

Joscha Alexander Kraske

Dr. med.

Molecular mechanisms of radiotherapy-induced immune cell chemotaxis in cancer

Einrichtung: Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ)

Doktorvater: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Peter E. Huber

Krebs ist eine komplexe Krankheit, die für den Tod von mehreren Millionen Menschen pro Jahr verantwortlich ist. Eine zentrale Eigenschaft von Krebszellen ist ihre Fähigkeit sich der Kontrolle des Immunsystems zu entziehen. Die Einführung der Immuntherapie, mit dem Ziel das körpereigene Immunsystem bei der Tumorbekämpfung zu unterstützen, hat bereits vielen Krebspatienten geholfen und die Bedeutung einer wirksamen Immunantwort für die Tumorkontrolle bewiesen. Insgesamt profitiert dennoch nur eine Minderheit der Patienten von den aktuell klinisch eingesetzten Immuntherapien. Ein Grund hierfür ist das immunsuppressive Tumormikromilieu mit einem Mangel an infiltrierenden Immuneffektorzellen. Die Strahlentherapie ist eine etablierte und häufig eingesetzte Behandlungsform in der Krebsmedizin und verändert das lokale Tumormikromilieu, unter anderem durch Beeinflussung des Immuninfiltrats, mit Auswirkungen auf die Anti-Tumor Immunantwort.

Um molekulare Mechanismen der strahleninduzierten Chemotaxis von Immunzellen zu entdecken, habe ich humane Krebszelllinien und frisch isolierte menschliche Immunzellen *in vitro* beziehungsweise *ex vivo* untersucht. Zur Erforschung spezifischer Effekte auf Krebszellen habe ich Zelllinien mit unterschiedlichem biologischem Hintergrund mit Photonen oder Partikeln bestrahlt und anschließende Auswirkungen auf Seneszenz, Chemokinsekretion und Immunzellmigration gemessen. Um die strahleninduzierten Effekte auf die Interaktion von Krebszellen mit aus Monozyten geneierten Makrophagen zu untersuchen, etablierte ich ein geeignetes Co-Kulturmodell und analysierte die Auswirkungen der Strahlentherapie auf den Makrophagenphänotyp, die Chemokinfreisetzung und die Migration von Leukozyten.

In meiner Arbeit konnte ich zeigen, dass Bestrahlung mit moderaten bis hohen Dosen Seneszenz und den Seneszenz-assoziierten sekretorischen Phänotyp in menschlichen Krebszelllinien aktiviert, was sich auf die Freisetzung von Chemokinen

und die Rekrutierung von Immunzellen auswirkt. In meinen Experimenten beobachtete ich sowohl Gemeinsamkeiten bezüglich der strahleninduzierten Chemokine, wie zum Beispiel die erhöhte Sekretion von CCL5 und CXCL8 in verschiedenen Zelllinien, als auch Zelllinien-spezifische Effekte. Dementsprechend zeigte die Anlockung von Immunzellen durch senescente Krebszellen ebenfalls gemeinsame Aspekte, wie die verstärkte Migration von CD56^{dim} NK-Zellen, sowie zelllinienabhängige Unterschiede. Weiterhin konnte ich zeigen, dass die beschriebenen Effekte auch bei Partikelbestrahlung eintreten. Hierbei zeigten physikalisch äquivalente Dosen von Kohlenstoffionen höhere Raten von Seneszenzinduktion, Chemokinfreisetzung und Immunzellrekrutierung.

Des Weiteren fand ich heraus, dass Strahlentherapie die Polarisierung von Makrophagen, die sich in Kontakt mit Krebszellen befinden, beeinflusst, mit daraus resultierenden Auswirkungen auf die Anlockung von Immunzellen. In Co-Kultur mit Krebszellen erwarben Makrophagen einen immunsuppressiven Phänotyp. Nach Bestrahlung jedoch, zeigten co-kultivierte Makrophagen eine veränderte Gensignatur und exprimierten vermehrt costimulatorische Moleküle auf ihrer Zelloberfläche. Dies ging mit der Freisetzung löslicher Faktoren einher, die eine gerichtete Migration menschlicher T-, NKT- und NK-Zellen auslösten. Durch Analyse der sezernierten Chemokine, entdeckte ich eine spezifische Hochregulation von CXCL10 in co-kultivierten Makrophagen nach Bestrahlung. Die experimentelle Neutralisierung von CXCL10 hob die chemotaktische Wirkung der Bestrahlung auf CXCR3-positive CD4-T-Zellen, CD8-T-Zellen, NKT-Zellen und NK-Zellen in meinem Co-Kulturmodell auf. Folglich konnte ich die CXCL10-CXCR3-Achse als wichtigen molekularen Mechanismus für die von Makrophagen getriebene Rekrutierung von Immunzellen nach Bestrahlung nachweisen.

Zusammenfassend habe ich in meiner Arbeit zwei Mechanismen identifiziert, durch die Strahlentherapie zu einer verbesserten Rekrutierung von Immunzellen beitragen kann. Zum einen durch Chemokine, welche direkt von bestrahlten Krebszellen freigesetzt werden, welche den Seneszenz-assoziierten sekretorischen Phänotyp annehmen. Zum anderen durch strahlungsinduzierte Krebszell-Makrophagen-Interaktionen welche zur Produktion von CXCL10 durch Makrophagen führen. Meine Ergebnisse verbessern unser Verständnis darüber, wie die Strahlentherapie das lokale Mikromilieu des Tumors durch Chemokin-Signalwege beeinflussen kann. In der Ära der Immuntherapie haben diese Erkenntnisse wichtige klinischen Implikationen.