

Summary

The modulation of immune responses is a critical event ensuring an adequate response against disease and infection while protecting the host from detrimental effects of an overacting immune system. An altered or absent regulation of the duration and amplitude of the response can cause chronic inflammation or can even lead to the formation of cancer. The response of the innate immune system takes place quickly within minutes after infection by evolutionary conserved mechanisms to recognize pathogens and to mount the immune response. In vertebrates the b-ZIP transcription factor Activating Transcription Factor 3 (ATF3) regulates amplitude and duration of Toll-Like-Receptor (TLR) mediated immune responses and the downstream chemokine and cytokine production. Its *Drosophila* ortholog Atf3 was recently shown to regulate metabolic and immune homeostasis. Loss of *atf3* leads to a phenotype resembling starvation and immune responses. In Attempt to discover a role Atf3 for blood cell development and the cellular innate immune response we studied the role of Atf3 in the *Drosophila* haematopoietic system and its blood cell types, the hemocytes. As we could show loss of *atf3* impairs the differentiation and function of *Drosophila* hemocytes. Phagocytosing plasmatocytes showed increased affinity to bind bacteria whereas crystal cells showed an insufficient ability to mediate the melanization response of the hemolymph. Additionally we found an altered metabolic behavior of the hemocytes which manifested in increased lipid storage and mitochondrial dysfunction caused by loss of *atf3*. Further we showed that Atf3 regulates hemocyte specific factors on a transcriptional level. Loss of *atf3* further lead to appearance of multinucleated hemocytes in circulation which are morphologically reminiscent of the Hodgkin-Reed Sternberg cells of classical Hodgkin's Lymphoma. Based on our analysis the reason for the multinucleation could be acytokinetic cell division as well as cell-cell fusion. Electron microscopy of the circulating hemocytes revealed an abnormal composition of the cytosolic compartments and an irregular organization of nuclear material. Loss of *atf3* further affects hemocyte differentiation and organ homeostasis in the lymph glands by enhancing hemocyte differentiation and impairing the maintenance and function of distinct lymph gland compartments. We further could show that the enhanced hemocyte differentiation in the lymph glands and the multinucleation of circulating hemocytes caused by loss of *atf3* can be rescued by systemic increase of IIS activity. The human ortholog ATF3 was capable of rescuing the multinucleation but not the enhanced differentiation in lymph glands. Taken together the data show a role of *Drosophila* Atf3 in the maintenance and homeostasis of the haematopoietic organ and a cell autonomous regulatory role of immune functions and metabolism of mature hemocytes for cellular innate immunity.

Zusammenfassung

Die Anpassung der Immunreaktion an eine Infektion stellt sicher, dass die Reaktion einerseits ausreichend ist um die Infektion zu bekämpfen und andererseits dass der Organismus vor einer Überreaktion des Immunsystems geschützt wird. Die inkorrekte Regulierung der Stärke oder Dauer der Reaktion kann zu chronischen Krankheiten oder auch Krebs führen. Das angeborene Immunsystem reagiert innerhalb von Minuten nach einer Infektion durch evolutionär konservierte Mechanismen der Erreger-erkennung und der Freisetzung der folgenden Immunreaktion. Der Transkriptionsfaktor Activating Transcription Factor 3 (ATF3) reguliert die Stärke und Dauer von Toll-Like-Rezeptor (TLR) abhängigen Immunreaktion und die darauf folgende Chemokin- und Cytokinproduktion. Kürzlich wurde gezeigt, dass *Drosophila* Atf3 sowohl die metabolische als auch die immunologische Homeostase beeinflusst. Der Verlust von *atf3* erzeugt einen Phänotypen, der einem gestörten Stoffwechsel als auch einer andauernden Immunreaktion ähnelt. Um zu analysieren, ob Atf3 in der Blutzellentwicklung und zellulären Immunantwort beteiligt ist, haben wir in dieser Studie die Funktion von Atf3 für das hämatopoetische System von *Drosophila* und deren Blutzellen, den Hemozyten, untersucht.

Wie wir zeigen konnten, beeinflusst Atf3 die Differenzierung und die Funktion der Hemozyten. Plasmatozyten, welche Pathogene phagozytieren, zeigten eine gesteigerte Affinität bakterielle Pathogene zu binden wohingegen Kristallzellen eine verringerte Fähigkeit zeigten, die Melanisierung der Hämolymphe auszulösen. Ausserdem fanden wir Hinweise darauf, dass der Verlust von *atf3* zu einem gestörten Metabolismus der Hemozyten führt, was sich an einer gesteigerten Lipideinlagerung und einem veränderten mitochondrialen Netzwerk zeigte. Des weiteren fanden wir heraus, dass Atf3 die Transkription der Hemozyten spezifischen Faktoren beeinflusst. Der Verlust von Atf3 führte ausserdem zur Entstehung multinkleärer Hemozyten, die morphologisch den Hodgkin-Reed Sternberg Zellen in Hodgkin's Lymphomen ähneln. Aufgrund unserer Daten könnte dieser Phänotyp durch fehlerhafte Zytokinese als auch durch Fusion zweier Zellen entstehen. Die Elektronenmikroskopische Analyse zeigte eine abnormale Zusammensetzung und Organisation des zellulären und nukleären Materials. Ausserdem konnten wir zeigen, dass der Verlust von *atf3* die Differenzierung der Hemozyten in den Lymphdrüsen beeinflusst und die Organisation und Funktion verschiedener Teile der Lymphdrüsen einschränkt. Wir konnten feststellen, dass sowohl die gesteigerte Differenzierung als auch der multinukleäre Phänotyp teilweise von der IIS Aktivität abhängig sind. Ebenso wie *Drosophila* Atf3 konnte auch humanes ATF3 die Entstehung der multinukleären Hemozyten in *atf3* verhindern wohingegen die Differenzierung der Hemozyten in den Lymphdrüsen nur durch Atf3 gerettet wurde. Die hier vorgestellten Resultate zeigen, dass Atf3 sowohl die Blutzellentwicklung als auch deren Immunrelevanten Funktionen und Stoffwechseleigenschaften beeinflusst.