

Annina Carstens-Slim
Dr. med.

Über die immunomagnetische Anreicherung disseminierter Tumorzellen im peripheren Blut von Patienten mit kolorektalem Karzinom

Geboren am 02.09.1980 in Heilbronn
(Staats-)Examen am 09.11.2007 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Chirurgie
Doktorvater: Prof. Dr. med. J. Weitz

Der erste Schritt der Metastasierung eines malignen Tumors besteht in einer lokalen Zellinvasion, gefolgt von der Tumorzell dissemination ins Blut und dem sekundären Befall anderer Organe. Trotz der Entwicklung neuer Therapieansätze bilden Fernmetastasen immer noch eine der Haupttodesursachen bei Patienten mit kolorektalen Karzinomen. Folglich stellen die Verbesserung von Nachweismethoden für disseminierte Tumorzellen in klinischen Proben seit Jahren wichtige Forschungsgebiete in Bezug auf eine Optimierung des Tumorstagings und auch der Behandlung von Krebspatienten dar.

In diesem Zusammenhang wurde von unserer Arbeitsgruppe zur Verbesserung der Spezifität eines Tumorzellnachweises zur Anreicherung von Tumorzellen aus Patientenblut eine CK20-RT-PCR entwickelt. Diese wurde nach vorangehender Dichtegradientenzentrifugation des Blutes und unter anschließender Verwendung epithelspezifischer immunomagnetischer Antikörper (mAb) durchgeführt.

Dabei wurden in der vorliegenden Arbeit erstmals der mAb KS1/4 zum Nachweis von kolorektalen Tumorzellen in peripherem Blut verwendet. Die Sensitivität dieses mAb wurde durch Verdünnungsreihen mit der Tumorzelllinie HT29 bewertet und führt wiederholbar zum Nachweis von ca. 20 Tumorzellen in 1 ml Vollblut. Dies entspricht einer zehnfachen verbesserten Sensitivität als die Ergebnisse unseres Vergleichsexperimentes mit dem mAb BerEP4 (Nachweis von 200 Tumorzellen in 1 ml Blut). Eine weitere in dieser Arbeit durchgeführte Methode zur Tumorzellanreicherung erfolgte unter der Verwendung sogenannter Microbeads und dem MACS®-Zellseparator-Systems. Die Ergebnisse dieses Vorgehens waren in Hinsicht auf die Spezifität jedoch dem Nachweis durch KS1/4 unterlegen, da sich mit den Microbeads nur ca. 200 Tumorzellen in 1 ml Blut nachweisen ließen.

Das untersuchte Patientenkollektiv bestand aus 38 Personen. CK20 mRNA wurde in 11 der 38 (29%) Proben nachgewiesen. Der positive Nachweis gelang bei 6 Proben durch den mAb KS1/4, bei weiteren 6 Proben durch BerEp4-mAb

und bei einer Probe konnten Tumorzellen durch beide Methoden gefunden werden.

Insgesamt zeigen die Ergebnisse, dass die CK20-RT-PCR eine sensitive und spezifische Methode zum Nachweis disseminierter Tumorzellen ist. Des weitern wurde deutlich, dass die Dichtegradientenzentrifugation einen entscheidenden Einfluss auf die immunomagnetische Tumorzellanreicherung aus peripherem Blut hat. Außerdem scheint die Verwendung des mAb KS1/4 in Verbindung mit dem mAb BerEP 4 eine weitere Verbesserung zur Anreicherung von Tumorzellen aus kleinen Blutvolumina bei Patienten mit kolorektalem Karzinom darzustellen. Es sind jedoch weiterführende Studien an größeren Patientenkollektiven nötig, um anhand die Anwendbarkeit unserer immunomagnetischen Anreicherungs-methode statistisch valide beurteilen zu können.