

COVID-19-Forschung

MicroRNAs bei COVID-19: kleine Moleküle mit großem Potenzial?

CHRISTIAN BÄR^{1,2}, ANSELM A. DERDA^{1,3}, THOMAS THUM^{1,2,4}

¹ INSTITUT FÜR MOLEKULARE UND TRANSLATIONALE THERAPIESTRATEGIEN, MEDIZINISCHE HOCHSCHULE HANNOVER

² REBIRTH - FORSCHUNGSZENTRUM FÜR TRANSLATIONALE REGENERATIVE MEDIZIN, MEDIZINISCHE HOCHSCHULE HANNOVER

³ KLINIK FÜR KARDIOLOGIE UND ANGIOLOGIE, MEDIZINISCHE HOCHSCHULE HANNOVER

⁴ FRAUNHOFER-INSTITUT FÜR TOXIKOLOGIE UND EXPERIMENTELLE MEDIZIN, HANNOVER

COVID-19 still remains a severe global health threat. Despite the high-speed development of vaccines that efficiently prevent COVID-19, there are still no effective treatments of the disease once people are infected. MicroRNAs are powerful regulators of gene expression. They are intensely investigated as therapeutic targets up to the clinical stage. In addition, microRNAs can be detected in the circulation, and thus, represent promising diagnostic and prognostic biomarkers for (long)-COVID-19.

DOI: 10.1007/s12268-021-1620-6

© Die Autoren 2021

Die COVID-19-Pandemie hat auch fast einhalb Jahre nach dem ersten Auftreten die Welt fest im Griff und hat nach offiziellen Zahlen der Weltgesundheitsorganisation bereits mehr als vier Millionen Menschenleben

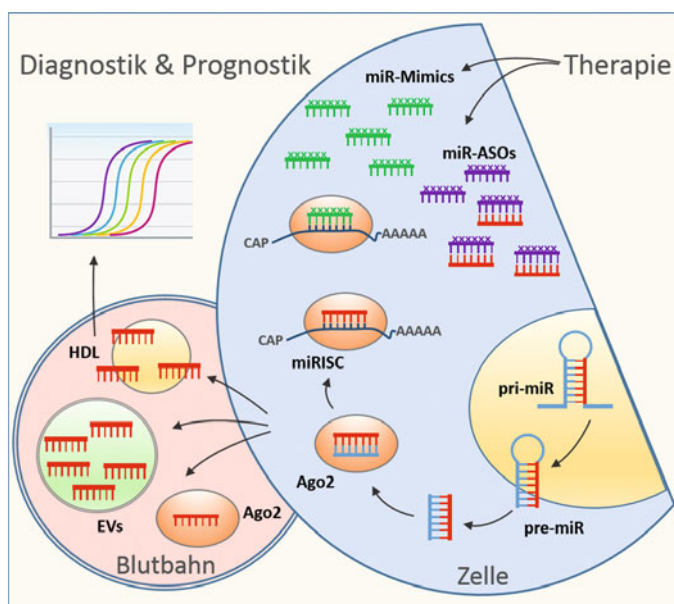
gefordert. Neben den primären Manifestationen, wie Lungenentzündung und akutem Lungenversagen (*acute respiratory distress syndrome*, ARDS), kommt es häufig zu einem Multiorganversagen, da durch den Erreger,

das SARS-CoV-2, neben der Lunge auch andere Organe befallen werden. Sehr häufig kommt es zu einer kardialen

Beteiligung – sowohl akut, aber auch chronisch. Wie eine deutsche Beobachtungsstudie kürzlich zeigte, wurden nach überstandener Infektion bei bis zu 60 Prozent der Patienten Herzmuskelentzündungen festgestellt [1]. Des Weiteren sind kardiovaskuläre Vorerkrankungen ein erheblicher Risikofaktor für schwere COVID-19 Verläufe [2]. Zurückzuführen ist dies wahrscheinlich auf das Angiotensin-konvertierendes Enzym 2 (ACE2), das als primärer Zelleintrittsrezeptor für SARS-CoV-2 dient und neben Alveolarepithelzellen auch stark auf der Oberfläche von Kardiomyozyten exprimiert ist. Während die Entwicklung neuartiger und höchst effektiver Vektor- und mRNA-Impfstoffe zur Verhinderung der Krankheit mit beeindruckendem Tempo voranschreitet, gab es bei der Behandlung von schwerkranken COVID-19-Infizierten bisher leider keinen Durchbruch. Unsere Arbeiten fokussieren sich vor allem auf die Erforschung von nicht codierenden RNAs als neuartige Zielstrukturen für die Behandlung, Diagnose und Prognose kardiovaskulärer Erkrankungen. Wir gehen davon aus, dass die nicht codierenden RNAs auch bei der Behandlung von COVID-19, vor allem bei den begleitenden kardialen Manifestationen, eine wichtige Rolle spielen können.

Funktionsweise und therapeutisches Potenzial der microRNAs

MicroRNAs repräsentieren eine Unterklasse der sehr heterogenen Welt funktioneller,

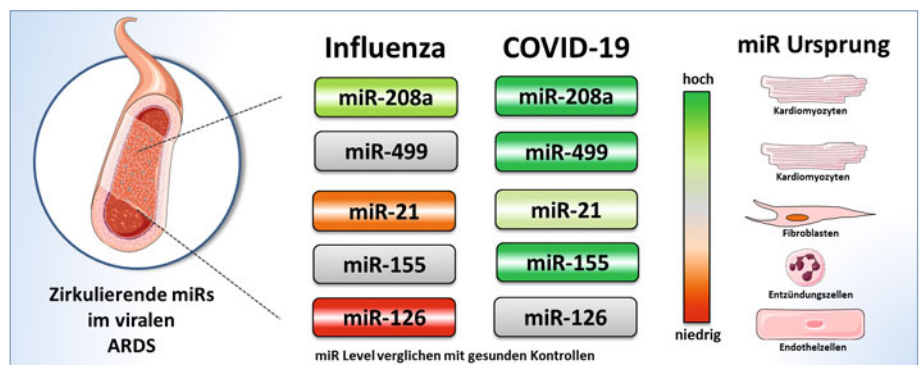


◀ **Abb. 1:** Schematische Darstellung der microRNA-Biosynthese. Die Synthese der microRNAs (miRs) findet im Zellkern statt. Die pri-miR-Vorläufer werden durch Nukleasen zu pre-miRs und schließlich der reifen doppelsträngigen miR prozessiert. Gebunden an Argonaut-Proteine bildet einer der beiden Stränge den *miRNA-induced silencing complex* (miRISC), der durch komplementäre Basenpaarung vermittelt messenger-RNAs destabilisiert oder deren Translation blockiert. Dieser Wirkmechanismus der microRNAs kann therapeutisch durch Einbringen synthetischer microRNAs (miR-Mimic) sowie Inhibitoren (*miRNA antisense oligonucleotides*, miR-ASO) manipuliert werden. Zudem können die microRNAs entweder verpackt in extrazelluläre Vesikel (EVs) oder gebunden an RNA-Bindeproteine wie das Argonaut2 (Ago2) oder *high-density-Lipoproteine* (HDL) ins Blut abgegeben werden und stellen daher vielversprechende diagnostische und prognostische Krankheitsbiomarker dar.

nicht codierender RNAs. Sie liegen im Cytoplasma von Zellen als einzelsträngige RNA-Moleküle vor, im Allgemeinen mit einer Länge von 20–22 Nukleotiden, und sind bei der posttranskriptionellen Regulation von zellulären Signalwegen von entscheidender Bedeutung. MicroRNAs werden durch Argonaut-Proteine gebunden und bilden den *miR-induced silencing complex* (miRISC), der durch komplementäre Basenpaarungen der microRNA an spezifische mRNAs bindet, was zur Hemmung der Proteintranslation oder zur Destabilisierung und Abbau der mRNA führt [3]. Dieses Prinzip kann man sich therapeutisch zunutze machen, indem man synthetische microRNAs (miR-Mimics) in Zellen einbringt, um deren Aktivität zu erhöhen. Alternativ kann man die Funktion der microRNAs durch das Einbringen von spezifischen Antisense-Oligonukleotiden (miR-ASO) blockieren (**Abb. 1**). Als Paradebeispiel dient die microRNA-132, welche durch erhöhte Expressionslevel unter kardialen Stressbedingungen (z. B. chronischem Bluthochdruck) maßgeblich zur Entstehung der kardialen Hypertrophie und Herzinsuffizienz beiträgt. Die Blockade der microRNA-132 mittels spezifischer Antisense-Oligonukleotide hat sich als effektive therapeutische Strategie im Klein- und Großtiermodell erwiesen und hat bereits in einer ersten klinischen Studie (Phase 1b) vielversprechende Ergebnisse bei der Behandlung von Herzinsuffizienzpatienten gezeigt [4, 5].

MicroRNA-Therapie bei COVID-19?

Auf der Grundlage dieser Erkenntnisse stellte sich für uns die Frage, ob microRNAs auch zur Behandlung von COVID-19 dienen könnten. In unserer ersten Konzeptstudie fokussierten wir uns zunächst auf ACE2, das Schlüsselmolekül für den Zelleintritt von SARS-CoV-2. Wie zeitgleich auch aus anderen Studien bekannt wurde, konnten wir zeigen, dass bei den verschiedenen Zelltypen des Herzens ACE2 hauptsächlich in Kardiomyozyten exprimiert wird. Durch bioinformatische Analysen identifizierten wir drei microRNAs (miR-200b-3p, miR-200c-3p, miR-429-3p), die putative Bindestellen in der 3'UTR der ACE2-mRNA besitzen und diese somit potenziell inhibieren können. Um dies zu testen, behandelten wir sowohl primäre Kardiomyozyten aus Rattenherzen als auch humane iPSC-abgeleitete Kardiomyozyten mit synthetischen microRNAs. Dabei stellte sich miR-200c-3p als potentester Inhibitor der ACE2-mRNA- und Proteinexpression her-



▲ **Abb. 2:** Plasmaspiegel von microRNAs (miRs) können zwischen Influenza- und COVID-19-Infizierten differenzieren, die an einem schweren Atemnotsyndrom (*acute respiratory distress syndrome*, ARDS) leiden. Die verschiedenen microRNAs sind mit unterschiedlichen Zelltypen assoziiert (Kardiomyozyten, Fibroblasten, Entzündungszellen, Endothelzellen), sodass die deregulierten microRNAs auf unterschiedliche Organbeteiligung hinweisen. Entnommen, adaptiert und ins Deutsche übersetzt aus [8], CC BY-NC 4.0.

aus. In unabhängigen Experimenten validierten wir mit einem Luciferase-Reporter-Assay die spezifische Bindung zwischen miR-200c-3p und der ACE2 3'UTR [6]. Weiterführende Studien mit nationalen und internationalen Partnern laufen derzeit.

MicroRNA als prognostische Biomarker bei COVID-19

Zusätzlich zur Erforschung der microRNAs als therapeutisches Ziel, sind diese auch Gegenstand zahlreicher Biomarkerstudien. MicroRNAs können prinzipiell in allen Körperflüssigkeiten detektiert werden. Vor allem Blut- bzw. Plasmabiopsien eignen sich zur Bestimmung von microRNA-Spiegeln, da diese hier größtenteils gebunden an Proteine wie HDL und Argonaut oder verpackt in extrazelluläre Vesikel (EVs) vorliegen, was sie vor RNase-vermittelter Degradation schützt und ihnen Stabilität verleiht. Da microRNAs zudem häufig gewebe- und zelltypspezifisch exprimiert sind, sind sie vielversprechende Biomarker für verschiedene Konditionen, wie z. B. Leber- und Herztoxizität, sowie für eine ganze Reihe an Erkrankungen, wie z. B. Krebs, Herz-Kreislauf-Erkrankungen und Infektionskrankheiten (**Abb. 1**, [7]).

In unserer aktuellen Studie haben wir, basierend auf den zahlreichen kardiovaskulären Manifestationen von COVID-19, einen definierten Satz an kardiovaskulär- und entzündungsassoziierten microRNAs (miR-21, miR-126, miR-155, miR-208a und miR-499) in COVID-19-Patienten mit einem schweren Verlauf untersucht [8]. Während der ersten Corona-Welle in Deutschland verglichen wir zunächst in einer explorativen Kohorte die microRNA-Spiegel von schwerstkranken,

mechanisch-beatmeten Patienten mit gesunden Kontrollprobanden. Die Spiegel der fünf rational ausgewählten microRNAs waren bei schwer an COVID-19 Erkrankten tatsächlich signifikant verändert. Das weist auf eine Assoziation von COVID-19 mit kardiovaskulärer Beteiligung hin. Aufgrund der bis dato limitierten Kohortengrößen (15 Kontrollen vs. 18 COVID-19), die zudem einen relativ großen Unterschied im Altersdurchschnitt aufwiesen, rekrutierten wir mit dem Aufkeimen der zweiten Corona-Welle weitere COVID-19-Patienten sowie altersangegleichen Kontrollprobanden. Darüber hinaus rekrutierten wir zusätzlich schwerkranke Influenzapatienten, die ebenfalls mechanisch beatmet werden mussten. Die Analyse der Validierungskohorten ergab, dass in COVID-19-Patienten die Spiegel entzündungsfördernder microRNAs, wie miR-155, und Kardiomyozyten-spezifischer microRNAs, wie miR-208a und miR-499, bei COVID-19-Patienten signifikant erhöht waren. In Übereinstimmung mit dem klinischen Bild der Erkrankung entsprach dies unseren Erwartungen. Obwohl sich im akuten klinischen Erscheinungsbild im Rahmen eines schweren ARDS COVID-19 und Influenza nur wenig unterscheiden, zeigten sich interessanterweise die Expressionslevel von miR-155 und miR-499 in COVID-19 auch signifikant gegenüber der Influenzagruppe erhöht. Zudem beobachteten wir, dass die Spiegel der Fibrose-assoziierten miR-21 bei COVID-19 erhöht waren – sowohl im Vergleich zu gesunden Kontrollen als auch zu Influenzapatienten (**Abb. 2**). Unsere Ergebnisse liefern somit einen weiteren direkten Anhaltspunkt für die myokardiale Beteili-

gung bei einer SARS-CoV-2 Infektion, wohingegen Influenza hauptsächlich eine pulmonale Reaktion auslöst. Unsere Ergebnisse lassen vermuten, dass die Plasmaspiegel von miR-21, miR-155, miR-208a und miR-499 ein Prädiktor für chronische Herzmuskelschäden und Entzündungen nach überstandener COVID-19-Erkrankung mit schwerem Verlauf sein könnten. Schätzungen zufolge leiden zirka zehn Prozent der COVID-19-Genesenen an Langzeitfolgen, wie Müdigkeit, Luftnot und auch Herzbeschwerden. Dieses bisher kaum verstandene und noch nicht klar abgegrenzte Krankheitsbild erhielt kürzlich den Namen Long-COVID [9].

Dies unterstreicht die Notwendigkeit für leicht zugängliche Biomarker, wie z. B. microRNAs aus Flüssigbiopsien, die prädiagnostische Informationen über potenzielle kardiovaskuläre Langzeitfolgen liefern können. Die Ergebnisse unserer Studie dienen als Grundlage für derzeitige breiter angelegte Studien, die den prognostischen Wert der microRNA-Messungen für den Langzeitverlauf von COVID-19-Patienten und von Long-COVID untersuchen. ■

Literatur

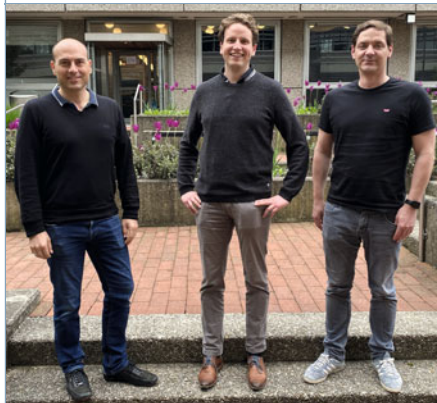
- [1] Puntmann VO, Carerj ML, Wieters I et al. (2020) Outcomes of cardiovascular magnetic resonance imaging in patients recently recovered from coronavirus disease 2019 (COVID-19). *JAMA Cardiol* 5: 1265–1273
- [2] Groß S, Jahn C, Cushman S et al. (2020) SARS-CoV-2 receptor ACE2-dependent implications on the cardiovascular system: from basic science to clinical implications. *J Mol Cell Cardiol* 144: 47–53
- [3] Viereck J, Thum T (2017) Circulating noncoding RNAs as biomarkers of cardiovascular disease and injury. *Circ Res* 120: 381–399
- [4] Batkai S, Genschel C, Viereck J et al. (2021) CDR132L improves systolic and diastolic function in a large animal model of chronic heart failure. *Eur Heart J* 42: 192–201
- [5] Täubel J, Hauke W, Rump S et al. (2021) Novel antisense therapy targeting microRNA-132 in patients with heart failure: Results of a first-in-human Phase 1b randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Eur Heart J* 42: 178–188
- [6] Lu D, Chatterjee S, Xiao K et al. (2020) MicroRNAs targeting the SARS-CoV-2 entry receptor ACE2 in cardiomyocytes. *J Mol Cell Cardiol* 148: 46–49
- [7] Gonzalo-Calvo D De, Vea A, Bär C et al. Circulating non-coding RNAs in biomarker-guided cardiovascular therapy: A novel tool for personalized medicine? *Eur Heart J* 40: 1643–1650
- [8] Garg A, Seeliger B, Derda AA et al. (2021) Circulating cardiovascular microRNAs in critically ill COVID-19 patients. *Eur J Heart Fail* 23: 468–475
- [9] The Lancet (2020) Facing up to long COVID. *Lancet* 396: 1861

Funding note: Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.
Open Access: Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden. Die in diesem Artikel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen. Weitere Details zur Lizenz entnehmen Sie bitte der Lizenzinformation auf <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>.

Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. Dr. med. Thomas Thum
 Institut für Molekulare und Translationale Therapiestrategien
 Medizinische Hochschule Hannover
 Carl-Neuberg-Str. 1
 D-30625 Hannover
 thum.thomas@mh-hannover.de

AUTOREN



Thomas Thum, Anselm A. Derda und Christian Bär (v. l. n. r.)

Christian Bär

2000–2006 Diplomstudium Biologie. 2007–2011 PhD in Genetics, University of Leicester, UK. 2012–2015 Postdoc in der Gruppe von Dr. M. Blasco am Spanischen Krebsforschungszentrum (CNIO) in Madrid. Seit 2015 Arbeitsgruppenleiter am Institut für Molekulare und Translationale Therapiestrategien der Medizinische Hochschule Hannover. 2021 Habilitation im Fach Experimentelle und Regenerative Kardiologie.

Anselm A. Derda

2010–2017 Studium Humanmedizin, Medizinische Hochschule Hannover (MHH). 2014–2015 Forschungsaufenthalt, National Heart & Lung Institute Imperial College London, UK. Seit 2017 Assistenzarzt, Klinik für Kardiologie und Angiologie, MHH. 2018 Doktor der Medizin, Institut für Molekulare und Translationale Therapiestrategien, MHH. Seit 2020 Förderung durch PRACTIS – Clinician Scientist Programm der MHH, gefördert durch die DFG.

Thomas Thum

Studium Humanmedizin. 2004–2009 Facharzt Ausbildung Innere Medizin und Kardiologie, Universität Würzburg. 2004–2009 PhD am National Heart and Lung Institute, Imperial College London, UK. Seit 2009 W3-Professor und Direktor Institut für Molekulare und Translationale Therapiestrategien. Seit 2013 Gastprofessor am National Heart and Lung Institute, Imperial College London. Seit 2021 Institutsleiter und Direktor am Fraunhofer ITEM, Hannover.

Hier steht
eine Anzeige.

 Springer