

Poster 24 High Precision Cut Tissue Slices” kolorektaler Lebermetastasen als ein ex-vivo Modell zur Therapie-Response Beurteilung

Asma Mourad¹, Ruonan Yang¹, Andreas Dendorfer¹, Anna Christina Schmidt^{1,2}, Xiaochun Cao-Ehlker², Hanno Nieß¹, Florian Kühn¹, Jens Werner¹, Ulrich Wirth¹

¹Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie, LMU Klinikum München, Deutschland

²HTCR-Services GmbH, Am Klopferspitz 19, Planegg/Martinsried, Deutschland

Einleitung

Kolorektale Karzinome haben häufig ein gutes Ansprechen auf Polychemotherapie, woraus ein akzeptables Überleben insbesondere von Patienten mit metastasierter Erkrankung resultiert. Patienten mit metastasiertem kolorektalem Karzinom werden dabei im Rahmen von multimodalen Therapieregimen behandelt und bei Ansprechen der Chemotherapie auch im metastasierten Stadium der Resektion von Metastasen auch in kurativer Intention durchgeführt. Die ex-vivo Therapie-Evaluation von Tumorgewebe aus Patienten ist aktuell ein Feld intensiver Forschung. Neben Tumor Organoiden und Sphäroiden sind „High Precision Cut Tissue Slices“ weitere ex-vivo Modelle.

In dieser Arbeit haben wir „High Precision Cut Tissue Slices“ als ex-vivo Modell zur Beurteilung des Therapieansprechens kolorektaler Lebermetastasen etabliert und untersucht.

Methodik

Im Rahmen der Resektion von kolorektalen Lebermetastasen bei insgesamt 10 Patienten haben wir mittels einem Vibratom (Leica VT1000 S) aus Metastasengewebe 300µm Gewebeschnitte angefertigt. Die Schnitte wurden in Zellkultur kultiviert und an Tag 3 mittels modifizierter FOLFOX-Regime für 24 Stunden behandelt. Die Beurteilung des Therapieansprechens erfolgte mittels Viability-Assay (Resazurin) und immunhistochemischen Analysen von Proliferations- und Apoptosemarkern jeweils im Vergleich zu nicht-behandelten Negativ-Kontrollen. Weiterhin wurden mittels Immunfluoreszenz auch Stammzellmarker, Zellzyklusregulation und Tumor-assoziierte Fibroblastenpopulationen betrachtet.

Ergebnis

Es konnten erfolgreich Schnitte aus Lebermetastasen von n=10 Patienten angefertigt und therapiert werden. Unbehandelten Slices verändern ab dem 4. Tag in ex-vivo Kultur ihre Morphologie und zeigen weiterhin eine Abnahme der Viabilität und Proliferation sowie eine Zunahme der Apoptose.

Nach chemotherapeutischer Behandlung kommt es zu einer signifikanten Abnahme der Viabilität im Resazurin-Assay ($p < 0.01$) im Vergleich zu unbehandelten Negativkontrollen. Weiterhin lassen sich eine Abnahme der Tumorzellproliferation (Ki67; $p < 0.01$) sowie eine Zunahme von apoptotischen Tumorzellen (Cleaved Caspase 3; $p < 0.01$) nachweisen. Weiterhin zeigen sich unter chemotherapeutischer Behandlung Veränderungen in der Zellzyklusregulation (cyclin D1), von Stammzellmarkern (ALDH) oder auch der Häufigkeit von Tumor-assoziierten Fibroblasten (FAP).

Schlussfolgerung

Sogenannte “High Precision Cut Tissue Slices” sind ein interessantes ex-vivo Modell zur Therapieevaluation solider Tumore. Ein Nachteil ist, dass sie aufgrund der benötigten Gewebemenge nur aus chirurgischen Resektaten gewonnen werden können und nur für kurze Zeit (< 14 Tage) in Kultur gehalten werden können. Hierbei ist jedoch von entscheidendem Vorteil, dass die Tumorzellen im Verbund mit extrazellulärem Milieu und Immunzellen vorliegen und somit auch Therapie-assoziierte Interaktionen evaluiert werden können.