



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

**Etablierung eines dreidimensionalen Zellkulturmodells der
humanen Leber**

Autor: Katharina Schirmer
Institut / Klinik: II. Medizinischen Klinik
Doktormutter: Priv.-Doz. Dr. K. Breitkopf-Heinlein

Die Leber ist das größte innere Organ des menschlichen Körpers und nimmt eine zentrale Stellung im allgemeinen Stoffwechsel und bei der Entgiftung vieler körpereigener und körperfremder Substanzen ein. Beide Leberlappen bestehen aus etwa 100.000 Leberläppchen, die jeweils um die 3 Millionen Hepatozyten enthalten. Das Lebergewebe besteht aus hochspezialisierten parenchymatösen und nicht-parenchymatösen Zellen, die zusammen für die hohe Regenerationsfähigkeit der Leber verantwortlich sind.

Aktuell gibt es noch keine in-vitro organähnliche humane Lebermodelle, die als zuverlässige Testsysteme für Metabolismusstudien oder Medikamententestungen verwendet werden können. Takebe et al. hat 2013 mit überwiegend undifferenzierten Zellen gezeigt, dass sog. „Liverbuds“ auf einer organischen Matrix generiert werden können und funktionsfähig sind. Andere Organoidmodelle existieren, die leider durch den Einsatz von immortalisierten Zelllinien, Zellen anderer Spezies oder Monokulturen schlecht mit der adulten humanen Leber zu vergleichen sind. Auch biotechnologische Ansätze verhindern mit einer selektiven Anordnung der hepatischen Zellen die Eigenorganisation zu einem in-vivo-artigem Lebergewebe.

In der vorliegenden Arbeit wurden differenzierte leberspezifische Upcyte®-Zellen von Medicyte für die Generierung von Leberorganoiden (LO) in einem statischen System verwendet. Die LO wurden erfolgreich aus differenzierten, adulten Upcyte® Hepatozyten, Upcyte® lebersinusoidalen Endothelzellen (LSEC) und Upcyte® hepatischen Sternzellen (HSC) in kontrollierten und standardisierten Kulturbedingungen in-vitro generiert. Nach 72h-Kultur konnte immunhistochemisch bestätigt werden, dass noch alle drei Zelltypen in quasi physiologischen Zellproportionen im LO vertreten waren. Die Eigenorganisationskapazität der differenzierten Zellen wurde durch eine geeignete organische Trägersubstanz aus 0,4% Agarosegel und ein serumfreies Wachstumsmedium (Final Liverorganoid Medium) unterstützt, das wichtige in-vivo-vorkommende Wachstumsfaktoren der Leberregeneration enthielt. In den histologischen Schnitten der LO konnten runde interzelluläre Hohlräume zwischen vitalen Hepatozyten festgestellt werden, die gelegentlich von LSEC ausgekleidet wurden und hiermit die Grundlage für Sinusoide darstellen könnten. Diese Hohlräume zeigten Ähnlichkeiten mit der Sinusoidenform und -anordnung der nodulären regenerativen Hyperplasie (NRH) der humanen Leber. Die NRH ist das in-vivo Resultat einer lokalisierten und koordinierten Proliferation von Hepatozyten und des gefäßführenden Stromas, die auf der Grundlage von Störungen der Perfusion des Leberparenchyms während des regenerativen Vorgangs entstehen.

Zusammenfassend konnte in dieser Forschungsarbeit gezeigt werden, dass aus reifen humanen parenchymatösen und nicht-parenchymatösen Zellen der Leber die Generierung von Leberorganoiden erfolgen kann. Diese Arbeit stellt mit kontrollierten und standardisierten Kulturbedingungen die Grundlage für die weitere Etablierung eines in-vitro 3D-Langzeitkulturmodells der humanen Leber.