

Qingliang Wang

Dr. med.

Experimental evaluation of the principle of endothelial capture for identification of liver tumor and liver segment boundary using anti-CD31, anti-CD34 and anti-CD54 antibodies

Fach/Einrichtung: Chirurgie

Doktormutter: Prof. Dr. med. Eduard Ryschich

Hintergrund: Die Hepatektomie gilt als wichtigste Behandlungsoption bei primären und metastatischen Tumoren der Leber. Die anatomische Leberresektion umfasst die vollständige Entfernung des tumortragenden hepatischen Segments. Diese Technik verbessert die Überlebensrate und begrenzt dabei die Komplikationsrate. Die Echtzeit-Visualisierung der Segmente der Leber und die Lokalisierung von hepatischen Tumoren sind für die Durchführung der anatomischen Leberresektion sehr wichtig.

Methoden: Die Bindungsfähigkeit verschiedener Endothel-spezifischer Antikörper (anti-CD34, -CD31, -CD54, -CD146, -CD105 und -CD102) wurde durch Immunfluoreszenzfärbung von verschiedenen Arten von Maus- und Humangewebe verglichen. Klone mit schnellem Bindungs- und Translationspotential wurden durch die EC₅₀-Analyse selektiert und quantitativ analysiert. Die metabolischen und toxischen Eigenschaften der ausgewählten Klone auf vitale Zellen wurden untersucht. Die Möglichkeit der Segmentidentifizierung mithilfe von Endothelialer Anreicherung (Endothelial Capture) wurde durch isolierte Leberperfusion mit dem anti-Maus-CD31, einem mit verschiedenen Fluorophoren markierten Antikörper, *ex vivo* ermittelt. Das Translationspotential der lokalen Antikörper-Anreicherung wurde auch durch die konfokale Laserscanning-Endomikroskopie analysiert. Die Identifizierung der mikrovaskulären Grenze in Lebertumoren wurde auch durch das Endotheliale Anreicherung in verschiedenen Maus-Tumormodellen untersucht. Die Expression von CD34 auf den Blutgefäßen in unterschiedlichen Lebertumoren wurde

immunhistochemisch untersucht. Die Antikörperanreicherung von durch Endothelzellen wurde mithilfe von anti-CD34 und -CD31 mAbs analysiert.

Ergebnisse: Nach qualitativen und quantitativen Analysen ergaben sich anti-Maus-CD31 (Klon 390), -CD54 (Klon YN1/1.7.4), anti-human-CD31 (Klon WM59), -CD34 (Klon Qbend-10) und -CD54 (Klon HA58) als die besten Antikörper mit schneller Bindung. Sowohl Klon 390 als auch Klon YN1/1.7.4 wies eine schnelle Bindungsfähigkeit auf mit einer Halbwertszeit von jeweils ca. 2 und 4 Stunden, wobei keine zytotoxische Wirkung auf die Zellen in vitro detektiert wurde. Der PE-markierte anti-Maus-CD31 mAb zeigte den höchsten Kontrast des Segments im Vergleich zu anderen Fluorophor-markierten Antikörpern (einschließlich Alexa Fluor 488, FITC und Alexa Fluor 647), wobei kein Unterschied in der Effizienz von Endothelialer Anreicherung identifiziert wurde. Wegen der geringen Sensitivität des konfokalen Laserscanning-Endomikroskops wurde eine größere Dosis von anti-Maus-CD31 mAb (1200 ng) für die Identifizierung des perfundierten Lebersegments benötigt. In Anbetracht des unterschiedlichen Markierungsgrades betrug der Grenzwert für die lokale Anreicherung von Alexa Fluor488 17.4 ng/g. Weitere experimentelle Studien haben die Identifizierung von mikrovaskulären Grenzen in Lebertumoren mithilfe von Endothelialen Anreicherungen verifiziert. Darüber hinaus erlaubte die o. g. Technik die Identifizierung von mikroskopischen Metastasen (100-200 µm) in der Leber. Immunhistochemische Analyse von humanen Lebertumoren erlaubte eine Identifizierung der Tumorgrenze durch die hohe Expression von CD34 auf den Tumorblutgefäßen und fehlende CD34 Expression auf den sinusoidalen Leberendothelzellen.

Schlussfolgerungen: Die Endotheliale Anreicherung mithilfe von fluoreszenzmarkierten Endothel-spezifischen Antikörpern (anti-CD31, -CD54 mAbs) ermöglicht die Identifizierung mikrovaskulärer Grenzen in Lebertumoren und auch von selektierten Lebersegmenten. Anti-human CD34 Antikörper können hauptsächlich für die Visualisierung von Blutgefäßen in den Lebertumoren verwendet werden. Die Kombination von o. g. Antikörpern und Endocapt hat ein hohes Potential für die weitere translationelle Entwicklung in der intraoperativen Navigation.