

MikroRNAs als wichtige Biomarker für die frühe klinische Diagnose bei Patienten mit zerebralen kavernösen Malformationen (CCM)

Souvik Kar, PhD; Helmut Bertalanffy, MD

Hintergrund: Zerebrale Kavernöse Malformationen (CCM) sind maulbeerförmige vaskuläre Läsionen, die mit einem Funktionsverlust in einem der drei Gene CCM1, CCM2 oder CCM3 einhergehen. Klinische Manifestationen sind Krampfanfälle, starke Kopfschmerzen, Doppelbilder und Blutungen (Abb. 1).

Derzeit gibt es keine zuverlässigen medikamentösen Therapiestrategien, so dass die mikrochirurgische Resektion weiterhin die einzige verfügbare Behandlungsoption für Patienten mit zerebraler kavernöser Malformation (CCM) bleibt.

Aus diesem Grunde besteht dringender Bedarf an der Entwicklung alternativer, sicherer und wirksamer Therapien zur Behandlung dieser beeinträchtigenden Krankheit sowie zur Verbesserung der Lebensqualität der Patienten und ihrer Familienangehörigen.

Innerhalb des menschlichen Genoms besitzt nur ein kleiner Prozentsatz der Gentranskripte (2–3 %) die Fähigkeit, Proteine zu codieren, während die restlichen 97-98 % den nicht-codierenden Teil bilden. Dieses nicht codierende Repertoire des menschlichen Genoms wurde früher als "Junk or Noise"-DNA betrachtet. Die jüngste Entwicklung und Weiterentwicklung von Hochdurchsatz-RNA-Sequenzierungstechnologien hat jedoch die Untersuchung von nicht-codierenden RNAs in höheren Organismen aufgrund ihrer physiologischen und pathologischen Bedeutung revolutioniert [5]. Die nicht-codierende RNA wird zusammen in zwei Hauptkategorien eingeteilt: kleine nicht-codierende RNAs mit einer Länge von <200 Nukleotiden (microRNAs, snoRNAs, piRNA, zirkuläre RNA, snRNA) und lange nicht-codierende RNAs (lncRNAs) mit einer Länge von >200 Nukleotiden Länge.

Unter den nicht-codierenden RNAs sind microRNAs eines der am besten charakterisierten RNA-Moleküle, von denen bekannt ist, dass sie die Genexpression regulieren; ihre Dysregulation wird mit schweren Formen von Krankheiten in Verbindung gebracht.

Die Fülle zellulärer und molekularer Wege, die für die Entwicklung und das Überleben von Organismen entscheidend sind, scheinen durch microRNAs moduliert zu werden. Sie tun dies, indem sie die Translation ihrer Ziel-mRNAs/Gene unterdrücken und die posttranskriptionelle Regulation der Genexpression vermitteln. Derzeit sind nur begrenzte Daten über die Vielzahl von Rollen verfügbar, die microRNAs in der Pathophysiologie von CCM spielen.

Mithilfe der Hochdurchsatz-RNA-Sequenzierungstechnologie war es nun möglich, microRNAs als potenzielle Biomarker bei verschiedenen Erkrankungen des Menschen, einschließlich zerebrovaskulärer Fehlbildungen, zu identifizieren und zu charakterisieren. Aufgrund ihrer Bioverfügbarkeit und reduzierten Toxizität gelten sie als beste therapeutische Kandidaten für den Einsatz in präklinischen und klinischen Studien.

MicroRNA-Biogenese

Die Biogenese von microRNAs ist ein komplexer Mechanismus und umfasst eine Reihe von endonukleolytischen Reifungsschritten, die für die Produktion ausgereifter funktioneller microRNAs entscheidend sind. Kurz gesagt werden

primäre microRNA-Transkripte durch das nukleare RNA-III-Enzym Drosha und DGCR8 zu pre-microRNA verarbeitet. Das Prä-microRNA-Transkript wird dann aktiv durch das Exportin-5 in das Zytoplasmatransportiert und durch das Enzym Dicer und TRBP weiterhin einen ~22-Nukleotid-Duplex geschnitten.

Der letzte Schritt bei der MikroRNA-Reifung beinhaltet das Laden des funktionellen Strangs in den RNA-induzierten Silencing-Komplex (RISC). Die gereiften microRNAs führen dann den RISC-Komplex entweder zur Destabilisierung der Ziel-mRNAs/Gene oder zur translationalen Repression (Abb. 2).

Aktuelle Meilensteine in der microRNA-Forschung

In diesem Zusammenhang haben neuere Studien microRNAs in CCM identifiziert und charakterisiert. Die erste Studie zur Identifizierung von microRNAs wurde in humanen resezierten CCM-Geweben durchgeführt [1].

Unter Anwendung des RNA-Sequenzierungsansatzes identifizierten die Forscher wichtige microRNAs; let-7b-5p, miR-361-5p, miR-370-3p, miR-181a-2-3p und miR-95-3p waren bei CCM-Patienten stark herunterreguliert. Ihre Rolle in der CCM-Pathogenese wurde durch die Verwendung von In-Silico-Analysen weiter aufgeklärt.

Diese Erkenntnis führte zu weiteren Studien, die die Rolle anderer microRNAs sowohl in menschlichen als auch in Tiermodellen von CCM-Erkrankungen untersuchten. Beispielsweise identifizierten Lyne und Mitarbeiter dreizehn Plasma-microRNAs, die zwischen zerebralen kavernösen Angiomen mit symptomatischer Blutung (CASH) und Nicht-CASH-Patienten unterschiedlich exprimiert werden [3].

Zur Beurteilung der Prognose hinsichtlich einer zukünftigen symptomatischen Blutung untersuchen diese Forscher derzeit, ob eine positive Korrelation zwischen den identifizierten Plasma-microRNAs und CASH besteht.

Eine andere Studie ergab, dass mmu-miR-3472a im Serum von Ccm3-Knockout-Mäusen unterschiedlich exprimiert wird, was darauf hindeutet, dass diese RNA eine wichtige Rolle bei der CCM-Erkrankung spielen könnte [2].

Eine neuere Studie überprüfte differentiell exprimierte homologe microRNAs im Plasma sowohl in präklinischen Mausmodellen als auch in CCM-Patienten [4]. Diese wichtige Proof-of-Concept-Studie ist die erste ihrer Art für die zukünftige Identifizierung prognostischer zirkulierender Biomarker, die in vorklinischen Studien und Studien am Menschen eingesetzt werden sollen.

Zusammenfassung

Diese neuen Erkenntnisse bestätigen eindrücklich die Beteiligung von microRNAs an CCM-Erkrankungen, wobei diese Moleküle als vielversprechende Kandidaten für zukünftige diagnostische Biomarkerstudien betrachtet werden. Da die Mikrochirurgie derzeit die einzige effiziente Behandlungsmethode für CCM-Patienten darstellt, könnte die neue Ära der microRNA-gesteuerten Therapie das Feld der Managementstrategien deutlich erweitern und außerdem dazu beitragen, das Risiko neurochirurgischer Komplikationen in Zukunft zu minimieren.

Referenzen:

1. Kar S, Bali KK, Baisantry A, Geffers R, Samii A, Bertalanffy H. Genome-Wide Sequencing Reveals MicroRNAs Downregulated in Cerebral Cavernous Malformations. *J Mol Neurosci* 2017;61(2):178-88 doi: 10.1007/s12031-017-0880-6[published Online First: Epub Date].
2. Koskimaki J, Zhang D, Li Y, et al. Transcriptome clarifies mechanisms of lesion genesis versus progression in models of Ccm3 cerebral cavernous malformations. *Acta Neuropathol Commun* 2019;7(1):132 doi: 10.1186/s40478-019-0789-0[published Online First: Epub Date].
3. Lyne SB, Girard R, Koskimaki J, et al. Biomarkers of cavernous angioma with symptomatic hemorrhage. *JCI Insight* 2019;4(12) doi: 10.1172/jci.insight.128577[published Online First: Epub Date].
4. Romanos SG, Srinath A, Li Y, et al. Circulating Plasma miRNA Homologs in Mice and Humans Reflect Familial Cerebral Cavernous Malformation Disease. *Transl Stroke Res* 2022 doi: 10.1007/s12975-022-01050-3[published Online First: Epub Date].
5. Tripathi R, Chakraborty P, Varadwaj PK. Unraveling long non-coding RNAs through analysis of high-throughput RNA-sequencing data. *Noncoding RNA Res* 2017;2(2):111-18 doi: 10.1016/j.ncrna.2017.06.003[published Online First: Epub Date].

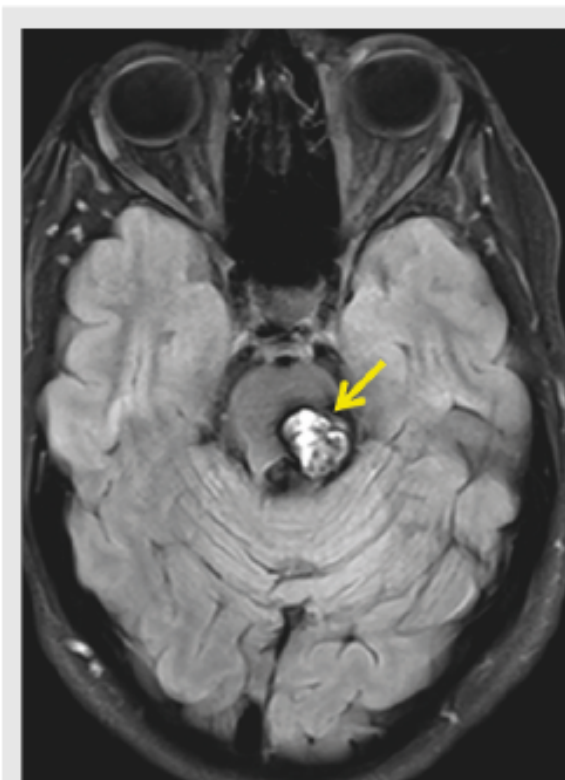


Foto: Prof. Holmut Biersdorf (DZL, Hannover)

Abbildung 1:
 Axiale T2-gewichtete FLAIR-Sequenz einer 27-jährigen Patientin mit einem Kavernom in der Pons-Region (gelber Pfeil). Präoperativ litt die Patientin unter Fazialisparese, Hypästhesie im linken Gesichtsbereich, Doppelbildern, Schwindel und Gangataxie.

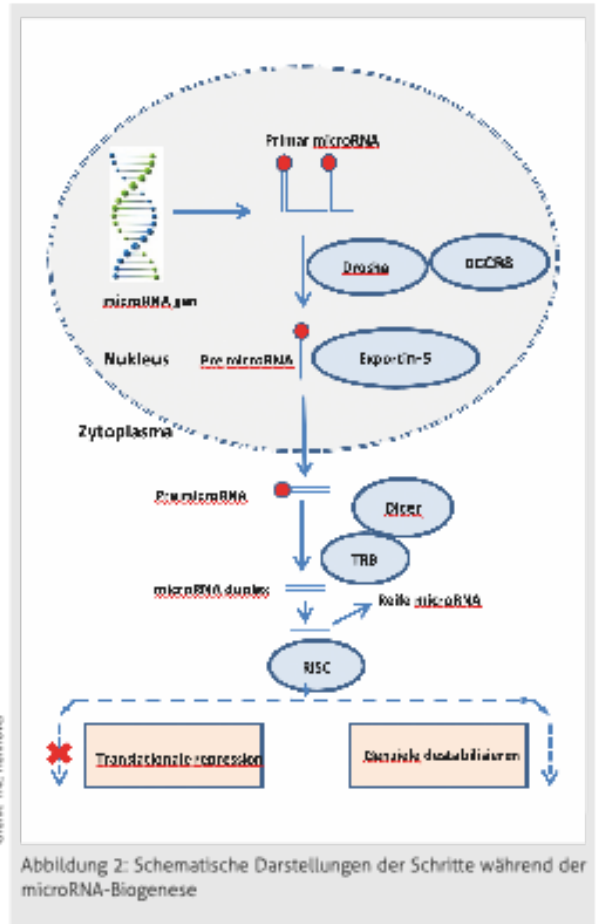


Abbildung 2: Schematische Darstellungen der Schritte während der microRNA-Biogenese