

JOURNAL CLUBS

ÖSTERREICHISCHE ARBEITEN

Angelika Lackner, Susanne Kimeswenger,
Emmanuella Guenova, Wolfram Hötzenecker

Der Tod ist nicht das Ende: Tote Zellen als Treiber der Immunaktivierung – Eine Studie zum immunogenen Zelltod bei ECP-behandelten CTCL-Patienten

Universitätsklinik für Dermatologie und Venerologie, Kepler Universitätsklinikum & Johannes Kepler Universität Linz

Klinische Abteilung für Immundefektologie, Kepler Universitätsklinikum & Johannes Kepler Universität Linz

Angelika Lackner, Susanne Kimeswenger,
Emmanuella Guenova, Wolfram Hötzenecker

Death is not the end: dead cells driving immune activation – a study of immunogenic cell death in ECP-treated CTCL patients

Department of Dermatology und Venereology, Kepler University Hospital & Johannes Kepler University Linz

Department of Translational Immunodermatology, Kepler University Hospital & Johannes Kepler University Linz

Lackner A, Burner T, Brandner M, et al. Evidence of immunogenic cell death (ICD) and ICD-dependent dendritic cell activation induced by extracorporeal photopheresis in patients with leukemic forms of cutaneous T cell lymphoma. *Br J of Dermatol*. Published online March 20, 2025. doi:10.1093/BJD/LJAF102

Die extrakorporale Photopherese (ECP) ist eine seit Jahrzehnten etablierte Therapieoption für leukämische Formen des kutanen T-Zell-Lymphoms (CTCL)²⁻⁵. Trotz ihres bekannten Sicherheitsprofils und ihrer immunmodulierenden Wirkung sind die genauen Mechanismen der klinischen Wirksamkeit von ECP bis heute nicht vollständig verstanden^{2,3,6}.

Bisher lag der Fokus vieler Studien vor allem auf den überlebenden Zellen nach der ECP Behandlung: Wie werden die Zellen durch ECP angeregt? Welche Gene exprimieren sie? Wie verändert ECP die Zellen?

Die aktuelle Publikation von Lackner et al.¹ – ein Kooperationsprojekt zwischen der Medizinischen Fakultät der Johannes Kepler Universität Linz, der Medizinischen Universität Graz, der Universität Lausanne und dem Ordensklinikum Elisabethinen Linz – fügt der Geschichte einen interessanten neuen Aspekt hinzu: der Fokus wurde auf jene Zellen gerichtet, welche die ECP-Behandlung nicht überleben. Und es zeigt sich: Wie diese Zellen sterben, könnte genauso wichtig sein wie das, was mit den überlebenden Zellen geschieht.

Immunogener Zelltod (ICD): ein neues Geheimnis des ECP-Rätsels wird gelüftet

Im Gegensatz zur Apoptose, die eine tolerogene Form des Zelltods darstellt, bleibt ICD vom Immunsystem nicht unbeachtet. Anstatt still zu verschwinden, aktivieren Zellen, die durch ICD sterben, das adaptive Immunsystem – indem sie ATP und HMGB1 freisetzen und Calreticulin (CALR) auf ihrer Oberfläche exprimieren⁷⁻¹⁰. Diese „Gefahrensignale“ rekrutieren

Extracorporeal photopheresis (ECP) has been a well-established treatment for leukemic forms of cutaneous T cell lymphoma (CTCL) for decades²⁻⁵. Traditionally praised for its safety and immunomodulatory effects, the exact mechanisms behind its clinical efficacy have still not been fully revealed^{2,3,6}.

So far most of the studies focused on the surviving cells after treatment. How does ECP modulate them? What genes do they express? How are they changed?

The new study by Lackner et al.¹ – a collaborative effort between Kepler University Hospital Linz, Medical University of Graz, the University of Lausanne, and Ordensklinikum Elisabethinen Linz – adds an interesting new layer to the story: by shifting attention to the cells that don't survive ECP. And it turns out: how these cells die might be just as important as what happens to those left behind.

Immunogenic cell death (ICD): a missing piece in the ECP puzzle

As opposed to apoptosis, representing a tolerogenic type of cell death, ICD doesn't go unnoticed by the immune system. Rather than quietly disappearing, dying cells undergoing ICD activate the adaptive immune system – releasing ATP, HMGB1, and exposing calreticulin (CALR) on their surface⁷⁻¹⁰. These “danger signals” recruit

tieren und aktivieren dendritische Zellen (DCs) und schaffen die Voraussetzung für eine gezielte Immunantwort, einen Prozess, der Krebszellen wieder „sichtbar“ für das Immunsystem machen kann⁹.

Besonders bemerkenswert ist, dass ICD inzwischen nicht nur als zentraler Wirkmechanismus in der Krebsimmuntherapie gilt, sondern zunehmend auch als Marker für den Therapieerfolg bei verschiedenen Krebsbehandlungen eingesetzt wird^{8,11-15}. Die Möglichkeit, dass ECP ICD induzieren könnte, wurde zwar bereits postuliert, bislang jedoch weder systematisch untersucht noch bei CTCL-Patienten nachgewiesen.^{6,16-18}.

Wir konnten nun erstmals bei Patienten mit leukämischem CTCL zeigen, dass ECP immunogenen Zelltod bei Zellen dieser Patientengruppe induziert (Abbildung), insbesondere bei malignen CD4⁺CD26⁻ T-Zellen, den Zellen, die als hauptverantwortlich in der Pathophysiologie der leukämischen CTCL-Form betrachtet werden.

Die Studie zeigt sowohl in *in vitro* ECP-Modellen auch bei primären Patientenproben die klassischen Merkmale des immu-

and activate dendritic cells (DCs), setting the stage for a targeted immune response: a process that is capable of making cancer cell “visible” to the immune system again⁹.

Importantly, ICD has not only gained attention as a key mechanism in cancer immunotherapy — it is increasingly being used as an indicator of treatment success in several cancer therapies^{8,11-15}. While it had previously been proposed that ECP might induce ICD, this concept had never been systematically investigated or shown in CTCL patients^{6,16-18}.

We could now show for the first time in human leukemic CTCL patients that ECP induces ICD in cells from this patient group (figure), especially in malignant CD4⁺CD26⁻ T cells, the main culprits in leukemic CTCL.

In the study, both *in vitro* models of ECP and patient samples demonstrated classic ICD hallmarks: after ECP treatment ATP release and HMGB1 secretion were increased, and CALR surface exposure was detected, with up to a

Abbildung aus der Publikation:

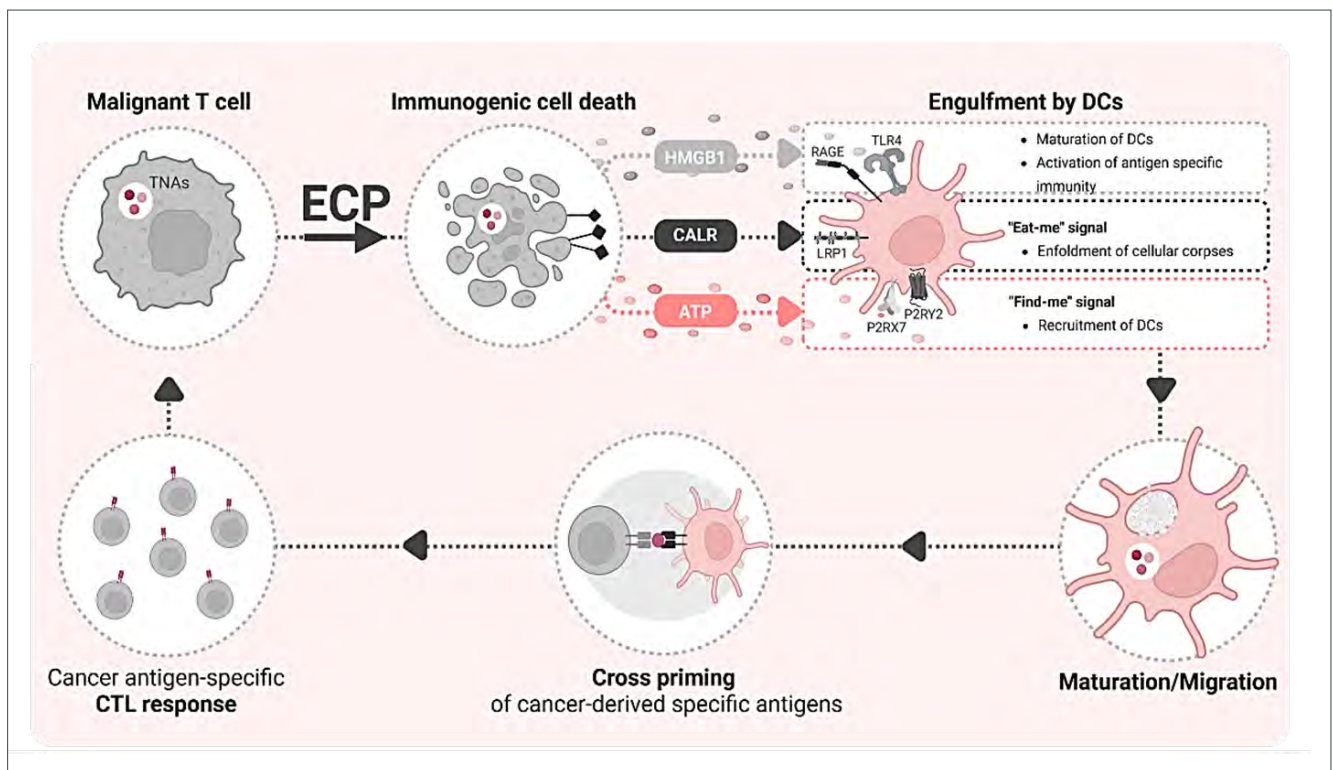


Abbildung: ECP-induzierter ICD ermöglicht die Aufnahme maligner T-Zellen von Patienten mit leukämischem CTCL durch dendritische Zellen. ECP induziert ICD in malignen T-Zellen über HMGB1, CALR und ATP und fördert dadurch die Reifung von DCs, Antigen-Cross-Priming sowie eine spezifische CTL-Antwort.

Figure: ECP-induced ICD facilitates dendritic cell-mediated engulfment of malignant T cells from leukemic CTCL patients. ECP induces ICD in malignant T cells via HMGB1, CALR, and ATP, promoting DC maturation, antigen cross-priming and specific CTL response.

nogenen Zelltods (ICD): Nach ECP-Behandlung waren sowohl die ATP-Freisetzung als auch die HMGB1-Sekretion erhöht, zudem konnte eine CALR-Exposition auf der Zelloberfläche nachgewiesen werden, mit einer bis zu 10-fach höheren Expression bei malignen CD4⁺CD26⁻ T-Zellen im Vergleich zu normalen T-Zellen.

Was macht diese Erkenntnis so wichtig?

Die Studie weist nicht nur auf Biomarker hin, sondern hat auch funktionelle Relevanz: Nur CD4⁺ T-Zellen, die mit ECP behandelt wurden, wurden von dendritischen Zellen phagozytiert, einem Prozess, der vollständig von ICD-assoziierten Signalen abhängig war. Blockierte man ATP und/oder CALR, kam es zu keiner Phagozytose durch dendritische Zellen mehr, ein klarer Hinweis auf ihre entscheidende Rolle.

Das legt nicht nur nahe, dass sterbende maligne Zellen das Immunsystem aktiv mitprägen – sondern liefert zugleich einen möglichen mechanistischen Erklärungsansatz dafür, wie ECP die Immunüberwachung bei CTCL unterstützt. Auffällig ist zudem, dass gesunde Zellen oder CD8⁺ T-Zellen deutlich weniger anfällig für ICD und Phagozytose waren – was auf eine gewisse Selektivität des Prozesses für CD4⁺ Tumorzellen hinweist.

Was bedeutet das?

So bedeutet dies zwar nicht, dass ICD der alleinige Wirkmechanismus von ECP ist, jedoch ergänzt diese Arbeit das bisherige Verständnis um ein spannendes, bislang fehlendes Puzzlestück. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass ECP-induzierter ICD eine gezielte Immunantwort ermöglicht, indem er Tumorzellen, die dem Immunsystem sonst entkommen würden, wieder sichtbar macht.

In einem Forschungsfeld, das sich lange auf die überlebenden Zellen konzentriert hat, führt uns diese Studie vor Augen: In der Immuntherapie ist der Tod manchmal tatsächlich erst der Anfang.

Kommentar der Editoren:

Die Arbeit von Lackner et al bringt mit dem immunogenen Zelltod bei ECP bahnbrechende Erkenntnisse zu einem weiteren möglichen Wirkmechanismus der ECP zu Tage und unterstreicht in eindrucksvoller Weise die erfolgreiche wissenschaftliche Zusammenarbeit mehrerer ECP-Zentren in Österreich. Bleibt abzuwarten, ob die beim leukämischen T-Zell-Lymphom beobachteten Ergebnisse auch für die Wirkung der ECP bei anderen Erkrankungen, wie beispielsweise GVHD gelten.

Korrespondenz: editors@skinonline.at

10-fold higher expression in CD4⁺CD26⁻ malignant T cells compared to healthy T cells.

Why Does This Matter?

Beyond mere biomarkers, the study demonstrated functional relevance: only ECP-treated CD4⁺ T cells were phagocytosed by DCs, a process fully dependent on ICD-related signals. Blocking ATP and/or CALR completely abolished engulfment, underlining their critical role.

This not only suggests that dying malignant cells might be educating the immune system, it also provides a mechanistic rationale for how ECP could drive immune surveillance against CTCL. Interestingly, healthy cells or CD8⁺ T cells were far less prone to ICD and engulfment, highlighting a certain CD4⁺ tumor selectivity of this process.

What does this mean?

While this doesn't mean that ICD is the *only* mechanism of action in ECP, it clearly adds an exciting new piece to the puzzle. It suggests that through ICD, cancer cells, otherwise missed by the immune system, can regain visibility and become targets for immune attack.

In a field that has long focused on the survivors, this study reminds us: in immunotherapy, sometimes death really is just the beginning.

Editors' comment:

The work by Lackner et al. on immunogenic cell death in ECP provides groundbreaking insights into another possible mechanism of action of ECP and impressively underscores the successful scientific collaboration between several ECP centers in Austria. It remains to be seen whether the results observed in leukemic T-cell lymphoma also apply to the effect of ECP in other diseases, such as GVHD.

Correspondence: editors@skinonline.at

Literatur

1. Lackner A, Burner T, Brandner M, et al. Evidence of immunogenic cell death (ICD) and ICD-dependent dendritic cell activation induced by extracorporeal photopheresis in patients with leukemic forms of cutaneous T cell lymphoma. *Br J of Dermatol*. Published online March 20, 2025. doi:10.1093/BJD/LJAF102
2. Cho A, Jantschitsch C, Knobler R. Extracorporeal photopheresis-An overview. *Front Med (Lausanne)*. 2018;5:383934.
3. Terhaar H, Saleem M, Yusuf N. Extracorporeal photopheresis in dermatological diseases. *Int J Mol Sci*. 2024;25. doi:10.3390/IJMS25053011/S1
4. Knobler R, Barr ML, Couriel DR, et al. Extracorporeal photopheresis: past, present, and future. *J Am Acad Dermatol*. 2009;61(4):652-665.
5. Heald P, Rook A, Perez M, et al. Treatment of erythrodermic cutaneous T-cell lymphoma with extracorporeal photochemotherapy. *J Am Acad Dermatol*. 1992;27:427-433.
6. Vieyra P, Wolf P. Extracorporeal photopheresis: a case of immunotherapy ahead of its time. *Transfus Med Hemother*. 2020;47:226.
7. Immunogenic cell death—the next frontier in cancer immunotherapy. Accessed July 3, 2024. <https://www.nature.com/articles/d43747-021-00005-1>
8. Obeid M, Tesniere A, Ghiringhelli F, et al. Calreticulin exposure dictates the immunogenicity of cancer cell death. *Nat Med* 2006 13:1. 2006;13:54-61. doi:10.1038/nm1523
9. Green DR, Ferguson T, Zitvogel L, Kroemer G. Immunogenic and tolerogenic cell death. doi:10.1038/nri2545
10. Rodrigues MC, Morais JAV, Ganassin R, et al. An overview on immunogenic cell death in cancer Biology and therapy. *Pharmaceutics*. 2022;14. doi:10.3390/pharmaceutics14081564
11. Casares N, Pequignot MO, Tesniere A, et al. Caspase-dependent immunogenicity of doxorubicin-induced tumor cell death. *J Exp Med*. 2005;202:1691-1701.
12. Fabian KP, Wolfson B, Hodge JW. From Immunogenic cell death to immunogenic modulation: select chemotherapy regimens induce a spectrum of immune-enhancing activities in the tumor microenvironment. *Front Oncol*. 2021;11:3215.
13. Garg AD, More S, Rufo N, et al. Trial watch: Immunogenic cell death induction by anticancer chemotherapeutics. *Oncoimmunol*. 2017;6. doi:10.1080/2162402X.2017.1386829
14. Tesniere A, Schlemmer F, Boige V, et al. Immunogenic death of colon cancer cells treated with oxaliplatin. *Oncogene* 2010 29:4. 2009;29:482-91
15. Meier P, Legrand AJ, Adam D, Silke J. Immunogenic cell death in cancer: targeting necroptosis to induce antitumour immunity. *Nat Rev Cancer* 2024 24:5. 2024;24:299-315.
16. Annani D. Extracorporeal photopheresis: Tolerogenic or immunogenic cell death? Beyond current dogma. *Front Immunol*. 2015;6:1-4.
17. Yakut E, Jakobs C, Peric A, et al. Extracorporeal Photopheresis Promotes IL-1 β Production. *J Immunol*. 2015;194:2569-77.
18. Tatsuno K, Yamazaki T, Hanlon D, et al. Extracorporeal photochemotherapy induces bona fide immunogenic cell death. *Cell Death Dis*. 2019;10(8). doi:10.1038/s41419-019-1819-3