

## IFB-Tx - Molekulare und Translationale Therapiestrategien

### ■ Leiter: Prof. Dr. Dr. Thomas Thum

Tel.: 0511/532-5272 • E-Mail: [thum.thomas@mh-hannover.de](mailto:thum.thomas@mh-hannover.de) • [www.mh-hannover.de/imtts.html](http://www.mh-hannover.de/imtts.html)

### Forschungsprofil

Das Inst. für Molekulare und Translationale Therapiestrategien (IMTTS) an der MHH entwickelt RNA-basierte Diagnostik- und Therapieverfahren. Unter anderem arbeitet das Inst. auch als eine Core Facility des Integrierten Forschungs- und Behandlungszentrums Transplantation (IFB-Tx). Der experimentelle Betrieb wurde im Januar 2010 aufgenommen. Die Mitarbeiteranzahl umfasst ca. 25 Postdocs, PhD- und StrucMed-Studenten, technische sowie Verwaltungs-Angestellte. Die Finanzierung erfolgt derzeit über den IFB-Tx, die MHH, sowie externe Drittmittelgeber, wie z.B. die Deutsche Forschungsgemeinschaft, die Europäische Kommission oder verschiedene Stiftungen. Die naturwissenschaftlichen und medizinischen Doktoranden sind in der Hannover Biomedical Research School und dem StrucMed-Programm der MHH integriert. Im Zentrum des wissenschaftlichen Interesses steht die Entwicklung neuer Therapiekonzepte in der Herz/ Kreislaufmedizin und Transplantationsforschung. Weltweit nehmen kardiovaskuläre Erkrankungen in den Todesursachenstatistiken den ersten Rang ein und neue therapeutische Strategien werden dringend benötigt. Wir fokussieren unsere derzeitigen Aktivitäten auf MicroRNAs, kleine RNA-Moleküle, sowie längere nicht-kodierende RNA-Moleküle (lncRNAs), die durch die Regulation zahlreicher Zielgene komplexe Gen-Netzwerke modulieren und dadurch wichtige Auswirkungen auf der Entwicklung und Funktion verschiedenster Organe haben.

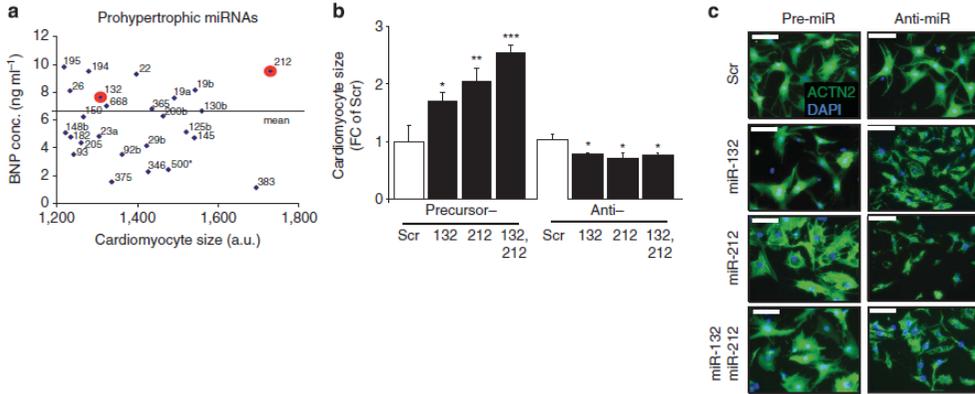
Bei unterschiedlichen kardiovaskulären Erkrankungen liegen MicroRNAs und andere RNA-Spezies auf einem veränderten Expressionsniveau vor und sind dadurch direkt an einer Reihe pathophysiologischer Vorgänge im kardiovaskulären System ursächlich beteiligt. Die Entwicklung von MicroRNA-Modulatoren, wie beispielsweise Antagomiren oder AntimiRs, erlaubt eine Modellierung und Normalisierung deregulierter Gen-Netzwerke und könnte damit zukünftig zu völlig neuen Strategien einer Mechanismus-basierter Therapie kardiovaskulärer Erkrankungen führen. Ein besonderes Interesse liegt hierbei in der Entwicklung MikroRNA-basierter Therapiestrategien zur Verhinderung von Fibrose bei Herzerkrankungen, aber auch bei verschiedenen Pathologien der Lunge oder Niere, sowie nach Organtransplantation. Zusätzlich werden therapeutische Strategien zur Zell- und Oligonukleotid-basierter Stimulation von Angiogenese ischämischer Regionen (z.B. nach Myokardinfarkt und Ischämie-Reperfusionsschaden der Niere) entwickelt. In Kooperation mit verschiedenen klinischen und präklinischen Abteilungen der MHH werden hier relevante molekulare Zielstrukturen identifiziert und in Zukunft im Rahmen des IFB-Tx klinische Studien zur Modulation von Fibrose und/oder Organ-Ischämie initiiert werden. Zusätzlich fokussiert sich die Abt. auf die Nutzbarmachung zirkulierender microRNAs als neue innovative Biomarker verschiedener Erkrankungen.

### Forschungsprojekte

#### **MicroRNAs regulieren kardiales Wachstum und Autophagie**

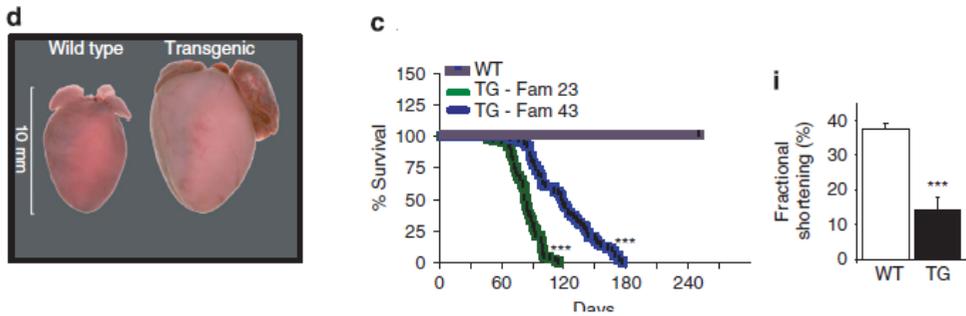
Kardialer Stress, wie zum Beispiel ein Herzinfarkt oder hoher Blutdruck, führt oft zu krankhaftem Herzwachstum: Um mehr Pumpleistung aufbringen zu können, vergrößern sich die Muskelzellen dieses Organs – ein Zustand, der unbehandelt oft zu Herzversagen führt. Unser Inst. konnte nun in Zusammenarbeit mit dem Göttinger Max-Planck-Institut für biophysikalische Chemie anhand von in vitro und Maus-Experimenten zeigen, dass bei diesem Prozess zwei kleine RNA-Moleküle eine Schlüsselrolle einnehmen: miRNA-212 und miR-132. Hierzu wurde zunächst ein vollautomatisiertes

Roboter-gesteuertes System zur Transfektion von miRNA-Bibliotheken am IMTTS aufgebaut. Die Überexpression dieser miRNA Bibliothek identifizierte die miRNAs miR-212 und miR-132, die zusammen eine miRNA Familie bilden, als sehr starke Induktoren für das Wachstum von Herzmuskelzellen (Abb. 1).



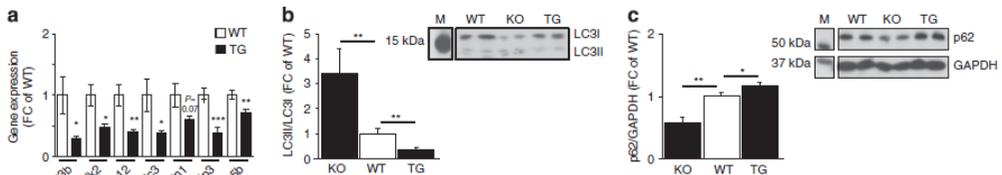
**Abb. 1:** Screening von microRNA Bibliotheken zur Identifikation prohypertropher microRNAs

Die Kardiomyozyten-spezifische Überexpression dieser miRNA-Familie führte auch in vivo zu einer kardialen Hypertrophie (Abb. 2d), und zu einer erhöhten Sterblichkeit der Mäuse (Abb. 2c) aufgrund der Entwicklung einer Herzinsuffizienz (Abb. 2i). Wurden miR-212/132 Knockout-Mäuse verwendet (Nature Genetics, 2010), waren die Mäuse vor der Entwicklung



**Abb. 2:** Entwicklung einer Kardiomyozyten-spezifischen miR-212/132 transgenen Maus und Entwicklung kardialer Hypertrophie

einer Herzhypertrophie geschützt. Mechanistisch konnte der anti-hypertroph wirkende Transkriptionsfaktor FOXO3a als Target dieser miRNA-Familie identifiziert werden. Da FOXO3a auch als Regulator der Autophagie beschrieben wurde, erfolgten hier weitere Analysen. In miR212/132 transgenen Tieren waren die Programme der Autophagie deutlich reduziert (Abb. 3).



**Abb. 3:** Inhibition kardialer Autophagie durch miR-212/132 Überexpression

Wir vermuten dass die Abschaltung der kardialen Autophagie wesentlich zu der Entwicklung der Herzinsuffizienz nach Druck-Überlastung des linken Ventrikels beiträgt. Neben einer genetischen Ausschaltung, entwickelten wir auch eine pharmakologische Inhibition eines dieser miRNAs. Unter pathologischen Bedingungen war auch dann nur ein sehr geringes krankhaftes Herzwachstum zu beobachten. Solche MicroRNA-Hemmstoffe könnten allein oder in Kombination mit herkömmlichen Behandlungen ein vielversprechender neuer Therapieansatz der Herzinsuffizienz sein. Die Ergebnisse dieser Studie wurden 2012 in der Fachzeitschrift Nature Communications veröffentlicht (Ucar A, Gupta SK, Fiedler J, Eriqi E, Kardasinski M, Batkai S, Dangwal S, Kumarswamy R, Bang C, Holzmann A, Remke J, Caprio M, Jentsch C, Engelhardt S, Geisendorf S, Glas C, Hofmann TG, Nessling M, Richter K, Schiffer M, Carrier L, Napp LC, Bauersachs J, Chowdhury K, Thum T. The miRNA-212/132 family regulates both cardiac hypertrophy and cardiomyocyte autophagy. Nature Commun. 2012;3:1078. doi: 10.1038/ncomms2090.).

■ Projektleitung: Thum, Thomas (Prof. Dr. Dr.); Kooperationspartner: Chowdhury, Kamal (Dr.), Max Planck Inst. Göttingen; Förderung: DFG

## Weitere Forschungsprojekte

### Einfluss von microRNAs auf endotheliale Vorläuferzellen

■ Projektleitung: Thum, Thomas (Prof. Dr. Dr.); Förderung: DFG

### MicroRNA-basierter Crosstalk zwischen Fibroblasten und Kardiomyozyten

■ Projektleitung: Thum, Thomas (Prof. Dr. Dr.); Förderung: DFG

### Osteopontin-regulierte MicroRNAs bei kardialer Fibrose

■ Projektleitung: Lorenzen, Johan (PD Dr.); Thum, Thomas (Prof. Dr. Dr.); Förderung: DFG

### miRNA Strategien bei Lungenerkrankungen

■ Projektleitung: Thum, Thomas (Prof. Dr. Dr.); Kooperationspartner: Ochs, Matthias (Prof. Dr.), Anatomie, MHH; Förderung: SFB, DFG

### MicroRNAs und renale Urämie

■ Projektleitung: Lorenzen, Johan (PD Dr.); Thum, Thomas (Prof. Dr. Dr.); Kooperationspartner: Haller, Hermann (Prof. Dr.), Nephrologie, MHH; Förderung: Stiftung

### Rolle von microRNAs bei Nierentransplantation

■ Projektleitung: Lorenzen, Johan (PD Dr.); Thum, Thomas (Prof. Dr. Dr.); Kooperationspartner: Haller, Hermann (Prof. Dr.), Nephrologie, MHH; Förderung: IFB-Tx (BMBF)

### Verhinderung von Fibrosebildung nach Lungentransplantation

■ Projektleitung: Fleissner, Felix (Dr.), Thum, Thomas (Prof. Dr. Dr.); Kooperationspartner: Haverich, Axel (Prof. Dr.), HTG-Chirurgie, MHH; Förderung: IFB-Tx (BMBF)

### Bedeutung von miRNAs bei dermalen Alterungsprozessen

■ Projektleitung: Thum, Thomas (Prof. Dr. Dr.); Förderung: Wirtschaft

### MicroRNAs als Biomarker kardiovaskulärer und neurologischer Erkrankungen

■ Projektleitung: Thum, Thomas (Prof. Dr. Dr.); Förderung: LOM

### Rolle von miRNAs bei kardialer Regeneration

■ Projektleitung: Thum, Thomas (Prof. Dr. Dr.); Förderung: Exzellenzcluster REBIRTH2

## Endocannabinoids and microRNAs in heart failure

■ Projektleitung: Batkai, Sandor (Dr. Dr.); Förderung: EU, 7FP, Marie Curie Integration Grant

## MiRNAs zur Verbesserung der Plättchenfunktion bei Diabetikern

■ Projektleitung: Thum, Thomas (Prof. Dr. Dr.), Seema Dangwal (Dr.); Kooperationspartner: Tschoepe, Diethelm (Prof. Dr.), Diabetes-Zentrum Bad Oeynhausen; Förderung: European Foundation for the Study of Diabetes (EFSD)

## MiRNA Therapeutika bei kardialem Ischämie-Reperfusionsschaden am Grosstier-Modell

■ Projektleitung: Fiedler, Jan (Dr.), Thum, Thomas (Prof. Dr. Dr.); Förderung: Deutschen Gesellschaft für Kardiologie (DGK)

## Originalpublikationen

Adam O, Löhfelme B, Thum T, Gupta SK, Puhl SL, Schäfers HJ, Böhm M, Laufs U. Role of miR-21 in the pathogenesis of atrial fibrosis. *Basic Res Cardiol*; 2012;107(5):278

Anagnostopoulou P, Riederer B, Duerr J, Michel S, Binia A, Agrawal R, Liu X, Kalitzki K, Xiao F, Chen M, Schatterny J, Hartmann D, Thum T, Kabesch M, Soleimani M, Seidler U, Mall MA. SLC26A9-mediated chloride secretion prevents mucus obstruction in airway inflammation. *J Clin Invest*; 2012;122(10):3629-3634

Bang C, Thum T. Novel non-coding RNA-based therapeutic approaches to prevent statin-induced liver damage. *EMBO Mol Med*; 2012;4(9):863-865

Batkai S, Mukhopadhyay P, Horvath B, Rajesh M, Gao RY, Mahadevan A, Amere M, Battista N, Lichtman AH, Gauson LA, MacCarrone M, Pertwee RG, Pacher P. Delta8-Tetrahydrocannabinol prevents hepatic ischaemia/reperfusion injury by decreasing oxidative stress and inflammatory responses through cannabinoid CB2 receptors. *Br J Pharmacol*; 2012;165(8):2450-2461

Dangwal S, Thum T. MicroRNAs in platelet biogenesis and function. *Thromb Haemost*; 2012;108(4):599-604

Diekmann U, Elsner M, Fiedler J, Thum T, Lenzen S, Naujok O. MicroRNA Target Sites as Genetic Tools to Enhance Promoter-Reporter Specificity for the Purification of Pancreatic Progenitor Cells from Differentiated Embryonic Stem Cells. *Stem Cell Rev*; 2012;DOI: n10.1007/s12015-012-9416-1

Engeli S, Blüher M, Jumpertz R, Wiesner T, Wirtz H, Bosse-Henck A, Stumvoll M, Batkai S, Pacher P, Harvey-White J, Kunos G, Jordan J. Circulating anandamide and blood pressure in patients with obstructive sleep apnea. *J Hypertens*; 2012;30(12):2345-2351

Haghikia A, Haghikia A, Hellwig K, Baraniskina A, Holzmann A, Decard BF, Thum T, Gold R. Regulated microRNAs in the CSF of patients with multiple sclerosis: A case-control study. *Neurology*; 2012;79(22):2166-2170

Horvath B, Magid L, Mukhopadhyay P, Batkai S, Rajesh M, Park O, Tanchian G, Gao RY, Goodfellow CE, Glass M, Mechoulam R, Pacher P. A new cannabinoid CB2 receptor agonist HU-910 attenuates oxidative stress, inflammation and cell death associated with hepatic ischaemia/reperfusion injury. *Br J Pharmacol*; 2012;165(8):2462-2478

Jazbutyte V, Fiedler J, Kneitz S, Galuppo P, Just A, Holzmann A,

Bauersachs J, Thum T. MicroRNA-22 increases senescence and activates cardiac fibroblasts in the aging heart. *Age (Dordr)*; 2012;DOI: 10.1007/s11357-012-9407-9

Jazbutyte V, Stumpner J, Redel A, Lorenzen JM, Roewer N, Thum T, Kehl F. Aromatase inhibition attenuates desflurane-induced preconditioning against acute myocardial infarction in male mouse heart in vivo. *PLoS One*; 2012;7(8):e42032

Kraemer R, Wuerfel W, Lorenzen J, Busche M, Vogt PM, Knobloch K. Analysis of hereditary and medical risk factors in Achilles tendinopathy and Achilles tendon ruptures: a matched pair analysis. *Arch Orthop Trauma Surg*; 2012;132(6):847-853

Kumarswamy R, Lyon AR, Volkmann I, Mills AM, Bretthauer J, Pahuja A, Geers-Knorr C, Kraft T, Hajjar RJ, Macleod KT, Harding SE, Thum T. SERCA2a gene therapy restores microRNA-1 expression in heart failure via an Akt/FoxO3A-dependent pathway. *Eur Heart J*; 2012;33(9):1067-1075

Kumarswamy R, Mudduluru G, Ceppi P, Muppala S, Kozlowski M, Niklinski J, Papotti M, Allgayer H. MicroRNA-30a inhibits epithelial-to-mesenchymal transition by targeting Snai1 and is downregulated in non-small cell lung cancer. *Int J Cancer*; 2012;130(9):2044-2053

Lorenzen JM, Dietrich B, Fiedler J, Jazbutyte V, Fleissner F, Karpinski N, Weidemann F, Wanner C, Asan E, Caprio M, Ertl G, Bauersachs J, Thum T. Pathologic endothelial response and impaired function of circulating angiogenic cells in patients with Fabry disease. *Basic Res Cardiol*; 2013;108(1):311

Lorenzen JM, Martino F, Scheffner I, Bröcker V, Leitolf H, Haller H, Gwinner W. Fetuin, matrix-gla protein and osteopontin in calcification of renal allografts. *PLoS One*; 2012;7(12):e52039

Lorenzen JM, Menne J, Schmidt BM, Schmidt M, Martino F, Dietrich R, Samiri S, Worthmann H, Heeren M, Weissenborn K, Haller H, Schiffer M, Kielstein JT, Thum T. Circulating microRNAs in Patients with Shiga-Toxin-Producing *E. coli* O104:H4 Induced Hemolytic Uremic Syndrome. *PLoS One*; 2012;7(10):e47215

Martino F, Lorenzen J, Schmidt J, Schmidt M, Broll M, Gorzig Y, Kielstein JT, Thum T. Circulating MicroRNAs Are Not Eliminated by Hemodialysis. *PLoS One*; 2012;7(6):e38269

Mukhopadhyay P, Horvath B, Zsengeller Z, Batkai S, Cao Z, Kechrid M, Holovac E, Erdelyi K, Tanchian G, Liaudet L, Stillman IE, Joseph J, Kalyanaraman B, Pacher P. Mitochondrial reactive oxygen species

generation triggers inflammatory response and tissue injury associated with hepatic ischemia-reperfusion: therapeutic potential of mitochondrially targeted antioxidants. *Free Radic Biol Med*; 2012;53(5):1123-1138

Rajesh M, Batkai S, Kechrid M, Mukhopadhyay P, Lee WS, Horvath B, Holovac E, Cinar R, Liaudet L, Mackie K, Hasko G, Pacher P. Cannabinoid 1 receptor promotes cardiac dysfunction, oxidative stress, inflammation, and fibrosis in diabetic cardiomyopathy. *Diabetes*; 2012;61(3):716-727

Ucar A, Gupta SK, Fiedler J, Eriki E, Kardasinski M, Batkai S, Dangwal S, Kumarwamy R, Bang C, Holzmann A, Remke J, Caprio M, Jentsch C, Engelhardt S, Geisendorf S, Glas C, Hofmann TG, Nessler M, Richter K, Schiffer M, Carrier L, Napp LC, Bauersachs J, Chowdhury K, Thum T. The miRNA-212/132 family regulates both cardiac hypertrophy and cardiomyocyte autophagy. *Nat Commun*; 2012;3:1078

Wolf C, Lorenzen JM, Stein S, Tsikas D, Störk S, Weidemann F, Ertl G, Anker SD, Bauersachs J, Thum T. Urinary asymmetric dimethylarginine (ADMA) is a predictor of mortality risk in patients with coronary artery disease. *Int J Cardiol* 2012;156(3):289-294

### Übersichtsarbeiten

Bang C, Thum T. Exosomes: new players in cell-cell communication. *Int J Biochem Cell Biol*; 2012;44(11):2060-2064

Fiedler J, Park D-H, Thum T. MicroRNA and disease models: focus on cardiac fibrosis. *Drug Discovery Today: Disease Models*; 2012;DOI: 10.1016/j.ddmod.2012.08.002

Lorenzen J M, Thum T. MicroRNAs in Immunität und Organtransplantation. *Transfusionsmedizin*; 2012;2(4):183-187

Lorenzen J, Kumarwamy R, Dangwal S, Thum T. MicroRNAs in diabetes and diabetes-associated complications. *RNA Biol*; 2012;9(6):820-827

Lorenzen JM, Martino F, Thum T. Epigenetic modifications in cardiovascular disease. *Basic Res Cardiol*; 2012;107(2):245

Lorenzen JM, Thum T. Circulating and urinary microRNAs in kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol*; 2012;7(9):1528-1533

Lorenzen JM, Thum T, Gwinner W. MicroRNAs bei Nierenerkrankungen: kleine Moleküle mit großer Wirkung. *Nephrologe*; 2012;7(3):243-244

Pfaff N, Moritz T, Thum T, Cantz T. miRNAs involved in the generation, maintenance, and differentiation of pluripotent cells. *J Mol Med (Berl)*; 2012;90(7):747-752

### Abstracts

2012 wurden 32 Abstracts publiziert.

### Promotionen

Karpinski, Nicola (Dr. med.): Analyse endothelialer Progenitorzellen und Endothelfunktion von Patienten mit Morbus Fabry.

Schunk, René (Dr. med.): Die Rolle von GATA-Transkriptionsfaktoren in zirkulierenden angiogenen Zellen: Mechanismen und Implikationen für die Endothelfunktion.

### Stipendien

Dangwal, Seema (Dr.): Research Stipendium of the Diabetes Foundation DHD of the German Diabetes Foundation.

### Wissenschaftspreise

Fiedler, Jan (Dr.); Thum, Thomas (Prof. Dr. Dr.): Franz-Maximilian-Groedel-Forschungspreis der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie (DGK).

Dangwal, Seema (Dr.): Anna Wundelich Ernst Jüehling Doctor Award.

### Weitere Tätigkeiten in der Forschung

Thum, Thomas (Prof. Dr. Dr.): Editorial Board Mitglied von *Circulation Research*; Editorial Board Mitglied von *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*; Editorial Board Mitglied von *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*; Editorial Board Mitglied von *Basic Research in Cardiology*; Editorial Board Mitglied von *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*; Editorial Board Mitglied von *PLOS One*; Editorial Board Mitglied von *Physiol Genomics*; Working Group on Myocardial Function (WG 4), Nucleus Member, European Society of Cardiology; Committee for Translational Cardiology, Nucleus Member, European Society of Cardiology; Fellow of the European Society of Cardiology (FESC); Co-Founder and 1. Chairman of *KardioWIND e.V.* (non-profit organisation to support young cardiologists in Germany).

Lorenzen, Johan (Dr.): Steering Committee, German Chronic Kidney Disease Study.

### Patente

Thum, Thomas (Prof. Dr. Dr.) et al.: 3 Patenteinreichungen zur miRNA-basierten Diagnostik und Therapie verschiedener Erkrankungen.