



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Fakultät für Klinische Medizin Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

**Enhanced Green Fluorescent Protein : Hilfsmittel zur frühen
Detektion und Quantifizierung von Lebermetastasen in einem
syngenem Mausmodell**

Autor: Beate Petruch
Institut / Klinik: Chirurgische Klinik
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. S. T. Samel

In der vorliegenden Arbeit wurde ein syngenes Tiermodell etabliert, das eine reproduzierbare, sichere und zeitsparende Induktion von Lebermetastasen ermöglicht. Die entscheidende Bedingung eines intakten Immunsystems des Tumorzell-Wirtes wurde in den Vordergrund gestellt, um eine möglichst gute Annäherung an Kolonkarzinogenese und Metastasierung beim Menschen zu erreichen.

Die Kolonkarzinomzelllinie Colon-26 wurde stabil mit Enhanced Green Fluorescent Protein (EGFP) transfiziert und in den Portalkreislauf syngener Balb/c-Mäuse injiziert. Die transfizierten Zellen wiesen dieselbe Malignität wie die Wildtyp-Zellen auf, so dass bereits nach wenigen Tagen Lebermetastasen nachgewiesen werden konnten.

Die fluoreszierenden EGFP-Colon-26-Zellen konnten sehr gut durch Intravitalmikroskopie und Fluoreszenzmikroskopie in histologischen Präparaten detektiert werden. Zur genauen Lokalisation der Tumorzellen in der Leber kam die konfokale Mikroskopie zum Einsatz. Die unterschiedlichen Stadien der Metastasierung wie die Absiedelung einzelner Zellen in Sinusoiden und die Ausbildung von Pseudopodien aber auch die Extravasation ins Leberparenchym und die Bildung von Mikrometastasen konnten beobachtet werden.

Zur Quantifizierung der Tumorlast in der Leber wurden vier Methoden evaluiert. Als Grundprinzip liegt allen Methoden die Quantifizierung der Tumorzellen mit Hilfe des Fremdproteins EGFP oder der Fluoreszenz zugrunde. Eine näherungsweise Abschätzung der Tumorlast erlauben die Fluorometrie und die FACS-Analyse. Sehr genaue Messungen der Tumorzellzahl in der Leber können durch einen Western oder Northern Blot erreicht werden.

Das etablierte Tiermodell ermöglicht somit nicht nur die sensitive Detektion des Tumorwachstums in vivo und post mortem sondern auch eine genaue Quantifizierung der Tumorlast in Lebergewebe.

Aus diesem Grund eignet sich das Modell hervorragend zur Entwicklung und Überprüfung neuer Therapieansätze. Der therapeutische Effekt unterschiedlicher Substanzen kann bereits in sehr frühen Metastasierungsstadien in vivo und in vitro untersucht werden.