

---

Fang Liu

Dr. med.

Tumor-Associated Macrophages In Meningioma

Fach: Neurochirurgie

Doktormutter: Prof. Dr. rer. nat. Christel Herold-Mende

Meningiomas are the second most common primary intracranial tumor in adults, accounting for 15-20 % of all intracranial tumors. Unfortunately, to date the prediction of prognosis of meningioma, especially for atypical and malignant meningioma, still remains challenging. Tumor-infiltrating macrophages are known to elicit an adverse influence on patient outcome in many solid tumors like glioblastoma and breast cancer. Therefore, we evaluated the infiltration of CD68<sup>+</sup> TAM and their polarization regarding the M2 phenotype in the to our knowledge largest meningioma study cohort (n = 195) with a special focus on the rare atypical (n = 95) and malignant (n = 57) meningiomas. To this end, we used state-of-the-art methods, including multichannel immunofluorescence staining, whole slide imaging and software based objectified counting of macrophages and determination of their polarization. Thereby, we were able to confirm that not only CD68<sup>+</sup> TAM infiltration in general but also the tumor infiltration of the immunosuppressive subset of M2-polarized TAM, were predictive factors of progression-free survival in primary meningioma, independent of the WHO grade, the patients age, and gender. Furthermore, a higher density and M2 polarization of TAM was found to be associated with more aggressive WHO grades in meningioma. We also demonstrated that the infiltration of CD68<sup>+</sup> TAM was age- as well as recurrence-dependent. By using mRNA microarray analysis, we confirmed that the previously in glioma established immunofluorescence staining of the TAM marker CD68 and the M2 polarization markers CD163 and CD204 could be used to select samples which showed a significant enrichment of already published macrophage and M2 gene signatures. Finally, luminex cytokine analysis indicated that the levels of IL-1 $\beta$ , IL-1RA and Eotaxin were remarkably higher in samples with a high infiltration of CD68<sup>+</sup> TAM.

---

In conclusion, high levels of TAM infiltration and especially an infiltration of M2-polarized TAM, seem to be independent prognostic markers of progression-free survival in primary meningioma.

---

## Zusammenfassung

Meningeome stellen die zweithäufigste primäre intrakranielle Tumorerkrankung bei Erwachsenen dar. Während benigne WHO°I Meningeome gut behandelbar sind, stellt die Therapie der atypischen (WHO°II) und malignen (WHO°III) Meningeome eine große Herausforderung dar. Es konnte bereits für verschiedene solide Tumore, wie Gliome oder Brustkrebs gezeigt werden, dass sich eine erhöhte Infiltration von Tumor-assoziierten Makrophagen (TAM) negativ auf Verlauf der Tumorerkrankung auswirkt. In der hier vorliegenden Arbeit wurde deshalb untersucht, inwieweit die TAM-Infiltration als prognostischer Faktor herangezogen werden kann. Hierfür wurden modernste Analyseverfahren eingesetzt, wie die Mehrfach-Immunfluoreszenzfärbung, das „Whole-Slide-Imaging“ gesamter Gewebeschnitte und eine automatisierte softwaregestützte Quantifizierung der positiven Zellen. Die gesamten Analysen wurden an dem, nach unserem Kenntnisstand, aktuell größten Kollektiv von Meningeomgeweben (n = 195) durchgeführt. Dieses Kollektiv beinhaltet eine vergleichsweise hohe Anzahl an den seltenen atypischen (n = 95) und malignen (n = 57) Meningeomen. Unsere Analysen zeigten, dass sowohl eine hohe Infiltration von TAM im Allgemeinen als auch eine verstärkte Infiltration von M2-polarisierten Makrophagen als prognostischer Marker für das progressionsfreie Überleben genutzt werden kann. Des Weiteren gehen erhöhte M2-TAM Infiltrationslevel mit höheren WHO-Graden, einem höheren Erstdiagnosealter, als auch einer erhöhten Rezidivierungsrate einher. Zudem bestätigen die Ergebnisse, dass sowohl der bereits in Gliomen verwendete TAM-Marker CD68 als auch die M2-TAM-Marker CD163 und CD204 valide Ergebnisse erzeugen. Dabei konnten wir in unseren Microarray-Transkriptom-Daten eine Anreicherung von bereits publizierten Gensignaturen in Tumorproben mit erhöhter TAM-Infiltration bzw. M2-polarisierter TAM feststellen. Abschließend konnte mittels Cytokinanalysen bestätigt werden, dass in Meningeomen, die stark von CD68<sup>+</sup> TAM infiltriert sind, signifikant höhere Konzentrationen der Cytokine IL-1 $\beta$ , IL-1RA und Eotaxin nachweisbar sind.

---

Zusammenfassend konnte in der hier vorliegenden Arbeit gezeigt werden, dass sowohl eine hohe Infiltration an CD68<sup>+</sup> TAM als auch eine hohe Infiltration an M2-polarisierten TAM als prognostischer Marker für das progressionsfreie Überleben von Meningeompatienten herangezogen werden können.