

Zusammenfassung

Das nicht-kleinzellige Lungenkarzinom (NSCLC) gilt weltweit bei beiden Geschlechtern als eine der häufigsten und tödlichsten Krebserkrankungen. Obwohl in den letzten zwei Jahrzehnten erhebliche Fortschritte in der Therapie des NSCLC erzielt wurden, bleibt die Prognose weiterhin ungünstig, wobei die 5-Jahres-Überlebensrate lediglich bei etwa 20 % liegt. Vergleichbar mit anderen malignen Erkrankungen hat die starke Abhängigkeit des NSCLC vom Tumormikromilieu (TME) zunehmend an Bedeutung gewonnen, da das Zusammenspiel zwischen Tumorzellen und unterstützenden Zelltypen maßgeblich den Krankheitsverlauf bestimmt. Unter den vielfältigen zellulären und löslichen Komponenten haben tumorassoziierte Makrophagen (TAMs) besondere Aufmerksamkeit erlangt. Diese Zellen stellen einen der häufigsten Bestandteile des TME dar und beeinflussen nicht nur das Fortschreiten der Tumorzellen, sondern interagieren zudem mit weiteren Immunzellen und prägen so entscheidend die gesamte TME-Landschaft.

Die LYN-Kinase ist ein Mitglied der SRC-Familie von Tyrosinkinase (SFKs) und spielt nachweislich eine zentrale Rolle bei der Regulation der unterstützenden Funktion von TAMs im Kontext der chronisch lymphatischen Leukämie (CLL). In einem Kokultursystem aus CLL-Zellen und Makrophagen konnte gezeigt werden, dass der Verlust von LYN in Makrophagen die Überlebensfähigkeit von CLL-Zellen deutlich reduziert. Aufbauend auf der Verfügbarkeit von LYN-defizienten THP1-Makrophagen wurde in dieser Arbeit untersucht, ob LYN-knockout-Makrophagen auch im Kontext des NSCLC eine verminderte tumorfördernde Wirkung aufweisen. Hierzu wurde ein Panel von NSCLC-Zelllinien mit Wildtyp- (Wt) oder LYN-defizienten Makrophagen kokultiviert und anschließend mit einer Reihe funktioneller Assays analysiert.

Es konnte gezeigt werden, dass die Expression der LYN-Kinase in Makrophagen nach Stimulation mit konditioniertem Medium (CM) aus NSCLC-Zelllinien deutlich erhöht war. Dieses Ergebnis wurde durch Beobachtungen in klinischen NSCLC-Proben bestätigt, in denen Makrophagen in tumorproximalen Regionen sowohl auf RNA- als auch auf Proteinebene eine höhere LYN-Expression aufwiesen als Makrophagen aus tumordistalen Bereichen. Trotz variabler Reaktionen unterschiedlicher NSCLC-Zelllinien auf Makrophagen-CM konnte gezeigt werden, dass der Verlust von LYN in Makrophagen zu einer signifikanten Reduktion der Proliferation sowie der Invasions- und Migrationsfähigkeit von NSCLC-Zellen führte. In direkten Kokultorexperimenten, bei denen Zellen mit unterschiedlichen Fluoreszenzmarkern gekennzeichnet wurden, war die Anzahl der NSCLC-Zellen in Gegenwart von LYN-defizienten THP1-Makrophagen signifikant geringer als bei Wildtyp-Makrophagen. Diese Effekte konnten auch in Zelllinien murinen Ursprungs reproduziert werden. Translational zeigte das THP1-Makrophagenmodell jedoch keine relevanten Effekte bei pharmakologischer

Hemmung von Tyrosinkinasen wie LYN durch Tyrosinkinaseinhibitoren (TKIs). Im Gegensatz dazu konnten in primären Zellmodellen, insbesondere bei aus PBMCs differenzierten M2-Makrophagen, TKIs wie Dasatinib und Bafetinib die unterstützende Funktion der Makrophagen signifikant vermindern, was mit den Ergebnissen aus geneditierenden THP1-Zellen übereinstimmte.

Zur Aufklärung der zugrunde liegenden Mechanismen wurde ein Multi-Omics-Ansatz bestehend aus Transkriptom- und Proteomanalysen von NSCLC-Zellen nach Exposition gegenüber Makrophagen-CM durchgeführt. Die überlappenden Befunde zwischen verschiedenen Zelllinien zeigten ein konsistentes Muster, in dem eine Herunterregulation der mitochondrialen Translation und Aktivität in Zellen nach Behandlung mit CM aus LYN-defizienten THP1-Makrophagen beobachtet wurde. Dieses Phänomen liefert eine plausible Erklärung, da Mitochondrien nicht nur als Energiequelle der Zelle dienen, sondern auch über verschiedene Signalwege zelluläre Prozesse regulieren, unter anderem durch die Bildung von pro-tumoralen reaktiven Sauerstoffspezies (ROS), die als Nebenprodukte der oxidativen Phosphorylierung (OXPHOS) entstehen.

Zusammenfassend zeigen die in dieser Arbeit gewonnenen Daten, dass die LYN-Kinase in Makrophagen eine zentrale Rolle bei der Aufrechterhaltung ihrer tumorunterstützenden Funktion im NSCLC spielt. Diese Befunde sollen in zukünftigen Studien, insbesondere durch Transplantationsexperimente in Mausmodellen, weiter validiert werden.