

Lilly-Claire Sarah Bonnert

Dr. med.

Mechanismen der Tumorprogression und Metastasierung bei in vitro Co-Kultur von Adipose tissue-derived stem cells mit Brustkrebszellen – ein kritischer Blick auf die onkologische Sicherheit stammzellbasierter Therapien in der Brustrekonstruktion

Fach/Einrichtung: Chirurgie/Ethionum Klinik für Plastische, Ästhetische und Rekonstruktive Chirurgie

Doktormutter: Priv.-Doz. Dr. med. Eva Köllensperger

Mesenchymale Stammzellen aus Fettgewebe (ADSCs) zeigen vielversprechende Eigenschaften im Rahmen von Wundheilungsvorgängen und Entzündungsmodulation, die sie für den Einsatz in regenerativen Therapien attraktiv machen. Ein zunehmend an Interesse gewinnendes Einsatzgebiet von ADSCs sind kosmetische Brustaugmentationen sowie die Brustrekonstruktion nach operativer Mammakarzinomtherapie. Hier kann die Methode des Zell-assistierten Fettgewebetransfers (Cell-assisted lipotransfer) zum Einsatz kommen, bei dem es sich um eine ADSC-augmentierte, autologe Fetttransplantation handelt und mit dem eine Verbesserung des ästhetischen Ergebnisses und des Transplantatüberlebens erreicht werden soll. Als häufigste Krebserkrankung der Frau führt das Mammakarzinom zu einem großen Patientenkollektiv, das von verbesserten rekonstruktiven Verfahren, wie dem Zell-assistierten Fettgewebetransfer, profitieren könnte.

Die onkologische Sicherheit von ADSC-basierten Therapien bleibt jedoch auf Grund der vielfältigen Effekte in ihrem umgebenden Gewebe bis heute unklar und wird in der Literatur kontrovers diskutiert. In prä-klinischen Studien wurde sowohl von tumorfördernden als auch -hemmenden Auswirkungen berichtet und auf klinischer Ebene fehlen verlässliche, randomisierte und kontrollierte Studien, die die Sicherheit der Methode bestätigen.

In der vorliegenden Studie wurde die Interaktion von ADSCs mit Brustkrebszellen auf zellulärer und molekularer Ebene untersucht, um die Auswirkungen einer Co-Lokalisation der beiden Zelltypen auf Mechanismen der Tumorprogression näher zu beleuchten. Zunächst wurden die Stammzeleigenschaften der aus Fettgewebe isolierten Zellen nach den international anerkannten Kriterien bestätigt und diese dann zusammen mit fünf verschiedenen Brustkrebszelllinien und einer selbst isolierten Brustkrebs-Primärzelllinie in einem indirekten Zellkultursystem co-kultiviert. Es folgten Gen- und Proteinanalysen sowie Untersuchungen der Proliferation, Migration, Invasion und Angiogenese-Eigenschaften unter dem Einfluss des jeweils anderen Zelltyps im Vergleich zu den entsprechenden Mono-Kulturen. Darüber hinaus wurden beide Zelltypen auf ihre Expressionsänderung von Estrogen- und Progesteronrezeptor sowie des Human epidermal growth factor receptor 2 (Her2) untersucht.

Die ADSCs zeigten in den durchgeführten Analysen die Expression eines breitgefächerten Spektrums an Proteinen, die mit Mechanismen der Tumorprogression, Angiogenese,

Metastasierung und einer schlechten Krankheitsprognose assoziiert sind. Durch die Co-Kultivierung waren die Tumorzellen erhöhten Konzentrationen tumorfördernder Zytokine, Wachstumsfaktoren und Proteasen wie Interleukin-6, Interleukin-8, CC-Chemokin-ligand-2, Hepatocyte Growth factor, Vascular endothelial growth factor, Transforming growth factor- β und Matrixmetalloproteinasen ausgesetzt, gegenüber denen sie teilweise ausschließlich in Co-Kultur exponiert waren. Dadurch konnte die Kreierung eines komplexen, potenziell tumorfördernden Signalnetzwerks durch die Anwesenheit der ADSCs in der Umgebung der Tumorzellen nachgewiesen werden. Auch die Brustkrebs-Primärzellen zeigten eine hohe Sekretionsaktivität, die das Mikromilieu für die ADSCs entscheidend veränderte und damit einen hochaktiven Signalaustausch der beiden Zelltypen offenbarte. Zudem war auf Genexpressionsebene die Hochregulierung tumorfördernder und die Herunterregulierung tumorhemmender Gene zu beobachten.

In drei von sechs ADSC-Tumorzell-Konstellationen war eine signifikante Erhöhung der Migrationsbereitschaft der ADSCs zu beobachten, unter den Mammakarzinomzellen zeigten zwei Zelllinien eine signifikant gesteigerte Migration durch den Einfluss der ADSCs. Eine signifikante Steigerung der ADSC-Invasion war in drei von sechs Co-Kulturen nachzuweisen, während für die Tumorzellen keine signifikante Änderung des Invasionsverhaltens beobachtet werden konnte. Es ergaben sich somit Hinweise, dass beide Zelltypen in der Lage sind, den jeweils anderen zur Migration zu stimulieren. ADSCs zeigten zudem die Fähigkeit Extrazellulärmatrix zu durchwandern, um in die Nähe der Tumorzellen zu gelangen und dort ihr tumorförderndes Sekretom auszuschütten, vermutlich durch die beobachtete Sekretion von Matrix-Metalloproteinasen, die die Extrazellulärmatrix degradieren.

Trotz der Exposition gegenüber verschiedenen wachstumsstimulierenden Signalmolekülen konnte weder für die ADSCs noch für die Tumorzellen eine signifikante Erhöhung der Proliferation durch den jeweils anderen Zelltyp beobachtet werden. Die Angiogeneseanalysen ergaben hingegen in allen ADSC-Tumorzell-Konstellationen eine Stimulation der Gefäßstrukturbildung durch die Co-Kultivierung.

Ein Unterschied bezüglich Proliferation, Migration, Invasion, Proteinexpression oder Angiogenese von ADSCs und Brustkrebszellen im Hinblick auf den Hormon- und Her2-Rezeptorstatus der ausgewählten Tumorzellen wurde nicht beobachtet. Es ergaben sich jedoch Anhaltspunkte darauf, dass ADSCs potenziell eine Herunterregulierung der Hormonrezeptorexpression in Mammakarzinomzellen induzieren und somit den Weg in Richtung eines maligneren Phänotyps ebnen könnten.

Zusammenfassend zeigt die vorliegende Studie eindeutige Hinweise auf eine gegenseitige Beeinflussung von ADSCs und Brustkrebszellen sowohl auf molekularer als auch zellulärer Ebene bei räumlicher Co-Lokalisation der beiden Zelltypen. Es konnte gezeigt werden, dass ADSCs durch ihr breitgefächertes Sekretom multiple, stimulierende Reize für unterschiedliche Mechanismen der Tumorprogression und Metastasierung sowohl für die Tumorzellen als auch die Tumormikroumgebung bieten. Eine Anwendung ADSC-basierter Therapien in der Brustchirurgie sollte somit, bis eine eindeutige Aussage über deren Auswirkungen in vivo möglich ist, nur unter strengen, onkologischen Sicherheitsvorkehrungen und entsprechender Aufklärung der betroffenen Patientinnen durchgeführt werden.