

- Zusammenfassung -

Can Cao

Dr. med.

Transcriptional Control of Endothelial-mesenchymal Transition

Fach/Einrichtung: Innere Medizin, Institut für Experimentelle Kardiologie

Doktorvater: Prof. Dr. rer. nat. Ralf Gilsbach

Endothelzellen können sich im Rahmen von kardiovaskulären Erkrankungen in mesenchymale Zellen umwandeln (EndMT, endothelial-to-mesenchymal transition). Ziel dieses Projekts ist es, die transkriptionellen Kontrollmechanismen der EndMT zu entschlüsseln.

Um EndMT in vitro zu modellieren habe ich humane Nabelschnurvenen-Endothelzellen behandelt, um einen Wechsel des zellulären Phänotyps und der Genexpression auszulösen, der mit einer mesenchymalen Transition vereinbar ist.

Zur Untersuchung der zugrunde liegenden Veränderungen auf Ebene des Chromatins wurde eine Chromatinzugänglichkeitsanalyse durchgeführt. Diese offenbarte eine Vielzahl neu zugänglicher Chromatinregionen, die anhand einer sogenannten Transkriptionsfaktor-Footprint-Analyse auf eine verstärkte Bindung von TEAD-, SMAD- und RUNX-Transkriptionsfaktoren zurückzuführen ist.

Genomweite epigenetische Daten zeigten, dass diese Stellen eine erhöhte Acetylierung von Histon H3 am Lysin 27 aufweisen, die für aktive Enhancer-Elemente charakteristisch ist. Die Integration von Chromatin-Interaktionsdaten zeigte darüber hinaus eine umfassende Änderung der räumlichen Interaktionen von Promotoren mit Enhancern, die mit Genexpressionsänderungen einhergehen. Eine CRISPRi-vermittelte Hemmung der Genexpression von TEAD-Transkriptionsfaktoren hatte aber keinen maßgeblichen Einfluss auf die EndMT.

Diese Arbeit identifizierte zudem zwei mutmaßliche Enhancer von FABP4 (Fettsäure-bindendes Protein 4) in Endothelzellen. Das Ausschalten dieser Enhancer führte zu einem

80-prozentigen Verlust der FABP4-Expression, was die funktionelle Relevanz diese Enhancer bestätigt.

Genetische Risikofaktoren werden mit Herz-Kreislauf-Erkrankungen in Verbindung gesetzt. Daher wurde in diesem Projekt getestet, ob Enhancer-Promotor-Interaktionen genetische Risikofaktoren tragen. Bei dieser Analyse wurden 539 Enhancer identifiziert, die mit Krankheits-assoziierten Varianten überlappen. Die CRISPRi-vermittelte Inaktivierung von sieben aus elf selektierten Enhancer resultierte in einer signifikanten Reduktion der Genexpression der interagierenden Zielgenen. Somit konnte für diese sieben Enhancer die funktionelle Relevanz nachgewiesen werden.

Zusammenfassend zeigen diese Ergebnisse, dass die integrative Analyse von epigenetischen Markierungen, Chromatin-Organisation und Genexpression in Kombination mit CRISPRi-vermitteltem Ausschaltung von Enhancern die funktionelle Analyse von krankheitsassoziierten distalen regulatorischen Elementen ermöglicht. Die generierten Daten zeigen zudem, dass eine EndMT mit einer Änderung der räumlich Genomorganisation und umfassenden epigenetischen Veränderungen von Enhancern einhergeht. Die gezielte Beeinflussung dieser epigenetischen Mechanismen und/oder der räumlichen Organisation des Genoms von Endothelzellen würde daher neue Möglichkeiten für die Gentherapie bei Herz-Kreislauf-Erkrankungen bieten.