

Zusammenfassung

Ein zentrales Problem in der derzeitigen Behandlung von B Zell Erkrankungen ist die Resistenz gegen Chemotherapie Behandlungen. Erst in den vergangenen zwei Jahrzehnten wurde erstmals die große Bedeutung des Tumormikromilieus für Krankheitsprogression und Gesamtüberleben aufgezeigt. Bis heute sind die genauen mechanistischen Abläufe allerdings weitgehend unbekannt. Das Tumormikromilieu besteht aus vielen verschiedenen Arten von Zellen, die je nach Tumor Art stark variieren und entweder den Krankheitsfortschritt oder ein Rezidiv unterstützen oder genutzt werden können, um eine Anti-Tumor Antwort zu induzieren. Im Tumormikromilieu der meisten Tumore sind Makrophagen in hoher Anzahl vertreten und als Tumor-assoziierte Makrophagen (TAM) meist mit einer schlechten Krankheitsprognose verbunden.

Unlängst konnten wir zeigen, dass Makrophagen ein essentieller Bestandteil der synergistischen Antwort auf die Verabreichung des DNS schädigenden Chemotherapeutikums Cyclophosphamide und des mononukleären Antikörpers Alemtuzumab sind. Diese Kombinationsbehandlung führte zu einer deutlich höheren Beseitigung der Tumorzellen und daraus folgend zu einem stark verlängerten Gesamtüberleben in dem hier benutzten refraktären humanisierten BCL2-MYC „Doppel-Hit“ hMB Lymphom Mausmodell.

Der durch das Cyclophosphamide verabreichte Stresseffekt induziert in den leukämischen Zellen die Sekretion einer bestimmten Kombination von Zytokinen, die unter anderem VEGF-A, CCL4, IL8, IL10 und TNF α beinhaltet. Diese wiederum bewirken bei den umliegenden Makrophagen eine „Repolarisation“ weg von einem supprimierenden hin zu einem aktivierten Phänotyp. Diesen Vorgang definieren wir als akut sekretorisch aktivierten Phänotyp (ASAP).

In dieser Arbeit zeigen wir zum ersten Mal die Bedeutung des DNS Beschädigungs Signalwegs für die Generierung des ASAP auf. Wir zeigen, dass die Deregulierung in Form von Herunterregulierung wichtiger Bestandteile dieses Signalweges wie ATM, DNA-PK oder p53 in den leukämischen Zellen den stimulierenden Effekt des ASAP auf die Phagozytose Kapazität der Makrophagen verhindert.

In diesem Zusammenhang hat vor allem p53 eine zentrale Bedeutung für die Regulation. *In vitro* Experimente mit dem hMB System, als auch mit CLL Patienten Zellen zeigen, dass Zellen mit einem herunterregulierten/mutierten p53 nicht in der Lage sind den Zytokin-vermittelten, Phagozytose stimulierenden Effekt zu induzieren, den die jeweiligen Kontrollen auf die Kombinationsbehandlung (Cyclophosphamide+Alemtuzumab) zeigen. Unterstützt wird diese Hypothese außerdem durch Versuche mit TCL1/p53^{wt/wt} und TCL1/p53^{-/-} Mäusen. Auch hier können TCL1/p53^{-/-} Mäuse nicht die Zytokin vermittelte Phagozytose Steigerung von Makrophagen aufweisen, wie sie bei TCL1/p53^{wt/wt} Mäusen als Reaktion auf Cyclophosphamide-Alemtuzumab Kombinationsbehandlung beobachtet wird.

Damit überbeinstimmend berichten auch klinische Studien, einen starken negativen Effekt von TP53^{mut} in CLL Patienten, die mit FC (Fludarabin+Cyclophosphamide) oder FCR

(Fludarabin+Cyclophosphamide+Rituximab) behandelt werden auf das progressionsfreie- als auch auf das Gesamtüberleben. Dies unterstreicht die potenzielle klinische Relevanz dieser Arbeit.

Des Weiteren kann hier gezeigt werden, dass der synergistische Effekt mechanistisch auf die Antikörper vermittelte Phagozytose beschränkt ist. Darüber hinaus kann die Makrophagen-Reprogrammierung nicht nur durch die sekretorische, Zytokin-vermittelte Wirkung der Leukämiezellen induziert werden, sondern auch durch direkte Effekte des Cyclophosphamides auf die Makrophagen. Dabei beobachten wir, dass dieser direkte Effekt auf niedrige Dosen beschränkt ist und die Makrophagen in ihrer Größe und Form verändert.

Zusammengenommen weisen wir die hier Bedeutung von p53 für die Generierung des ASAP in verschiedenen *in vitro* und *in vivo* Modellen auf. Durch den entdeckten direkten Effekt des Chemotherapeutikums auf die Makrophagen erhält der ASAP eine zusätzliche, höhere Komplexität, die nun beide Seiten der Interaktion miteinbezieht, die leukämischen Zellen, als auch die Makrophagen. Dies eröffnet ein weites Feld an Erforschungsmöglichkeiten, die wir weiter untersuchen möchten, um dadurch die genauen Mechanismen des ASAP und seines Regulators p53 zu entschlüsseln und so neue potenzielle Therapieansätze für refraktäre Patienten zu entwickeln.