

Summary

Macrophages play central roles in different diseases and pathologies, ranging from arthritis to cancer and diabetes. They are very plastic cells, whose phenotypes are steered by their microenvironment. Insights in their phenotype and its driving factors could give rise to potential therapies wherein these cells could be modulated.

In this PhD, we first focused our attention on the macrophages in tumors, called tumor-associated macrophages or TAM. These were already shown to consist of molecularly and functionally distinct subpopulations, termed MHC-II^{lo} and MHC-II^{hi} TAM, both derived from Ly6C^{hi} monocytes. Here, we demonstrate that M-CSFR is involved in the recruitment, extravasation, proliferation and maturation of the Ly6C^{hi} monocytic precursors. Blocking with anti-MCSFR Ab resulted in a reduction of mature TAM. In addition, M-CSFR signaling blockade led to an altered MHC-II^{lo}/MHC-II^{hi} TAM balance by modulating the preferential differentiation of Ly6C^{hi} monocytes. GM-CSFR had no role in the recruitment or differentiation of Ly6C^{hi} monocytes, but did play an important part in the fine-tuning of the MHC-II^{hi} TAM phenotype.

Although much is already known about the TAM subsets and their molecular phenotype, their interaction with the microenvironment through the production of chemokines remained largely uncharacterized. Indeed, the TAM subsets showed differential production of chemokines, with more monocyte-attracting chemokines for the MHC-II^{lo} TAM and more lymphocyte-attracting chemokines for the MHC-II^{hi} TAM. The chemokine CCL17 was clearly associated with the MHC-II^{hi} TAM in all examined tumor models, but had no clear effect on tumor growth in a lung carcinoma model. The MHC-II^{lo} TAM, on the other hand, abundantly produced CCL8. Abrogating this chemokine's receptor, CCR8, led to an enhanced inflammatory response in tumors, leading to a slowed tumor growth. Depletion of T cells reverted this phenotype back to the WT situation, establishing an important anti-tumoral role for these cells. This demonstrates that the CCL8-CCR8 axis sustains an immunosuppressive tumor microenvironment. Both M-CSFR and CCR8 could serve as potential targets for therapy, and M-CSFR has actually already shown evidence of clinical efficacy.

We broadened our research span by examining pancreas macrophages both in the naive and injured pancreas. Interestingly, we could identify very similar macrophage subpopulations in the pancreas compared to the tumor. After wounding, there was an early surge of Ly6C^{hi} monocyte infiltration in the pancreas, followed by a transient MHC-II^{lo} macrophage peak and ultimately a restoration of the MHC-II^{hi} macrophage dominated steady state equilibrium. These MHC-II^{lo} and MHC-II^{hi} macrophages were a mix of tissue-macrophages and monocyte-derived macrophages, with phenotypes that were reminiscent of the TAM subsets. These data demonstrate a more general existence of MHC-II^{lo} and MHC-II^{hi} macrophage subsets in different organs. In addition, we illustrated a role for M-CSFR in the differentiation of these macrophages in this model, suggesting a potential broader applicability of anti-MCSFR mAbs or inhibitors.

In conclusion, this work reveals insights in the biology of macrophages in different microenvironments and draws parallels between them. Moreover, it identifies potentially interesting targets for immunotherapy.

Samenvatting

Macrofagen spelen een centrale rol in verschillende ziektes en pathologieën, gaande van artritis tot kanker en diabetes. Het zijn heel erg plastische cellen, wiens fenotype wordt gestuurd door de micro-omgeving. Inzicht in hun fenotype en de achterliggende drijvende factoren zouden aanleiding kunnen geven tot mogelijke therapieën, waarin deze cellen gemoduleerd kunnen worden.

In dit PhD-project hebben we ons eerst geconcentreerd op de macrofagen in tumoren, genaamd tumor-geassocieerde macrofagen of TAM. Deze bestaan uit moleculair en functioneel verschillende subpopulaties, de MHC-II^{laag} en MHC-II^{hoog} TAM, beide afkomstig van Ly6C^{hoog} monocyt. We tonen aan dat M-CSFR betrokken is bij de rekrutering, extravasatie, proliferatie en maturatie van de Ly6C^{hoog} monocyten precursors. Blokkeren met anti-MCSFR antilichaam resulteerde in een vermindering van de mature TAM. Daarenboven leidde de blokkering van M-CSFR signalering tot een veranderde MHC-II^{laag} / MHC-II^{hoog} TAM balans door het moduleren van de preferentiële differentiatie van de Ly6C^{hoog} monocyt. GM-CSFR had geen rol in de rekrutering of differentiatie van Ly6C^{hoog} monocyt, maar speelde een belangrijke rol in het fijn-reguleren van het MHC-II^{hoog} fenotype.

Hoewel reeds veel geweten is over de TAM subpopulaties en hun moleculair fenotype, bleef hun interactie met de micro-omgeving door middel van de productie van chemokines voornamelijk ongekend. De TAM subpopulaties vertoonden een differentiële productie van chemokines, met meer productie van monocyten-aantrekkende chemokines door de MHC-II^{laag} TAM en meer lymfocyt-aantrekkende chemokines door de MHC-II^{hoog} TAM. CCL17 toonde een duidelijke associatie met de MHC-II^{hoog} TAM in alle onderzochte tumor modellen, maar had geen duidelijk effect op tumorgroei in een long carcinoom model. De MHC-II^{laag} TAM, aan de andere kant, produceerden abundant hoeveelheden van CCL8. Het uitschakelen van de receptor van dit chemokine, CCR8, leidde tot een verhoogde inflammatoire reactie in de tumoren en zorgde voor een vertraagde tumorgroei. Depletie van T cellen bracht dit fenotype terug naar de wild type situatie, en bevestigt een belangrijke anti-tumorale rol voor deze cellen. De CCL8-CCR8 as cultiveert dus een immunosuppressieve tumor micro-omgeving. Zowel MCSFR als CCR8 zouden kunnen dienen als mogelijke doelwitten voor therapie, en voor modulering van de M-CSFR is er reeds bewijs van klinische werkzaamheid.

Het onderzoek werd uitgebreid met een analyse van pancreas macrofagen, zowel in naïeve als verwonde pancreas. Inderdaad, we konden vrij gelijkaardige macrofaag subpopulaties identificeren in de pancreas vergeleken met de tumor. Na verwonding, was er een vroege toevloed van Ly6C^{hoog} monocyten infiltratie in de pancreas, gevolgd door een MHC-II^{laag} macrofaag piek en uiteindelijk een terugkeer naar een MHC-II^{hoog} macrofaag gedomineerd evenwicht. Deze MHC-II^{laag} en MHC-II^{hoog} macrofagen waren een mix van weefsel-macrofagen en monocyten-afgeleide macrofagen, met fenotypes die deden denken aan die van de TAM subpopulaties. Deze data illustreren een meer algemene tendens van MHC-II^{laag} en MHC-II^{hoog} macrofaag subpopulaties in verschillende organen. Daarbij bleek M-CSFR ook een rol te spelen in de differentiatie van macrofagen in dit model, wat een bredere toepasbaarheid van anti-MCSFR antilichamen of inhibitoren suggereert.

Ter conclusie krijgt men door dit werk inzicht in de biologie van macrofagen in verschillende micro-omgevingen waartussen parallellen worden getrokken. Daarbovenop identificeert het potentieel interessante doelwitten voor immunotherapie.