

Zusammenfassung

Während der Wundheilung wandern Fibroblasten aus der intakten Dermis in das Granulationsgewebe ein und differenzieren sich durch erhöhten mechanischen Stress, durch die Ausschüttung von TGF- β und die Bildung einer spezialisierten extrazellulären Matrix zu Myofibroblasten. Diese Zellen sekretieren während der Granulationsphase extrazelluläre Matrixproteine und ziehen die Wunde zusammen. MicroRNAs sind kleine nicht-codierende RNA-Moleküle, die als Leitmoleküle der posttranskriptionalen Regulation an Ziel-mRNAs binden und deren Expression regulieren. Sie können nahezu alle biologischen Prozesse beeinflussen, jedoch ist ihre Funktion im Rahmen der Myofibroblastenhomöostase kaum untersucht.

In dieser Arbeit wurde zunächst eine Methode zur Isolierung von Myofibroblasten aus dem Wundgewebe von Mäusen etabliert. Hierzu wurde die α -SMA-GFP transgene Mauslinie verwendet, die das grün fluoreszierende Protein (GFP) unter der Kontrolle des Promoters der Aktiniform *alpha smooth muscle actin* (α -SMA) exprimiert. Mithilfe histologischer und immunohistochemischer Untersuchungen konnte bestätigt werden, dass GFP und α -SMA in Myofibroblasten während der Wundheilung gebildet werden. Diese GFP⁺ Myofibroblasten waren am siebten Tag nach Wundsetzung im Granulationsgewebe stark angereichert. Sie konnten mittels durchflusszytometrischer Sortierung isoliert werden. Über die globale mRNA Transkriptomanalyse wurden sie charakterisiert und der Myofibroblastenphänotyp der Zellen konnte bestätigt werden. Von diesen Zellen wurde die Expression von 690 miRNAs mithilfe eines miRNA Microarrays untersucht. 40 miRNAs werden differentiell im Vergleich zu Fibroblasten exprimiert. Von diesen konnte die siebenfach hochregulierte miR-127-3p in Zellkulturexperimenten isolierter Fibroblasten die Expression des α -SMA/GFP und eine Größenzunahme stimulieren sowie deren Proliferation durch einen G1/G0-Arrest verlangsamen. Fibroblasten mit experimentell erhöhter miR-127-3p Konzentration adhärirten langsamer auf Plastiksubstrat und zogen Kollagengele stärker zusammen. Von 20 bioinformatisch vorhergesagten Zielgenen wurden Chst15, Dlk1, Kif3b, Scn8a, Setd8, Slc12a4, Wnt7a, Ypel5 und Zc3h4 als Ziel-mRNAs über Bindungsstudien bestätigt. Für die Zielgene Chst15, Kif3b, Setd8 und Zc3h4 wurde gezeigt, dass die Transfektion der miR-127-3p zu einer Abnahme ihrer mRNA Menge führte. Erste Untersuchungen zu Funktionen der einzelnen Ziel-mRNAs mithilfe siRNAs vermittelter Regulierung in Fibroblasten belegten, dass diese Transfektionen zu einem ähnlichen Zellphänotyp führen, jedoch war dieser Phänotyp nicht so stark ausgeprägt wie nach der Transfektion mit dem miR-127-3p Mimic. Zusammenfassend wurde in dieser Arbeit somit eine Methode zur Isolierung von Myofibroblasten aus dem Wundgewebe etabliert. Das mRNA und miRNA Transkriptom wurde untersucht und ausgehend von diesem Datensatz wurde eine Myofibroblasten-induzierende miRNA identifiziert und deren molekulare Wirkungsmechanismus aufgeklärt.