

Tobias Stein
Dr. med.

Etablierung eines Lebermetastasen-Modells mit menschlichen kolorektalen Karzinomzellen an der Nacktratte und Quantifizierung deren Wachstumsverhaltens in der Leber mittels PCR

Geboren am 16.10.1973 in Frankfurt/Main
Reifeprüfung am 16.06.1993 in Bad Homburg
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1994 bis SS 2000
Physikum am 03.03.1996 an der Universität Heidelberg
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Bordeaux und Heidelberg
Staatsexamen am 21.11.2000 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: DKFZ
Doktorvater: Prof. Dr. med. M.R. Berger

Das kolorektale Karzinom zählt zu den häufigsten Krebserkrankungen in den westlichen Industrienationen. Zum Zeitpunkt der klinischen Diagnosestellung ist in vielen Fällen bereits eine hämatogene Metastasierung über die Portalvene in die Leber erfolgt. Während der Primärtumor in der Regel operativ vollständig entfernt werden kann, ist eine kurative Therapie von Lebermetastasen nur in wenigen Fällen möglich. Zur Verbesserung der Prognose des kolorektalen Karzinomes sind daher in erster Linie neue Strategien zur Behandlung der Lebermetastasen notwendig. Einen denkbaren Ansatz stellt die lokoregionäre Chemotherapie dar, bei der Therapeutika über einen - während der Operation des Primärtumors in der Portalvene oder Leberarterie implantierten - Katheter injiziert werden. Ziel dieser Arbeit war es, ein Tiermodell zu entwickeln, anhand dessen eine lokoregionäre Chemotherapie von Lebermetastasen eines kolorektalen Karzinomes experimentell erprobt werden kann. Durch Injektion von menschlichen kolorektalen Karzinomzellen in die Portalvene der Versuchstiere sollte erreicht werden, daß die Tumorzellen auf dem gleichen Weg wie bei der hämatogenen Metastasierung des kolorektalen Karzinomes in die Leber gelangen. Außerdem sollte eine sensitive Meßmethode entwickelt werden, die eine Quantifizierung der Tumorzellmenge bereits zu einem Zeitpunkt ermöglicht, an dem sich erst einzelne Tumorzellen als Mikrometastasen in der Leber angesiedelt haben. Als Versuchstiere wurden thymuslose Nacktratten gewählt, da diese aufgrund einer mangelhaften zellulären Immunabwehr körperfremde Tumorzellen tolerieren.

Um eine Zelllinie mit günstigen Wachstumseigenschaften zu ermitteln, wurden neun, von menschlichen kolorektalen Karzinomen abgeleitete Zelllinien (HDC8, HDC63, HDC101, Isreco-1, Isreco-2, Isreco-3, SW480, SW620, LS174T) subkutan, in die Milz, unter die Leberkapsel und in die Portalvene der Nacktratten injiziert. Nur zwei der Zelllinien konnten in den Tieren erfolgreich angezüchtet werden: Zellen der Linie SW 620 wuchsen in 40% der beimpften Tiere an, ein Wachstum in der Leber konnte dabei nicht erreicht werden. Die Linie LS174T ließ sich dagegen bis auf ein subkutan injiziertes Tier in allen Ratten erfolgreich anzüchten, es wurde eine Anwachsrate von insgesamt 90% und von 100% der in die Portalvene injizierten Tiere erzielt.

Im Hauptversuch wurden LS174T-Zellen 36 rnu-Ratten in die Portalvene injiziert. Die Tiere wurden innerhalb eines Zeitraumes von 6 Wochen nach der Zellinjektion getötet, die Leber wurde entnommen und die DNA extrahiert.

Zur exakten Bestimmung der Tumorzellmenge in den Rattenlebern wurde ein quantitativer Test entwickelt, der auf zwei nacheinander durchgeführten Polymerase Kettenreaktionen mit einem internen Mengenstandard basiert. Zusätzlich wurden histologische Schnitte des Lebergewebes angefertigt und zur Tumordiagnose herangezogen.

Mit dem entwickelten Test wurden Tumorzellkonzentrationen in einem Bereich von 10^1 - 10^6 Tumorzellen / mg Lebergewebe gemessen. Die Nachweisgrenze lag mit 10 Tumorzellen / mg Lebergewebe 100-1000fach unterhalb der Nachweisgrenze der Histologie.

Die Quantifizierung der LS174T-Zellen in der Rattenleber ergab ein exponentielles Wachstum über einen Zeitraum von 6 Wochen mit einer Verdopplung des Tumolvolumens innerhalb von 3 Tagen. Anhand der ermittelten Wachstumskurve ist es in Zukunft möglich, den Erfolg einer lokoregionären Chemotherapie zu ermitteln. Durch die hohe Sensitivität des PCR-Assays ist ein wachstumshemmender Effekt eines Medikamentes bereits innerhalb weniger Tage nach der Zelinjektion nachweisbar.