

Hamburger Krebsgesellschaft - Abschlussbericht Projektförderung

Projektleiter: Dr. Jörg Schrader

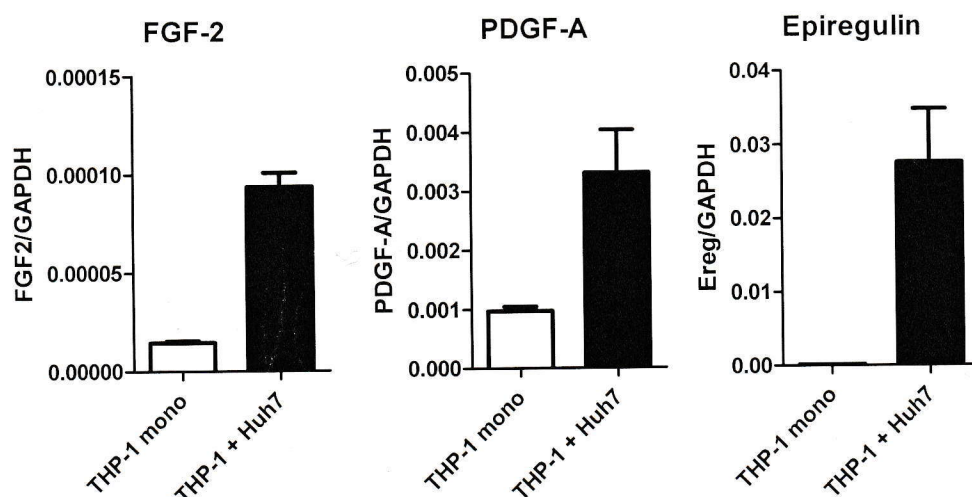
Projektlaufzeit: 01.02.2014 - 31.01.2015, verlängert bis zum 30.04.2015

Thema: Funktionelle Charakterisierung und Regulation von Tumor-assoziierten Makrophagen im hepatozellulären Karzinom

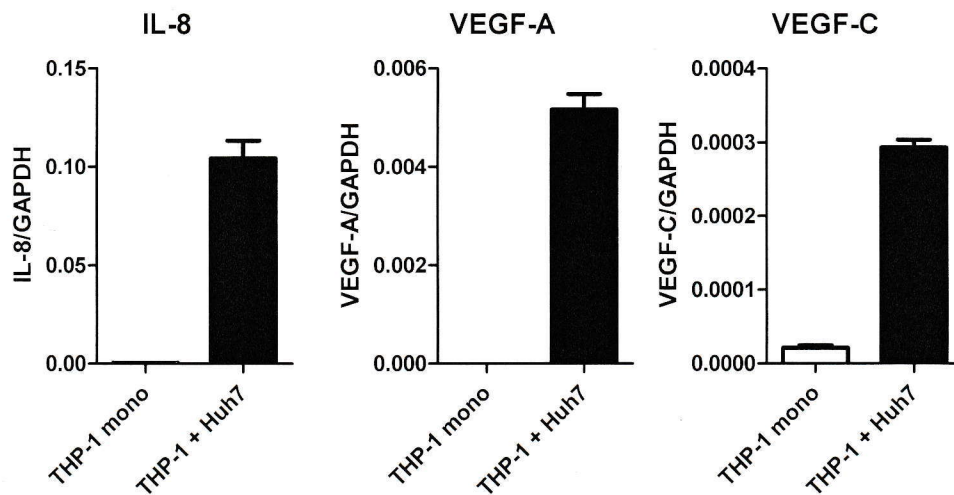
Die Expression von Wachstumsfaktoren und Matrix-Metalloproteasen durch Tumor-assoziierte Makrophagen

Der Beitrag von Tumor-assoziierten Makrophagen (TAM) zur Tumorentstehung und -progression wurde bisher vor allen Dingen in der Induktion eines tumor-spezifischen Zytokinmilieus mit sowohl pro- als auch anti-inflammatorischen Eigenschaften beschrieben. Darüber hinaus wurden den TAM auch Funktionen bei der Angiogenese und dem Gewebe-Remodelling zugewiesen. Ob und in welchen Rahmen TAMs auch zur lokalen Expression von Wachstumsfaktoren beitragen ist bisher für das HCC nicht untersucht worden

Um diesen Zusammenhang näher zu untersuchen wurde im Rahmen dieses Forschungsprojektes die Expression von Wachstumsfaktoren in Makrophagen in einem Makrophagen/Tumor-Ko-Kulturmodell untersucht. Es fand sich hier eine deutliche Induktion von FGF2, Epiregulin, PDGF-A, Demgegenüber fand sich keine Regulation von HGF, EGF, HB-EGF, PDGF-B und PDGF-C in den mit Tumorzellen-ko-kultivierten Makrophagen.

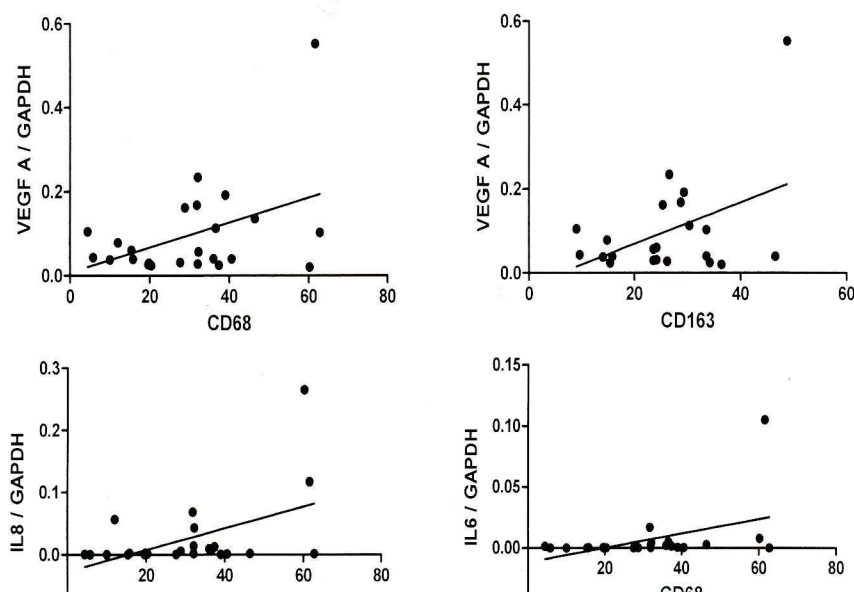


Als pro-angiogenetische Faktoren zeigte sich in den Makrophagen nach Stimulation mit HCC-Zellen eine deutliche Induktion von IL-8 und VEGF-A. Interessanterweise war aber auch VEGF-C hochreguliert, welches ein wichtiger Faktor für die Lymphangiogenese ist und als Faktor für die lymphatische Metastasierung angesehen wird.

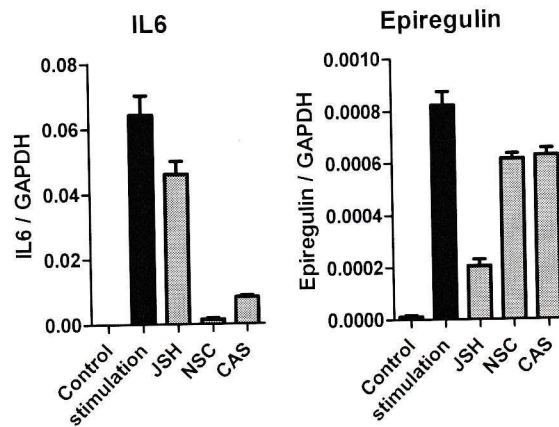


Eine Sekretion von IL-8 und VEGF-A konnte auch im Zellkulturüberstand nachgewiesen werden. Es zeigte sich hier eine deutliche Sekretionssteigerung durch die Ko-Kultur bzw. durch Inkubation der Makrophagen mit HCC-Tumorzell-konditioniertem Medium. Neben der Expression von Wachstumsfaktoren sollte in diesem Projekt auch die Expression von Matrix-modulierenden MMP untersucht werden. Passend zu den Voruntersuchungen konnten wir eine deutliche Hochregulation von MMP-1, MMP-9 und MMP-12 nachweisen. Dagegen fand sich keine Regulation von MMP-13.

Um die Übertragbarkeit der *in vitro* Ergebnisse auf das humane *in vivo* System zu prüfen, haben wir untersucht, ob es eine Korrelation zwischen Makrophageninfiltration und Expression von Wachstumsfaktoren in humanen HCC-Gewebeproben gibt. Hierzu wurden an 31 HCC Gewebeproben sowohl die Makrophageninfiltration mittels Immunhistochemie für CD68 und CD163 als auch die Genexpression mittels qPCR in kryokonservierten korrespondierenden Tumorproben analysiert. Es fand sich hier eine positive Korrelation für IL6, IL8 und VEGF A Expression.



Durch eine gezielte Hemmung der Aktivierung von STAT3 (NSC), NFkappaB (JSH) und CREB (CAS) durch small-molecule inhibitors konnte die Relevanz dieser Signalwege für die Modulation des Makrophagen-Phänotyps durch die HCC Tumorzellen bestätigt werden. Es zeigte sich hier eine verminderte Induktion von IL6 und Epiregulin in Makrophagen nach Stimulation mit HCC-Tumorzell-konditioniertem Medium und gleichzeitiger Inhibition der obengenannten Signalwege.



Zusammenfassung der Projektergebnisse

Insgesamt konnten wir in diesem Projekt zeigen, dass Makrophagen durch die Tumorzellen im HCC zur Expression und Sekretion von Wachstums- und Angiogenesefaktoren stimuliert werden können. Passend hierzu fand sich auch an humanen HCC Gewebeproben eine Korrelation zwischen Makrophageninfiltration und der Zytokin-/Wachstumsfaktorexpression im Tumormikroenvironment. Die Identifikation von STAT3, CREB und NFkappaB als relevante Signalwege für die Interaktion zwischen HCC-Tumorzellen und Makrophagen könnte in Zukunft einen Ansatzpunkt bieten, um durch gezielte Inhibition eine Modulation des tumorfördernden Makrophagenphänotyps zu erreichen.