

Zusammenfassung

Neben anderen Zellen bilden Makrophagen, Neutrophile und Mastzellen eine sofortige Abwehr gegen eindringende Krankheitserreger. Bei Infektion mit dem grampositiven Bakterium *Listeria monocytogenes* (*L.m.*) initiieren sie extrazelluläre oder cytoplasmatische Signalwege, die zur Transkription von Zytokinen und der Expression von Micro-RNAs (miRNAs) führen. Eine strenge Regulation der Entzündungsreaktion und die erfolgreiche Initiation der adaptiven Immunität sind für die bakterielle Elimination und das Überleben des Wirtes essentiell.

MiRNAs stellen einen wichtigen Mechanismus der post-transkriptionalen Genregulation in Entzündungsreaktionen dar. Die kanonische miRNA-Biogenese ist abhängig von der Aktivität der RNaseIII Endonukleasen Drosha (im Komplex mit DGCR8) und Dicer. In dieser Arbeit wurde mit neuen transgenen Mausmodellen mit konditionaler (*LysMcre*, *Mcpt5cre*) oder Interferon-induzierbarer (*Mx1cre*) Deletion von Dicer oder DGCR8 untersucht, wie Dicer oder DGCR8 die myeloide Zellentwicklung und Funktion während Infektionen regulieren.

Obwohl es nach *LysMcre*-vermittelter Deletion von Dicer (*Dicer^{MYEL}KO*) keine Veränderungen in Monozyten-, Makrophagen- und Neutrophilen-Populationen *in vivo* gab, lag in *Dicer^{f/f}Mx-Cre*-Mäusen im Vergleich zum Wildtyp eine signifikante Reduktion der peritonealen Makrophagen und peripheren Blut-Neutrophilen vor. *In vitro* konnte gezeigt werden, dass BMDMs in der Abwesenheit von Dicer differenzieren können. Die Zellzahlen waren allerdings niedriger als in Wildtyp-Kulturen beider Mausmodelle, was darauf hindeutet, dass miRNAs wichtig für die Entwicklung oder das Überleben der Zellen sind.

Nach *L.m.* Infektion in *Dicer^{f/f}Mx-cre*-Mäusen trat eine signifikante Reduktion der peritonealen Makrophagen und eine Erhöhung der Monozyten-Rekrutierung im Vergleich zum Wildtyp auf. Um zu überprüfen, dass diese Effekte basierend auf eingeschränkter miRNA Biogenese, und nicht aufgrund der Abwesenheit von anderen Dicer-abhängigen nicht-kodierenden RNAs entstehen, wurde die Immunantwort in *DGCR8^{f/f}Mx-cre*-Mäusen analysiert, bei denen nach der Verabreichung von polyI:C keine primären miRNA-Transkripte im Zellkern verarbeitet werden. Unsere vorläufigen Daten bestätigen, dass *Mx1cre*-vermittelte DGCR8 Deletion nach *L.m.*-Infektion in Ablation von Peritoneal-Makrophagen resultiert. Dies deutet daraufhin, dass miRNAs die myeloide Zellentwicklung und/oder das Überleben regulieren.

Interessanterweise führte die Dicer Deletion zu einem signifikanten Anstieg der Zytokin-Produktion im Serum von infizierten *Dicer^{MYEL}KO* Mäusen. Daher ist es möglich, dass Dicer-abhängige miRNAs notwendig sind, um die Entzündungsreaktion gegen Listerien negativ zu regulieren. Weiterhin verursacht die Deletion von Dicer nach Infektion signifikant höhere Bakterienlasten in Milz und Leber. Im Gegensatz zu *Dicer^{MYEL}KO* Mäusen, konnten *Dicer^{f/f}Mx-Cre*-Mäuse nicht die systemische Infektion eliminieren,

was darauf hindeutet, dass die miRNA-Biogenese in Interferon-reaktiven hämatopoetischen Zellen für den Wirt lebenswichtig ist. Im Einklang mit dieser Beobachtung konnte gezeigt werden, dass die Dicer-Expression die Monozytenmigration in das Peritoneum von *L.m.* infizierten Mäusen reguliert. Diese Monozyten regulieren die Zytokinproduktion und Initiation der adaptiven Immunität, die für die Elimination der Infektion erforderlich ist.

Schließlich wurde die Rolle der Dicer-abhängigen miRNA-Biogenese in Mastzellen nach Mcpt5-vermittelter Dicer Deletion *in vivo* im Rahmen eines Kollaborationsprojekts untersucht. Dicer^{fl/fl}Mcpt5-cre Mäuse weisen eine fast vollständige Abwesenheit von Bindegewebs-Mastzellen auf. Vorangegangene Experimente zeigten, dass Dicer ein wichtiger Regulator der Mastzellentwicklung ist (Förster et al., 2015). Dieses neue spezifische Mastzell-defiziente Mausmodell ist in der vorliegenden Studie verwendet worden, um die Auswirkungen der Abwesenheit von Mastzellen auf Wirt-Pathogen-Interaktionen zu untersuchen. Unsere Ergebnisse legen nahe, dass Mastzellen für die Elimination von *L.m.* *in vivo* entbehrlich sind.

Zusammengefasst deuten unsere Ergebnisse daraufhin, dass die kanonische miRNA-Biogenese für die myeloide Zellentwicklung und Funktion notwendig ist und deren Defizit eine Störung der Homöostase und Immunität zur Folge hat.