



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

Charakterisierung alternativ aktivierter Makrophagen

Autor: Franziska Koll
Institut / Klinik: Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. A. Schmieder

Makrophagen können durch ihre Heterogenität und Plastizität vielfältige Aufgaben *in vivo* ausüben. Um diese zum Teil gegensätzlichen Funktionen ausführen zu können, bedarf es unterschiedlicher Phänotypen. Grob lassen sich Makrophagen in die proinflammatorischen, klassisch aktivierten M1-Makrophagen und die antiinflammatorischen, alternativ aktivierten M2-Makrophagen unterteilen. Unter Th1-Stimuli wie IFN- γ und LPS entstehen M1-Makrophagen, die sich durch eine hohe Produktion von IL-12, IL-1, IL-6 sowie iNOS auszeichnen. Im Gegensatz dazu entsteht der M2-Phänotyp bei Stimulation mit Glukokortikoiden, IL-10 oder Th2-Zytokinen wie IL-4. M2-Makrophagen weisen eine hohe IL-10- und eine niedrige IL-12-Produktion auf. Zudem exprimieren sie Arginase und Scavengerrezeptoren. Sie sind vor allem an der Wundheilung und als M2-ähnliche Tumor-assoziierte Makrophagen auch an der Tumorprogression beteiligt.

Ziel dieser Arbeit ist die Charakterisierung des spezifischen Genexpressionsprofils alternativ aktivierter Makrophagen. Dazu wurde ein *in vitro*-Modell von Blutmonozyten (PBMZ) genutzt. Mittels Microarray-Analysen wurde das Genexpressionsprofil von PBMZ, die mit M-CSF, Dexamethason und IL-4 (PBMZ_(Dexa/IL-4)) stimuliert wurden, mit dem von PBMZ, die nur mit M-CSF (PBMZ_(M-CSF)) stimuliert wurden, verglichen. Insgesamt zeigten dabei 3256 Gene eine differentielle Regulation. Im Anschluss wurden diese mittels einer bioinformatischen KEGG-Signalweg-Analyse ausgewertet. Da sich besonders viele der differentiell regulierten Gene im KEGG p53-, Kolorektales-Karzinom- (CRC), Chronisch-myeloische-Leukämie- (CML) und Wnt-Signalweg fanden, wurde die Expression dieser Gene daraufhin durch Polymerasekettenreaktion (PCR) und quantitative Real-time-PCR validiert.

Für den p53-Signalweg fand sich eine signifikante Hochregulation von TP53, CCNG1 und Siah1. In Einklang mit bisherigen Studien zeigt sich somit wohl eine im Vergleich zu M1-Makrophagen niedrigere Hochregulation von p53, die durch das starke negative Feedbacksignal durch CCNG1 und Siah-1 bedingt sein könnte. Steap3 und Kai1 sind signifikant herunterreguliert und weisen somit auf den Einfluss anderer Signalwege hin. Die Herunterregulation von Kai1 könnte durch die Förderung der Migration und der Angiogenese entscheidend für die Funktionen der M2-Makrophagen sein.

Im CRC-Signalweg zeigte sich eine signifikante Hochregulation von PIK3R4, wodurch die zelluläre Homöostase und die adäquate immunologische Funktion der Makrophagen gefördert werden könnte. Die von uns nachgewiesene signifikante Hochregulation von Smad4 in PBMZ_(Dexa/IL-4) könnte für eine Aktivierung des TGF β -Signalwegs in alternativ aktivierten Makrophagen sprechen.

Im CML-Signalweg waren Bcl-xl und Myc signifikant hochreguliert. Bcl-xl wirkt antiapoptotisch und könnte somit einen allgemeinen Aktivierungsmarker darstellen. Im Gegensatz dazu scheint die Überexpression von Myc ein charakteristisches Merkmal alternativ aktivierter Markophagen zu sein, da Myc zudem direkt oder indirekt die Expression zahlreicher M2-Markergene und VEGF induziert.

Die Hochregulation der Calcineurin-Untereinheiten PPP3CC und PPP3R1 in PBMZ_(Dexa/IL-4) spricht für eine Aktivierung des Wnt-Calcium-Signalwegs. Über die Hemmung der NF κ B-Aktivität könnte Calcineurin die proinflammatorischen Funktionen der Makrophagen unterdrücken. Die signifikante Hochregulation von Daam1 könnte durch den Einfluss auf den Phagozytoseprozess ein allgemeines Aktivierungsmerkmal von Makrophagen darstellen.

Für den kanonischen Wnt-Signalweg zeigten sich in PBMZ_(Dexa/IL-4) sowohl fördernde Einflüsse wie die Hochregulation von FZD1 als auch inhibierende wie die Hochregulation von Senp2, GSK3 β und NLK, was auf eine fein abgestimmte Regulation hinweist. NLK könnte zudem über seine hemmende Wirkung auf den Notch-Signalweg entscheidend zur Generierung eines M2-Phänotyps beitragen.

Zusammenfassend lässt sich somit sagen, dass durch die Ergebnisse dieser Doktorarbeit bereits wichtige Veränderungen der Genexpressionsregulation in alternativ aktivierten Makrophagen aufgedeckt wurden. Diese sollten nun in weiterer Folge auch auf Proteinebene bestätigt werden.