

Abstract

The transcription factor forkhead box O3 (FOXO3a) orchestrates several evolutionary preserved biological processes including longevity, cell metabolism, survival and inflammation in a context-specific manner. Recently, a gain of function single nucleotide polymorphism (SNP) has been strongly correlated with human longevity and cardiovascular diseases. Besides, *Foxo3a* has been shown to play a critical role in the immune response by attenuating NK cell responses and differentiation in a murine model of virus-induced myocarditis. Moreover, FOXO3a inhibits hypertrophic responses in cardiac myocytes due to the activation of atrogenic genes. Based on these important functions, we hypothesized that *Foxo3a* coordinately regulates inflammation and cardiac remodeling after myocardial infarction (MI) in mice. Mice with a deficiency in *Foxo3a* showed similar infarct injury but a significant increase in survival compared to wild-type littermates after MI. The advantage in survival was in part due to lower frequencies of cardiac rupture and sudden cardiac death. The deficiency of *Foxo3a* in mice exhibited an altered immune reaction by an enhanced accumulation of reparative Ly6C^{lo} macrophages in the myocardium independently of infarct size. In line with these observations, single nucleus RNA-sequencing identified differentially expressed, i.e. upregulated, target genes important for cardiac remodeling and fibrosis. In addition to reparative remodeling macrophages, transdifferentiation of fibroblasts into myofibroblasts was increased. The increased numbers of myofibroblasts in *Foxo3a*^{-/-} mice were characterized by pro-fibrotic genes important for stabilizing cardiac matrix interactions in the acute phase of MI but leading to stiffening of the cardiac tissue with systolic and diastolic dysfunction later on. These findings suggest that a deficiency of *Foxo3a* might protect the heart in the acute phase of MI due to accelerated cardiac remodeling but also develop adverse remodeling which impaired heart function later on. Further, our *in vitro* studies provide an important function of FOXO3a downstream of AMPK signaling. Aspirin, a commonly used drug in the treatment of atherosclerotic cardiovascular disease (ASCVD), was able to activate FOXO3a on the consensus AMPK phosphorylation site thereby down-regulating ROS generation in human endothelial cells. Our findings suggest *Foxo3a* as a master regulator of immune modulation and cardiac remodeling after MI and enrich our understanding of how the mobilization of macrophages and matrix genes contribute to efficient healing, and how *Foxo3a* influences cardiac tissue repair in MI.

Zusammenfassung

Der Transkriptionsfaktor Forkhead Box O3 (FOXO3a) steuert speziesübergreifend und kontextspezifisch evolutionär erhaltene grundlegende biologische Prozesse, wie Langlebigkeit, Zellstoffwechsel und Entzündungen. Kürzlich wurde ein Einzelnukleotid-Polymorphismus (SNP) im *Foxo3a*-Gen stark mit der Langlebigkeit und dem Auftreten von Herz-Kreislauf-Erkrankungen korreliert. Außerdem hat sich gezeigt, dass *Foxo3a* eine entscheidende Rolle bei der Immunantwort in einem Modell der murinen viralen Myokarditis sowie bei der Regulation der Zellgröße von Kardiomyozyten spielt. Aufgrund dieser wichtigen Funktionen wurde die Hypothese aufgestellt, dass *Foxo3a* die Entzündung und das kardiale Remodeling nach akutem Herzinfarkt bei Mäusen koordiniert reguliert. Mäuse mit einem Mangel an *Foxo3a* zeigten eine ähnliche Infarktschädigung, aber einen signifikanten Überlebensvorteil im Vergleich zu den Wildtyp-Mäusen nach MI. Der Überlebensvorteil war zum Teil auf eine geringere Häufigkeit von Herzrupturen und plötzlichen Herztod zurückzuführen. Der Mangel an *Foxo3a* in Mäusen zeigte eine veränderte Immunreaktion durch eine verstärkte Anhäufung von reparativen Ly6C^{lo}-Makrophagen im Herzen, unabhängig von der Infarktgröße. In Übereinstimmung mit diesen Beobachtungen identifizierte die RNA-Sequenzierung einzelner Kerne differenziell exprimierte, d. h. hochregulierte Gene, die für den kardialen Umbau wichtig sind. Zusätzlich zu den reparativen Makrophagen war die Transdifferenzierung von Fibroblasten zu Myofibroblasten erhöht. Der erhöhte Anteil an Myofibroblasten in *Foxo3a*^{-/-} Mäusen war durch pro-fibrotische Gene gekennzeichnet, die für die Stabilisierung der kardialen Matrixinteraktionen in der akuten Phase des MI wichtig sind, aber später zu einer Versteifung des Herzgewebes mit systolischer und diastolischer Dysfunktion führen. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass ein Mangel an *Foxo3a* das Herz in der akuten Phase des Infarkts aufgrund eines beschleunigten kardialen Remodelings schützen könnte, aber auch zu einem ungünstigen Remodeling führt, welches die Herzfunktion später beeinträchtigt. Darüber hinaus belegen unsere In-vitro-Studien eine wichtige Funktion von FOXO3a in der AMPK-Signalgebung. Aspirin konnte FOXO3a an der AMPK-Konsensus-Phosphorylierungsstelle aktivieren und dadurch die ROS-Bildung in Endothelzellen herunterregulieren. Unsere Ergebnisse deuten darauf hin, dass *Foxo3a* ein Hauptregulator der Immunmodulation und des kardialen Remodelings nach Herzinfarkt ist und bereichern unser Verständnis darüber, wie Makrophagen und Matrigene zu einer effizienten Heilung beitragen.