviert, sodass die In-vitro-Befunde in einem Ex-vivo-Modell der Herzgewebeerzeugung überprüft wurden. Künstliches Herzgewebe (EHT) kann aus

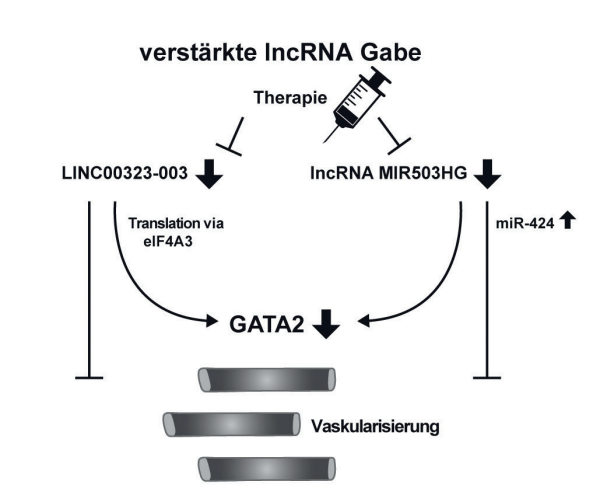


Abb. 1: Mögliche angiogene Therapieoptionen nach Modulation langer nicht-kodierender Ribonukleinsäuren (lncRNAs). Zusammenfassendes Schema der Funktion bestimmter vaskulärer lncRNAs. Die in dieser Arbeit identifizierten lncRNAs LINC00323-003 und MIR503HG sind von besonderer Bedeutung für die Erhaltung vaskulärer Strukturen. Endogener Verlust der beiden lncRNA führt zu erniedrigter Vaskularisierung, im Falle von LINC00323-003 über den endothelialen Transkriptionsfaktor GATA2, während MIR503HG benachbarte miRNA Gene, wie beispielsweise miR-424, reguliert. Mögliche Therapieoptionen sollten deshalb auf die verstärkte Expression der lncRNAs LINC00323-003 und MIR503HG zielen, hier angedeutet durch therapeutische Gabe mittels Injektion.

humanen Stammzellen (iPS) differenziert und mit Endothelzellen gemischt werden, um die Vaskularisierung zu untersuchen. Dieses EHT-Modell wurde genutzt, um Endothelzellen beizumischen, die mit einem synthetischen Inhibitor für LINC00323-003 oder MIR503HG behandelt wurden. Der Verlust von LINC00323-003 oder MIR503HG führte hierbei zu einer verminderten Vaskularisierung, sodass wir aus diesen Beobachtungen postulieren, dass die endogene Expression beider lncRNAs von großer Bedeutung für die Angiogenese ist.

Schlussfolgerung

Zusammenfassend konnten wir in dieser Arbeit zeigen, dass die bisher unbekanntes endotheliale lncRNAs LINC00323-003 und MIR503HG eine wichtige Funktion für die Endothelzellbiologie ausüben. Das Konzept der pro-angiogenen Funktion dieser lncRNAs kann weiterhin als Fundament für die Entwicklung RNA-basierter Therapien bei der Behandlung von defizitärer Kapillarisation während der Herzinsuffizienz genutzt werden. Zukünftige Analysen werden einen Schwerpunkt auf die Identifizierung von konservierten lncRNAs legen, um neue lncRNA-basierte Therapiekonzepte in verschiedenen Modellen der murinen Herzinsuffizienz zu überprüfen.

Literatur

1. Fiedler J, Breckwoldt K, Remmele CW, Hartmann D, Dittrich M, Pfanne A, Just A, Xiao K, Kunz M, Muller T, Hansen A, Geffers R, Dandekar T, Eschenhagen T, Thum T. Development of Long Noncoding RNA-Based Strategies to Modulate Tissue Vasculature. *J Am Coll Cardiol.* 2015;66:2005-2015.

Korrespondenzadresse

Prof. Dr. Dr. Thomas Thum
Dr. rer. nat. Jan Fiedler
Medizinische Hochschule
Hannover
Institut für Molekulare
und Translationale Therapie-
strategien (IMTTS),
IFB-Tx, OE 8886

Carl-Neuberg-Str. 1, 30625 Hannover
E-Mail: thum.thomas@mh-hannover.de
fiedler.jan@mh-hannover.de



T. Thum



J. Fiedler

FOTOS: © MHH/KAISER