

Abstract

Fibrosis is a multifactorial condition characterized by excessive accumulation of extracellular matrix proteins, leading to tissue remodeling and scarring. As the condition progresses, it compromises organ function and can lead to organ failure. Fibrosis-related diseases account for approximately 18 % of global mortality, with chronic pulmonary and liver diseases being predominant. Current therapeutic options are limited by efficacy and adverse effects, highlighting a persistent unmet medical need. Recently, microRNAs (miRNAs) have emerged as promising therapeutic candidates due to their ability to regulate diverse target genes. One specific miRNA, the miR-29 family, has been extensively studied for its antifibrotic potential and emerging anti-inflammatory and regenerative properties. However, its mechanistic multitargeting potential and pharmacodynamics in lung and liver fibrosis remain elusive. This study investigated the efficacy of adeno-associated virus (AAV) and lipid nanoparticle (LNP) delivery systems for the localized and targeted administration of miR-29 *in vitro* and *in vivo*, aiming to enhance tissue-specific exposure while minimizing systemic and adverse effects. Our findings demonstrate that AAVs and LNPs serve as effective vectors for organ-specific miRNA delivery, with considerable results observed utilizing an AAV-miR-29b approach in a murine pulmonary fibrosis model. However, based on the data obtained, an LNP-specific approach was pursued. Comprehensive multi-omics analyses were utilized to assess cellular and target-specific treatment effects, elucidating the impact of LNP-miR-29b on the multifactorial pathobiology of liver fibrosis. Importantly, preventive treatment with LNP-miR-29b exhibited significant efficacy in mice with CCl₄-induced liver fibrosis, resulting in marked reductions in fibrosis, alleviation of inflammation, and improved liver function. The effectiveness of targeted LNP-miR-29b therapy was demonstrated, providing novel insights into the extensive biological treatment effects on a multi-omic level. Furthermore, the study revealed a cell-specific role of miR-29b on portal myofibroblasts, potentially through regulating collagen type XV. Additionally, the established organ-on-a-chip system derived from MASH patients and healthy livers offers a promising platform for developing advanced therapeutic strategies, including validating and further exploring targeted LNP-miR-29b therapy.

In summary, this research lays the foundation for future therapeutic advancements of targeted LNP-miR-29b therapy as an innovative polypharmacological strategy that addresses the unmet medical need for patients suffering from fibrosis-associated diseases.

Zusammenfassung

Fibrose ist eine multifaktorielle Erkrankung, die durch eine übermäßige Anhäufung von extrazellulären Matrixproteinen gekennzeichnet ist und zu Gewebeumbau und Narbenbildung führt. Mit dem Fortschreiten der Erkrankung wird die Organfunktion beeinträchtigt und kann zu Organversagen führen. Fibrose-bedingte Erkrankungen sind für etwa 18 % der weltweiten Sterblichkeit verantwortlich, wobei chronische Lungen- und Lebererkrankungen überwiegen. Die derzeitigen therapeutischen Optionen sind in Bezug auf Wirksamkeit und Therapietreue der Patienten begrenzt, was auf einen anhaltenden ungedeckten medizinischen Bedarf hinweist. In jüngster Zeit haben sich microRNAs (miRNAs) aufgrund ihrer Fähigkeit, verschiedene Zielgene zu regulieren, als vielversprechende therapeutische Kandidaten erwiesen. Eine bestimmte miRNA, die miRNA-29-Familie, ist wegen ihres antifibrotischen Potenzials und ihrer sich abzeichnenden entzündungshemmenden und regenerativen Eigenschaften eingehend untersucht worden. Ihr mechanistisches Potenzial eine Vielzahl der krankheitsrelevanten Prozesse zu beeinflussen und ihre Pharmakodynamik in Lungen- und Leberfibrose sind jedoch noch nicht genau erforscht.

In dieser Arbeit wurde die Wirksamkeit von Verabreichungssystemen mit Adeno-assoziierten Viren (AAV) und Lipid-Nanopartikeln (LNP) für die lokalisierte und gezielte Verabreichung von miR-29 *in vitro* und *in vivo* untersucht, um die gewebespezifische Exposition zu verbessern und gleichzeitig systemische und unerwünschte Nebenwirkungen zu minimieren. Unsere Ergebnisse zeigen, dass AAVs und LNPs als wirksame Vektoren für die organspezifische miRNA-Verabreichung dienen. Ein AAV-miR-29b Ansatz konnte zudem vielversprechende Ergebnisse in einem Lungenfibrose-Modell der Maus liefern. Auf der Grundlage von allen gewonnenen Daten wurde jedoch ein LNP-spezifischer Ansatz verfolgt. Umfassende Multi-Omics-Analysen wurden eingesetzt, um die zellulären und zielspezifischen Behandlungseffekte zu bewerten und die Auswirkungen von LNP-miR-29b auf die multifaktorielle Pathobiologie der Leberfibrose zu klären. Besonders hervorzuheben ist hierbei, dass die präventive Behandlung mit LNP-miR-29b bei Mäusen mit CCl₄-induzierter Leberfibrose eine signifikante Wirksamkeit zeigte und zu einer deutlichen Verringerung der Fibrose, einer Linderung der Entzündung und einer Verbesserung der Leberfunktion führte. Die Wirksamkeit der gezielten LNP-miR-29b-Therapie wurde nachgewiesen und lieferte neue Erkenntnisse über die umfassenden biologischen Behandlungseffekte auf multi-omischer Ebene. Darüber hinaus zeigte die Arbeit neue zellspezifische Effekte von miR-29b auf portalen Myofibroblasten, möglicherweise durch eine Regulierung von Kollagen Typ XV.

Die Etablierung eines Leber-on-Chip-Modells, mit Zellen aus gesunden Lebern und von Patient:innen, die an einer metabolischen Dysfunktion-assoziierten Steatohepatitis leiden, stellt zudem eine vielversprechende Plattform für die Entwicklung fortschrittlicher therapeutischer Strategien dar. Dies inkludiert die Validierung und weitere Erforschung einer gezielte LNP-miR-29b-Therapie.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass diese Forschungsarbeit den Grundstein für zukünftige therapeutische Fortschritte der gezielten LNP-miR-29b-Therapie als innovative polypharmakologische Strategie legt, die dem ungedeckten medizinischen Bedarf von Patient:innen mit Fibrose-assoziierten Erkrankungen gerecht wird