

Die Bedeutung von Zellulären Phänotypen bei der Zielgerichteten Therapie gegen das maligne Melanom

Abschlussbericht

Prof. Lukas Sommer

Universität Zürich, Anatomisches Institut, Winterthurerstrasse 190, CH-8057 Zürich

Prof. Dr. med. Reinhard Dummer

Universitätsspital Zürich, Dermatologische Klinik, Rämistrasse 100, CH-8091 Zürich

Stipendiatin: PhD. Jelena Vasilevska

Universität Zürich, Anatomisches Institut, Winterthurerstrasse 190, CH-8057 Zürich

Einleitung

Das Melanom ist beim Menschen eine der aggressivsten und therapieresistentesten Krebsarten. In den letzten Jahren wurden beim anfänglichen Ansprechen auf die Therapie erhebliche Verbesserungen (Tumorschrumpfung) erzielt. Allerdings erleiden kurz nach der Behandlung 50% der mit einer zielgerichteten Therapie behandelten Patienten und 41% der mit einer Immuntherapie behandelten Patienten einen Rückfall und entwickeln eine aggressivere Form der Erkrankung. Die Heterogenität des Melanoms spielt bei diesem Phänomen eine Schlüsselrolle: Bösartige Zellen im Tumor weisen eine hohe transkriptionelle Variation auf und rufen Medikamententoleranzen hervor. Verschiedene Studien haben es sich zum Ziel gesetzt, die Melanomheterogenität mittels Einzelzell-RNA-Sequenzierung (scRNAseq) zu charakterisieren. Dabei konzentrierten sie sich hauptsächlich auf die transkriptionelle Landschaft der bösartigen Melanomzellen.

Die Tumormikroumgebung trägt massgeblich zur Entwicklung und Progression der Erkrankung bei. Während der Behandlung entsteht durch interzelluläre Kommunikation zwischen malignen und Immunzellen ein komplexes zelluläres Netzwerk, das das Immunsystem in Richtung pro-tumorigener Funktionen verschieben und die Malignität des Melanoms fördern kann. Diese Kommunikation zwischen malignen und Immunzellen im Kontext der Melanomheterogenität wurde bisher noch nicht untersucht. In unserem Projekt haben wir an Biopsien von behandelten Melanompatienten scRNAseq durchgeführt. So konnten wir im Verlauf der zielgerichteten Therapie die zelluläre Zusammensetzung und Interaktionen zwischen Melanom und Immunzellen in resistenten und in auf die Behandlung ansprechenden Patienten aufklären. Das Ziel der Forschung lag in der Bestimmung neuer prognostischer Biomarker zur verbesserten Vorhersage der optimalen Therapie für jeden einzelnen Patienten.

Forschungsfortschritte und Ergebnisse

Vor der Behandlung und zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Behandlung mit pharmakologischen Inhibitoren von BRAF und MEK (BRAFi/MEKi) wurden Biopsien von vier Melanompatienten entnommen und scRNAseq-Analysen durchgeführt. Diese Behandlungen nehmen einen Signalweg ins Visier, der bei Melanompatienten oft überaktiviert ist. Zwei dieser Patienten erwiesen sich als therapieresistent, ein Patient sprach ganz auf die Behandlung an

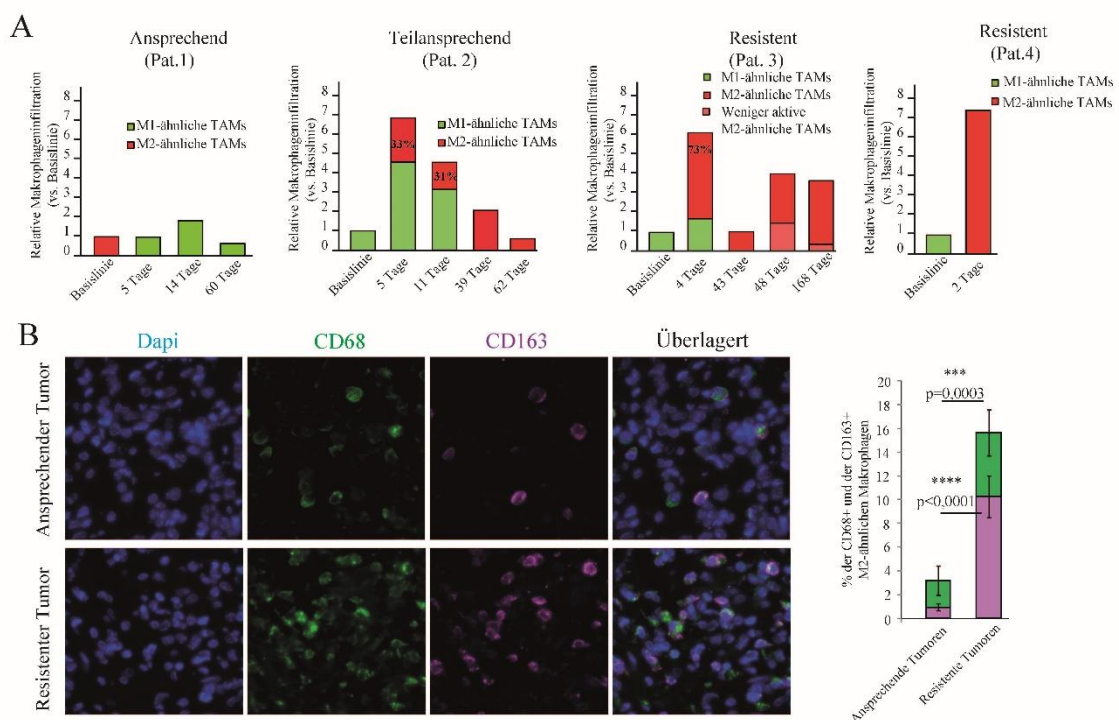
und ein Patient zeigte anfangs ein partielles Ansprechen, entwickelte aber eine schnelle Progression und verstarb am Ende der Behandlung.

Der Vergleich der zellulären Landschaften zeigte starke Unterschiede im Phänotyp der sogenannten tumorassoziierten Makrophagen (TAM), einer angeborenen Immunzellpopulation, die Tumoren infiltriert. Im Unterschied zum auf die Behandlung ansprechenden Patienten, wiesen beide resistenten Patienten eine starke Zunahme von TAMs mit pro-tumorigenen Eigenschaften («M2-ähnlich») auf (Abb. 1A). Diese M2-ähnlichen TAMs erschienen kurz nach der ersten Behandlung und waren auch zu allen weiteren untersuchten Zeitpunkten vorhanden. Der partiell ansprechende Patient wies in der Phase, in der er auf die Behandlung ansprach, gemischte TAM-Populationen, mit einer vorherrschenden Rekrutierung von antitumorigenen Makrophagen («M1-ähnlich»), auf. Allerdings wechselte der Phänotyp der TAMs mit vorschreitender Krankheit zu einem alternativen M2-ähnlichen Phänotyp.

Zusätzlich haben wir in weiteren Patienten eine mögliche Korrelation zwischen der Infiltration von pro-tumorigenen TAMs und dem therapeutischen Ansprechen untersucht. Dazu haben wir Immunofluoreszenzfärbung an früher gesammelten Melanombiopsien, die nach einer BRAFi/MEKi-Behandlung in ansprechenden oder resistenten Tumorstadien entnommen wurden, durchgeführt. Unsere Ergebnisse offenbaren eine signifikant höhere Infiltration der totalen TAMs und der M2-ähnlichen TAMs in resistenten Tumoren (Abb. 1B). Diese Beobachtungen stimmen mit den Ergebnissen unserer scRNAseq-Analysen überein.

Insgesamt deuten unsere Ergebnisse stark darauf hin, dass beim Melanom die Aggressivität der Krankheit und die Therapieresistenz mit dem Auftreten von pro-tumorigenen TAMs im Tumor während der zielgerichteten Therapie zusammenhängen. Das Vorhandensein von pro-tumorigenen TAMs könnte dementsprechend als prognostischer Marker für den Therapieerfolg dienen. Ausserdem könnte das Anvisieren dieser angeborenen Immunzellpopulation dazu beitragen, das Entstehen von Therapieresistenzen beim Melanom zu verhindern.

Abbildungen



(A) Charakterisierung der TAM-Infiltration und des Phänotyps in auf die Therapie ansprechenden und resistenten Patienten nach Behandlung mit BRAF/MEK Inhibitoren. **(B)** Immunofluoreszenzfärbung der gesamten CD68+ Makrophagen und der M2-ähnlichen CD163+ Makrophagen in Melanomtumoren im resistenten oder ansprechenden Stadium. Es wurden 9 Tumoren im ansprechenden Stadium und 8 Tumoren im resistenten Stadium untersucht. Der grüne Balken entspricht dem Prozentsatz der gesamten Makrophagen im Tumor; der violette Balken zeigt die Anzahl der M2-ähnlichen TAMs innerhalb der gesamten Makrophagenpopulation.

Publikationen im Zusammenhang mit diesem Projekt

Wir bereiten derzeit im Zusammenhang mit diesem Projekt ein Manuskript vor. Wir beabsichtigen, es in der ersten Hälfte des Jahres 2021 zur Publikation einzureichen.