

# **ENTWICKLUNG UND CHARAKTERISIERUNG HUMANER TUMORMODELLE DURCH ORTHOTOPE IMPLANTATION**

## **INHALTSVERZEICHNIS**

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Literaturübersicht</b>	<b>3</b>
<b>2.1</b>	<b>Bedeutung der thymusaplastischen Nacktmaus für die onkologische Forschung</b>	
<b>2.2</b>	<b>Subkutane Implantation humaner Tumorxenografts</b>	<b>4</b>
<b>2.3</b>	<b>Präklinische Testmodelle für die Zytostatikaentwicklung</b>	<b>5</b>
<b>2.4</b>	<b>Notwendigkeit eines kliniknahen Metastasierungsmodells</b>	<b>7</b>
<b>2.5</b>	<b>Orthotope Implantation humaner Tumorxenografts</b>	<b>11</b>
 <b>3 Eigene Untersuchungen</b>		
<b>3.1</b>	<b>Material und Methoden</b>	<b>13</b>
<b>3.1.1</b>	<b>Nacktmäuse</b>	<b>13</b>
<b>3.1.2</b>	<b>Merkmale der untersuchte Tumormodelle</b>	<b>13</b>
<b>3.1.3</b>	<b>Transplantationstechniken</b>	<b>16</b>
3.1.3.1	Operationsbesteck und Verbrauchsmaterialien	16
3.1.3.2	Subkutane Implantation	16
3.1.3.3	Subkutane Injektion von Tumorzellen	17
3.1.3.4	Orthotope Implantation	17
3.1.3.5	Asziteszellen-Injektion	19

<b>3.1.4</b>	<b>Kontrolle des Wachstumsverlaufes</b>	<b>19</b>
3.1.4.1	Subkutane Tumormodelle	19
3.1.4.2	Orthotope Tumormodelle	20
3.1.4.3	Aszitesmodell	20
3.1.4.4	Körpergewichtsbestimmung	22
<b>3.1.5</b>	<b>Sektionen und histologische Aufarbeitung</b>	<b>23</b>
<b>3.1.6</b>	<b>Immunhistochemie</b>	<b>24</b>
3.1.6.1	Material	24
3.1.6.2	Methode	24
<b>3.1.7</b>	<b>Bestimmung der vaskulären Permeabilität</b>	<b>25</b>
<b>3.1.8</b>	<b>Aufbau der Chemotherapieversuche</b>	<b>27</b>
3.1.8.1	Subkutane Tumormodelle	27
3.1.8.2	Orthotope Tumormodelle	28
<b>3.1.9</b>	<b>Art und Durchführung der zytostatischen Therapie</b>	<b>28</b>
<b>3.1.10</b>	<b>Parameter zur Beurteilung der Chemotherapie</b>	<b>31</b>
3.1.10.1	Wachstumsverlauf im Längsschnitt	31
3.1.10.2	Tumorgößenhemmung im Querschnitt	31
3.1.10.3	Relative Tumorwachstumsverzögerung	32
3.1.10.4	Verhalten der Einzeltumoren	32
<b>3.1.11</b>	<b>Berechnung der Tumorwachstumskurven und Verdoppelungszeiten</b>	<b>33</b>
<b>3.1.12</b>	<b>Computerprogramme zur Datenerfassung und Auswertung</b>	<b>33</b>
<b>3.1.13</b>	<b><i>In vitro</i> Propagierung des Aszitesmodells</b>	<b>33</b>
3.1.13.1	Kulturbedingungen	33
3.1.13.2	Bestimmung der Anzahl vitaler Zellen	34
3.1.13.3	Einfrieren und Reaktivieren von Zellen	34
3.1.13.4	Bestimmung der Zellverdoppelungszeit basierend auf DNA-Gehaltsbestimmung	34

<b>3.2</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>36</b>
<b>3.2.1</b>	<b>Etablierung von orthotopen Modellen</b>	<b>36</b>
3.2.1.1	Kolonkarzinom CXF 1103T	37
3.2.1.2	Blasenkarzinom BXF 1299T	38
3.2.1.3	Prostatakarzinom PRXF PC3T, PC3MT und PC3MMT	40
3.2.1.4	Aszites PRXF PC3MAS	41
3.2.1.5	Weitere orthotop implantierte Tumoren	42
<b>3.2.2</b>	<b>Charakterisierung der orthotopen Modelle</b>	<b>44</b>
3.2.2.1	Angangsrate	44
3.2.2.2	Wachstumsgeschwindigkeit	44
3.2.2.3	Körpergewichtsveränderung	64
3.2.2.4	Infiltration und Metastasierung	69
3.2.2.5	Histologie und Zytologie	77
3.2.2.6	Immunhistochemie	89
3.2.2.7	Vaskuläre Permeabilität	94
3.2.2.8	Chemosensibilität auf Standardsubstanzen	95
<b>3.2.3</b>	<b>Etablierung und Charakterisierung der Asziteszellinie PRCL PC3MAS</b>	<b>113</b>
3.2.3.1	Etablierung der Asziteszellinie PRCL PC3MAS	113
3.2.3.2	Zellverdoppelungszeit	114
3.2.3.3	Wachstumsverhalten nach dem Tieffrieren	114
3.2.3.4	Wachstumsverhalten subkutan injizierter Zellen auf der Nacktmaus	114

<b>4</b>	<b>Diskussion</b>	<b>119</b>
<b>4.1</b>	<b>Vergleich der orthotop und subkutan wachsenden Xenografts</b>	<b>119</b>
4.1.1	Angangsrate und Wachstumsgeschwindigkeit	119
4.1.2	Körpergewichtsänderung	121
4.1.3	Infiltration und Metastasierung	121
4.1.4	Histologie und Immunhistochemie	122
4.1.5	vaskuläre Permeabilität	125
4.1.6	Chemosensibilität gegenüber Standardsubstanzen	126
<b>4.2</b>	<b>Vergleich der orthotop implantierten Xenografts mit dem Ursprungstumor im Patienten</b>	<b>127</b>
4.2.1	Infiltration und Metastasierung	127
4.2.2	Histologie	130
<b>4.3</b>	<b>Bedeutung von orthotopen Tumormodellen für die Substanzentwicklung</b>	<b>131</b>
4.3.1	Antimetastastatisch wirkende Substanzen	131
4.3.2	Lokale Therapieformen	132
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>134</b>
<b>6</b>	<b>Summary</b>	<b>136</b>
<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>138</b>
<b>8</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>145</b>



Meinen Eltern

Aus dem Institut für Veterinärpathologie  
des Fachbereiches Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

und  
der Klinik für Tumorbilogie Freiburg

**Entwicklung und Charakterisierung humaner  
Tumormodelle  
durch orthotope Implantation**

INAUGURAL-DISSERTATION  
zur Erlangung des Doktorgrades eines  
Doktors der Veterinärmedizin  
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von  
**Julia Schüler**  
Tierärztin aus Freiburg im Breisgau

Berlin 1999  
Journal-Nr.: 2333

Gedruckt mit Genehmigung  
des Fachbereiches Veterinärmedizin  
der Freien Universität Berlin

Dekan:

Univ.-Prof. Dr. K. Hartung

Erster Gutachter:

Univ.-Prof. Dr. R.Rudolph

Zweiter Gutachter:

Univ.-Prof. Dr. R.Juhr

Tag der Promotion: 26.11.1999

Journal-Nr.: 2333

### **Mein herzlicher Dank gilt:**

Herrn Prof. Dr. R. Rudolph für die Betreuung der Arbeit sowie für sein Interesse, seine Hilfsbereitschaft und seine guten Ratschläge.

Herrn Prof. Dr. H.H. Fiebig für die Überlassung des Themas und für seine jederzeitige Beratung und Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Frau Dr. A. Burger für die gute Betreuung und die sehr ergiebigen Diskussionen während der Arbeit und des Zusammenschreibens.

Frau Anke Häring für ihre Hilfe, ihr Interesse, ihre Begeisterung und ihre Aufmunterung.

Allen Mitarbeitern der Firma Oncotest, insbesondere Chris Eckert, Anuschka Unold und Bettina Spitzmüller für ihre stetige Hilfsbereitschaft und Unterstützung.

Herrn R. M. Hofmann, Ph.D., San Diego, für die Hilfsbereitschaft, Gastfreundschaft und Unterstützung, die er mir während meines Aufenthaltes in seinem Institut zu Gute kommen ließ. Insbesondere sei gedankt Zilly An für seine Geduld bei meiner Einarbeitung in die Mikrochirurgie.

Frau Malter vom Tierhygienischen Institut Freiburg, die mir die Einarbeitung in die histologischen Techniken mit viel Geduld und Enthusiasmus ermöglichte.

Der Arbeitsgruppe von Dr. U. Massing aus der Klinik für Tumorbologie, Freiburg für die Überlassung der liposomalen Formulierung des Gemcitabin, insbesondere Frank Gütlein für die unkomplizierte Zusammenarbeit.

Darüber hinaus möchte ich mich bei meinen Eltern bedanken, die mich stets bei allem unterstützten, was mir wichtig war; bei meinen Freunden und meiner Schwester, die stets für mich da waren und bei Ralph.

## Lebenslauf

Name: Julia Beatrix Schüler

Geburtsdatum: 27.09.1971 in Freiburg im Breisgau

Eltern: Dietmar Schüler, Betriebswirt  
Amanda Schüler, geb. Meister,  
Hauswirtschaftsmeisterin

Familienstand: ledig

1978-1982 Grund-und Hauptschule Turnseeschule,  
Freiburg

1982-1991 Deutsch-französisches Gymnasium,  
Freiburg

Mai 1991 Erlangung der Allgemeinen Hochschulreife

1991-1997 Studium der Veterinärmedizin, FU Berlin  
Mai 1997 Abschluss der Tierärztlichen Prüfung  
Juni 1997 Approbation als Tierarzt

seit Juni 1997 Doktorand am Institut für  
Veterinärpathologie  
der Freien Universität Berlin.

Juni 1997- Juli 1999 Angestellte Tierärztin der Firma Oncotest  
GmbH

seit Juli 1999 Postdoc-Stipendium am  
Max-Planck-Insitut f. Immunbiologie,  
Freiburg

Hiermit versichere ich, Julia Schüler, die vorliegende  
Dissertation auf der Grundlage der angegebenen Hilfsmittel  
und Hilfen selbständig verfaßt zu haben.

Freiburg, den 18.7.1999

( Julia Schüler )

Teile dieser Arbeit wurden bereits veröffentlicht:

Schüler, J.B. An, Z., Hoffman, R.M., Burger, A.M. & Fiebig, H.H. (1998):  
Development of an orthotopic mouse model to study invasion and metastasis of human bladder cancer.  
Ann. Hematol., **77**, S220.

