

10. März 2017

„Mini-Organe“ für die Krebsforschung

Organähnliche, wenige Millimeter große, dreidimensionale Zellstrukturen, die sich im Kulturmedium aus epithelialen Stammzellen bilden, nennt man Organoide. Sie sind für die Krebsforschung von großem Interesse, denn es ist möglich, diese Mini-Organe aus verschiedenen Geweben herzustellen. Sie bleiben genomisch und phänotypisch in Kultur sehr lange stabil und so können an ihnen potenzielle Onkogene untersucht werden. Darüber hinaus können Organoide in vitro und in vivo in Mausmutanten transplantiert werden. Auch aus Tumoren können Organoide hergestellt werden und so Biobanken aufgebaut werden. Prof. Dr. Calvin Kuo, Stanford, USA, führte seine Zuhörer durch eine spannende Reise von der Stammzellforschung bis zur Organoid-Technologie und deren Perspektiven.

Ausgangspunkt für die Entwicklung von Organoiden war die Entdeckung intestinaler LGR5-Rezeptor5(LGR5)-Stammzellen in der Kryptenbasis, die sehr schnell proliferieren. Sie migrieren die Dünndarmzotten aufwärts und differenzieren sich in verschiedene Zelltypen. Wird der Wnt-Signalweg blockiert – und LGR5 gehört zu diesem Signalweg – degenerieren die Dünndarmzotten. Kultiviert man hingegen LGR5-Stammzellen in einem Medium, das Wnt-Signalproteine enthält, so beginnen sie sich zu teilen und differenzieren zu dreidimensionalen Strukturen. Es gibt verschiedene Möglichkeiten, Organoide wachsen zu lassen. Am besten gedeihen sie in einem sog. Air-Liquid-Interface-Medium (ALI-Kultur), in dem sie mit der Oberfläche in Kontakt stehen und gut oxygeniert sind, erklärte Kuo. Es ist heute möglich, Organoide aus verschiedenen Gewebetypen heranwachsen zu lassen, z.B. aus Magen-, Pankreas-, Kolon- oder Dünndarmgewebe.

Als nächstes entstand die Idee, nicht nur normale Wildtyp-Organoide herzustellen, sondern bekannte Krebsgene zu transformieren und Tumorsuppressoren zu inaktivieren und so Tumor-Organoide zu erzeugen.

Am häufigsten kommen beim Kolonkarzinom Mutationen in den Tumorsuppressorgenen Apc, p53, Smad4 und im Onkogen KRAS vor. Indem sie diese Gene nacheinander ausschalteten, konnten Kuo und seine Arbeitsgruppe an Kolon-Organoiden eine Tumorgenese simulieren. Durch eine Apc-Deletion, die ca. 85% aller Kolonkarzinome aufweisen, entwickelten sich Polypen in den Organoiden. Je mehr Gene ausgeschaltet wurden, umso progressiver war die Transformation. Die Mini-Organe zeigten schließlich eine hochgradige Dysplasie und invasives Tumorwachstum: Ein Adenokarzinom war entstanden. Das Modell ließ sich auf andere Organoide erweitern und es gibt z.B. Magen-Organoide (KRAS^{G12D} + p53-null) und Pankreas-Organoide (KRAS^{G12D} + p53-null) (1).

Screening von Onkogenen

An Organoiden sind sehr präzise genetische Manipulationen möglich, und so war es nicht weit bis zum nächsten Schritt – dem Onkogen-Screening. Ein Beispiel, über das Kuo berichtete, ist die Validierung der Mikro-RNA miR-483, die von einem Intron des Onkogens IGF2 auf Chromosom 11 (11p15.5) codiert wird (1, 2). Überraschenderweise führte nicht IGF2, sondern miR-483 in Apc-defizienten Organoiden zu einer sehr ausgeprägten dysplastischen Reaktion.

Eine weitere interessante Entdeckung lieferte das Onkogen-Screening an Organoiden beim hereditären diffusen Magenkrebs. Die Betroffenen haben in der Keimbahn eine charakteristische CDH1/E-Cadherin-Mutation. Eine Patientin mit dieser Mutation entwickelte im Alter von 37 Jahren ein primäres Magenkarzinom, in dem eine CDH1- und eine TP53-Mutation nachgewiesen wurde. Nach 3 Jahren entwickelte sie Metastasen im linken Ovar, in denen zusätzlich noch ein Verlust von TGFbeta-Rezeptor2 (TGFB2-/-) vorlag. Diese Mutation war beim Magenkrebs zuvor noch nicht untersucht worden. Magen-Organoiden mit Cdh1- und p53-Mutation wurden in Mausmutanten transplantiert. In Tieren, bei denen TGFB2 unterdrückt wurde, wuchsen Magen-Organoiden sehr viel schneller als in Tieren mit intaktem TGFB2 und sie entwickelten spontan Lungenmetastasen.

Die Möglichkeiten der Organoid-Forschung sind damit noch nicht erschöpft. So können viele andere Einflussfaktoren auf die Krebsentstehung untersucht werden wie etwa die von Infektionen. Es bietet sich außerdem die Möglichkeit, Biobanken von Tumoren anzulegen, da sich Organoiden auch aus Tumormaterial entwickeln. Die Tumor-Organoiden weisen die gleiche Histologie wie die Primärtumoren auf und besitzen z.B. auch Stroma. Sie können genetisch als Tumore charakterisiert und in Tiere transplantiert werden, um nachzuweisen, ob und wie die Tumoren wachsen. Tumor-Organoiden reagieren auch sensitiv auf Krebsmedikamente und damit kann eine Datenbank generiert werden, die genetische und transkriptionelle Informationen mit dem Ansprechen auf ein Medikament in Verbindung bringt.

(as)

Quelle: Keynote Lecture „The Journey From Intestinal Stem Cells to Cancer Organoids“, Gastrointestinal Cancers Symposium 2017, San Francisco

Literatur:

(1) Li X et al. *Nature Med* 2014; 20:769-777.

(2) TCGA (The Cancer Genome Atlas Network) *Nature* 2012.