



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

## **Die Charakterisierung von Tumor-assoziierten Makrophagen**

Autor: Andrea Sauer  
Institut / Klinik: Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie  
Doktormutter: Priv.-Doz. Dr. A. Schmieder

Tumore setzen sich aus neoplastischen Zellen und einem eigenen Tumor-spezifischen Stroma zusammen. Dieses Tumorstroma besteht neben Fibroblasten, Blut- und Lymphgefäßen auch aus Zellen des angeborenen Immunsystems. 50% der Tumor-assoziierten Immunzellen stellen Tumor-assoziierte Makrophagen (TAM) dar. Makrophagen lassen sich in proinflammatorische, klassisch aktivierte Makrophagen (M1) und alternativ aktivierte, antiinflammatorische Makrophagen (M2) unterteilen. Unter Th1-Stimuli wie IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  und LPS entstehen M1-Makrophagen, die durch eine hohe Produktion von IL-12, IL-23, IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , CXCL-10, sowie MHC Klasse I und II Molekülen, iNOS und Komplementfaktoren gekennzeichnet sind. M2-Makrophagen zeichnen sich durch eine hohe Produktion von IL-10, Mannose- und Scavenger-Rezeptoren und eine niedrige Produktion von IL-12 aus.

Neoplastische Zellen locken Blutmonozyten ins Tumorstroma, wo sie überwiegend in alternativ-aktivierte, entzündungshemmende M2-Makrophagen differenzieren, welche die Tumorangio-genese, Tumorzellinvasion und Metastasierung fördern. TAM repräsentieren somit ein attraktives Target für eine zielgerichtete Immuntherapie. Daher ist eine Charakterisierung der TAM-Phänotypen, die sich je nach Tumorentität unterscheiden, fundamental.

Ziel dieser Arbeit ist die *in vitro* Charakterisierung von TAM im Melanom und Mammakarzinom. Dafür wurde ein *in vitro*-TAM-Modell generiert, welches sich eignet die Wirkung löslicher Faktoren der jeweiligen Tumorzellen auf die Genexpression von Knochenmarksmakrophagen (KMM) zu analysieren. Mittels der Microarray-Technologie wurde anhand dieses Modells das Genexpressionsmuster dreier Stimulationen der Knochenmarksmakrophagen analysiert: KMM stimuliert mit M-CSF, KMM stimuliert mit M-CSF und Tumor-konditioniertem Medium (TCM) der Melanomzelllinie B16F1 und KMM stimuliert mit M-CSF und dem TCM der Mammakarzinomzelllinie TS/A. Es konnten 220 Gene induziert durch das B16F1-TCM und 148 Gene induziert durch das TS/A-TCM mit einem Fold change (FC)  $\geq 2$  detektiert werden. Um besonders stark hochregulierte Gene zu erfassen, wurden lediglich Gene mit einem FC  $\geq 7$  in dieser Arbeit weiter untersucht. Ferner erfolgte eine Auswahl der Gene anhand einer Fold Change Ratio ( $R_{FC}$ )  $\geq 2$ .

Die Ergebnisse der Microarrays wurden anhand von Real-Time-PCR (RT-PCR) und quantitativer RT-PCR (qRT-PCR) validiert. Dabei wurden die extrazellulären Matrixproteine ADAM-8, Ecm1 und Fibronectin1 signifikant durch das TS/A-TCM, der Scavenger-Rezeptor Marco, Mmp14, Pilra und Slamf-9 hingegen signifikant durch das B16F1-TCM in KMM induziert. Die spezifische differenzielle Regulation der letztgenannten sieben Gene konnte somit mittels Microarray-Analyse, RT-PCR sowie qRT-PCR bestätigt werden. Verschiedene Studien suggerieren, dass das kaum erforschte Gen Slamf-9, sowie der Scavenger-Rezeptor Marco und Pilra die Polarisierung zu M2-Makrophagen im malignen Melanom unterstützen könnten. Die Induktion der bekannten Matrixmetalloproteinase Mmp14 könnte die Invasion von malignen Melanomzellen begünstigen. Das B16F1-TCM scheint folglich einen immunsuppressiven Makrophagenphänotyp zu induzieren. Dies ist mit den aktuellen Therapien des malignen Melanoms vereinbar. Seit kurzem werden in der Therapie des malignen Melanoms Immun-Checkpoint-Inhibitoren wie Antikörper gegen CTLA-4, PD-1 und PD-L1 verwendet.

Das TS/A-TCM scheint im Vergleich einen proangiogenen Makrophagenphänotyp zu induzieren. ADAM-8 führt zur Freisetzung von VEGF-A und Fibronectin1 verankert VEGF-A in der extrazellulären Matrix. Studien weisen daraufhin, dass Ecm1 ebenfalls die Tumorangio-genese unterstützen könnte. Diese Ergebnisse spiegeln sich in der aktuellen Therapie des metastasierten Mammakarzinoms wieder. Hier werden Angiogeneseinhibitoren eingesetzt.

Zusammenfassend lässt unser *in vitro*-Tam-Modell eine Zellkontakt-unabhängige Kommunikation zwischen Tumorzellen und Tumor-assoziierten Makrophagen vermuten. Im weiteren Verlauf wäre es wünschenswert die Induktoren der gefundenen Gene zu identifizieren, da sie sich als Target zielgerichteter Immuntherapien eignen könnten.