

Axel Wittmer
Dr. med.

Etablierung eines disseminierten Lebermetastasenmodells der Ratte mit lacZ-transfizierten CC531 Kolonkarzinomzellen und chemiluminometrischer Quantifizierung der Tumorzellmasse ex vivo

Geboren am 05.12.1973 in Karlsruhe
Reifeprüfung am 18.05 1993 in Bruchsal
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1994/95 bis WS 2000/2001
Physikum am 09.09.1996 an der Universität Heidelberg
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Koblenz
Staatsexamen am 27.03.2001 an der Universität Mainz

Promotionsfach: Deutsches Krebsforschungszentrum
Doktorvater: Herr Prof. Dr. med M. R. Berger

Das kolorektale Karzinom stellt mit 9% aller weltweit auftretenden Karzinome eine der häufigsten Entitäten unter den bösartigen Tumoren dar. Disseminierte Lebermetastasen des kolorektalen Karzinoms sind gekoppelt mit niedrigen Heilungsraten und einer extrem kurzen Überlebenszeit von nur 4-9 Monaten. Sie stellen damit ein ernstes therapeutisches Problem dar.

Der Situation beim Menschen entsprechende Tiermodelle, die die disseminierte Lebermetastasierung und deren schnelles Wachstum nachstellen, können nicht nur herangezogen werden, um Einsicht in die Wachstumsmechanismen zu erhalten und damit das Verständnis für diesen Vorgang zu vertiefen. Sie dienen auch der Findung und Erprobung innovativer Therapieansätze, um dieses klinische Problem in Zukunft therapeutisch besser angehen zu können.

Zu diesem Zweck wurde ein orthotopes Tiermodell etabliert, das sich durch eine diffuse Lebermetastasierung auszeichnet. Die eingesetzten CC531-Rattenadenokarzinomzellen wurden, um eine einfache Detektion und Quantifizierung zu gewährleisten, mit einem für die β -Galaktosidase kodierenden Markergen transfiziert. Durch das Einschleusen des Markergenes wurden die Zelleigenschaften der Mutterzelllinie CC531 derart verändert, daß sie in den Tieren eine immunogene Abwehrreaktion hervorriefen, die vor allem eine deutlich schlechtere Anwachsrate im Tier und eine Verlängerung der Überlebenszeit nach Tumorimplantation verursachten. Durch Beimischen von Matrigel zur applizierten Zellsuspension konnte die Anwachsrate wieder auf 100% angehoben und die Überlebenszeit um 42% signifikant ($p < 0,05$) auf ca. 4 Wochen verringert werden. Die intraportale Injektion dieses neuen Subklons (CC531-lacZ) in Verbindung mit Matrigel resultierte in einem schnellen und lokal aggressiven Wachstum von Lebermetastasen, begleitet von einer ausgeprägten Angiogenese. Ein Erklärungsversuch für das stark beschleunigte Tumorstadium könnte eine Atrophie des Lebergewebes sein, die durch die hohe applizierte Zellzahl in Verbindung mit Matrigel induziert wurde. Die konsekutive Ausschüttung von lebereigenen Wachstumsfaktoren würde dabei nicht nur die Leberregeneration in Form einer Hyperplasie des Restparenchyms fördern, sondern auch das Tumorstadium beschleunigen. Die in vivo-Verdopplungszeit der Tumorzellen betrug 20 h und wurde durch die Quantifizierung der β -Galaktosidase mit einer chemiluminometrischen Methode ermittelt. Dieser kommerziell erhältliche Chemilumineszenz-Assay erlaubte eine schnelle und sensitive Quantifizierung der diffus die Leber infiltrierenden Tumorzellen. Die untere Nachweisgrenze

wurde mittels einer Standardkurve aus CC531-lacZ-Zellen und Lebergewebe gesunder Ratten bestimmt und betrug 400 Zellen / mg Lebergewebe. Die erstellte Regressionsgerade der Standardkurve mit der Formel $Y = 166,9X - 2,2 \times 10^5$ war durch eine Korrelation von 1,0 gekennzeichnet ($r = 0,9994$; $p < 0,001$).

Während einer Beobachtungszeit von drei Wochen nach Tumorzellapplikation konnten mit diesem Assay nur bei 6% aller Versuchstiere Lungenmetastasen nachgewiesen werden. Im Gegensatz dazu konnten histologische Untersuchungen keine Lungenmetastasen verifizieren, Mikrometastasen konnten jedoch nicht ausgeschlossen werden. Der Chemilumineszenz-Assay erscheint daher der klassischen histologischen Gewebsuntersuchung überlegen zu sein. Der Versuchszeitraum von drei Wochen erscheint lange genug, um in verschiedenen Wachstumsstadien der Lebermetastasen therapeutisch zu intervenieren. Das Tiermodell soll in Zukunft zur Erprobung verschiedener therapeutischer Optionen eingesetzt werden.