

Magnetische Durchflusszytometrie „MrCyte“ als innovative nanomedizinische Methode zur Detektion zirkulierender Tumorzellen

Julian Künzel, Dorothee Gößwein, Sebastian Strieth, Christoph Matthias, Roland Stauber  
Hals- Nasen- Ohrenklinik der Universitätsmedizin Mainz

Einleitung:

Die Detektion disseminierter Tumor-Zellen („circulating tumor cells“ = CTCs) im Blut von Krebspatienten rückt derzeit in das Zentrum des prognostischen/diagnostischen Interesses. CTCs können möglicherweise als frühe Indikatoren eines Therapieversagens bzw. einer Mikrometastasierung herangezogen werden. (1) Die potenzielle Assoziation dieser früh-systemischen Tumorkomponente mit einer ungünstigen Prognose konnte bereits für einige Karzinome demonstriert werden. (2,3) CTCs scheinen sich daher zum minimal-invasiven Monitoring des Therapieerfolgs auch bei Kopf-Hals-Tumoren zu eignen. (4) Bisherige FACS-basierte Nachweisverfahren sind nicht nur arbeits- sondern auch kostenintensiv, was deren breite Anwendung in der klinische Routine sowie die Evaluierung der klinischen Relevanz von CTCs bislang blockierte.

Material/Methoden:

Es wurde ein mikrofluidisches GMR-Chip-basiertes „point of care“ System entwickelt („giant magnetoresistant sensors“= Halbleiter). Diese magnetische Durchflusszytometrie basiert auf dem Prinzip der Sortierung von Zellen mittels Antikörper-konjugierter ferromagnetischer Nanopartikel. (5) Binden die eingesetzten Antikörper spezifisch an Moleküle auf der Zelloberfläche, können die Zellen aufgrund der ferromagnetischen Nanopartikel durch Anlegen eines Magnetfeldes angereichert und sensitiv quantifiziert werden (Video 1 und Abbildung 2).

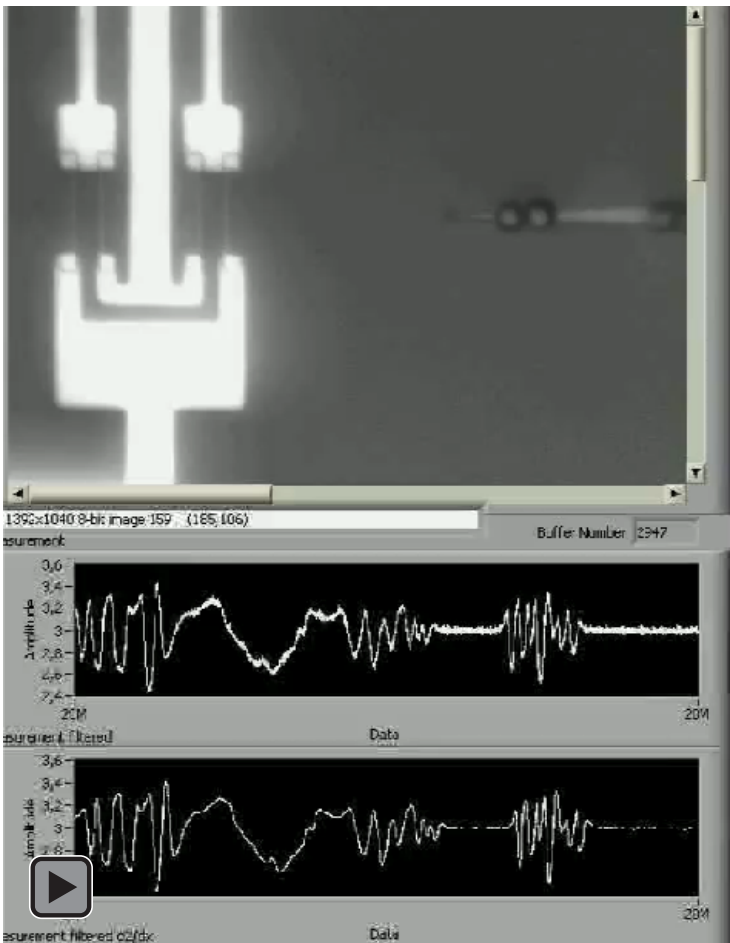


Abb.1. Video einer TOF Detektion von Nanopartikeln mittels GMR Sensor

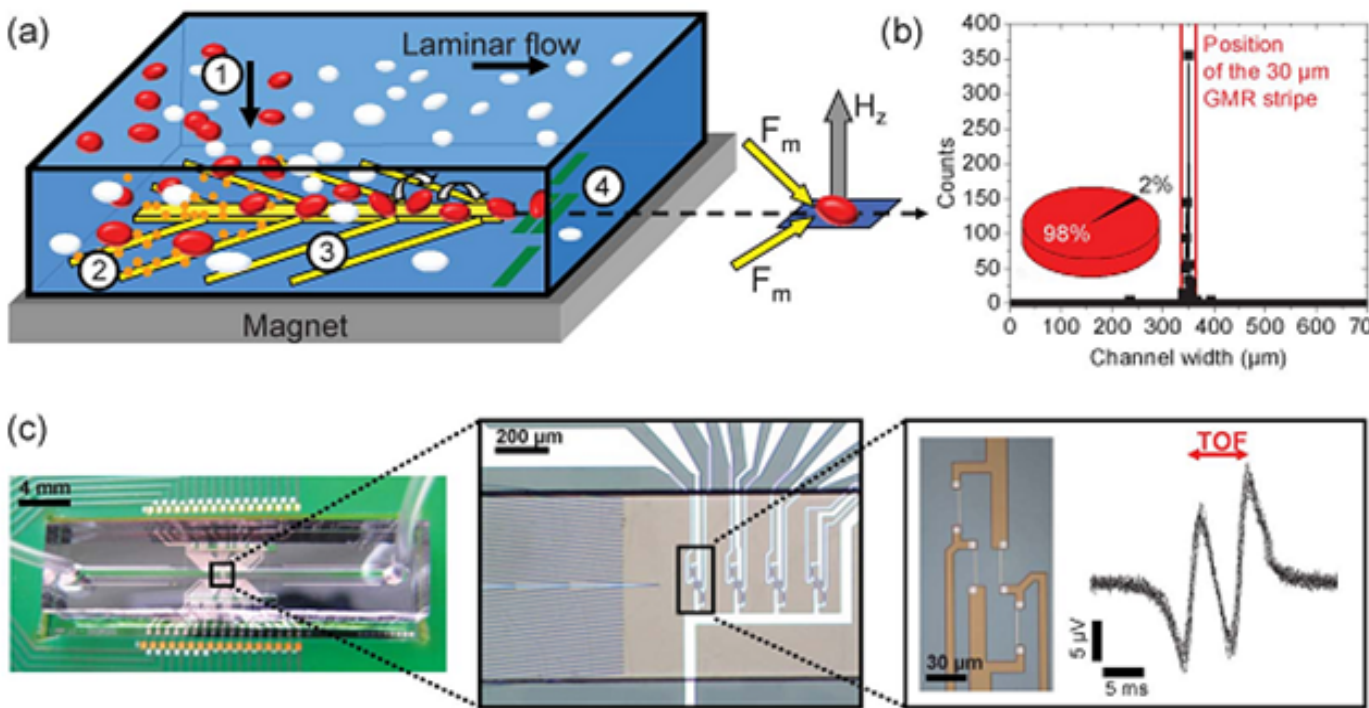


Abb.2 MrCyte (5)  
(a) Workflow (1) in situ Anreicherung von markierten Zellen (rot), (2) in situ Filtration nicht gebundener magnetischer Marker (orange) entlang eines magnetophoretischen Leiters (gelb), (3) in situ Anreicherung und Anordnung von markierten Zellen in einem laminaren Fluss, (4) magnetoresistive TOF Detektion (grüne Streifen = GMR).  
(b) Optische Validierung des magnetophoretischen Zellflusses  
(c) mikrofluidischer Chip, Ausschlag zeigt magnetophoretisches Signal (TOF).

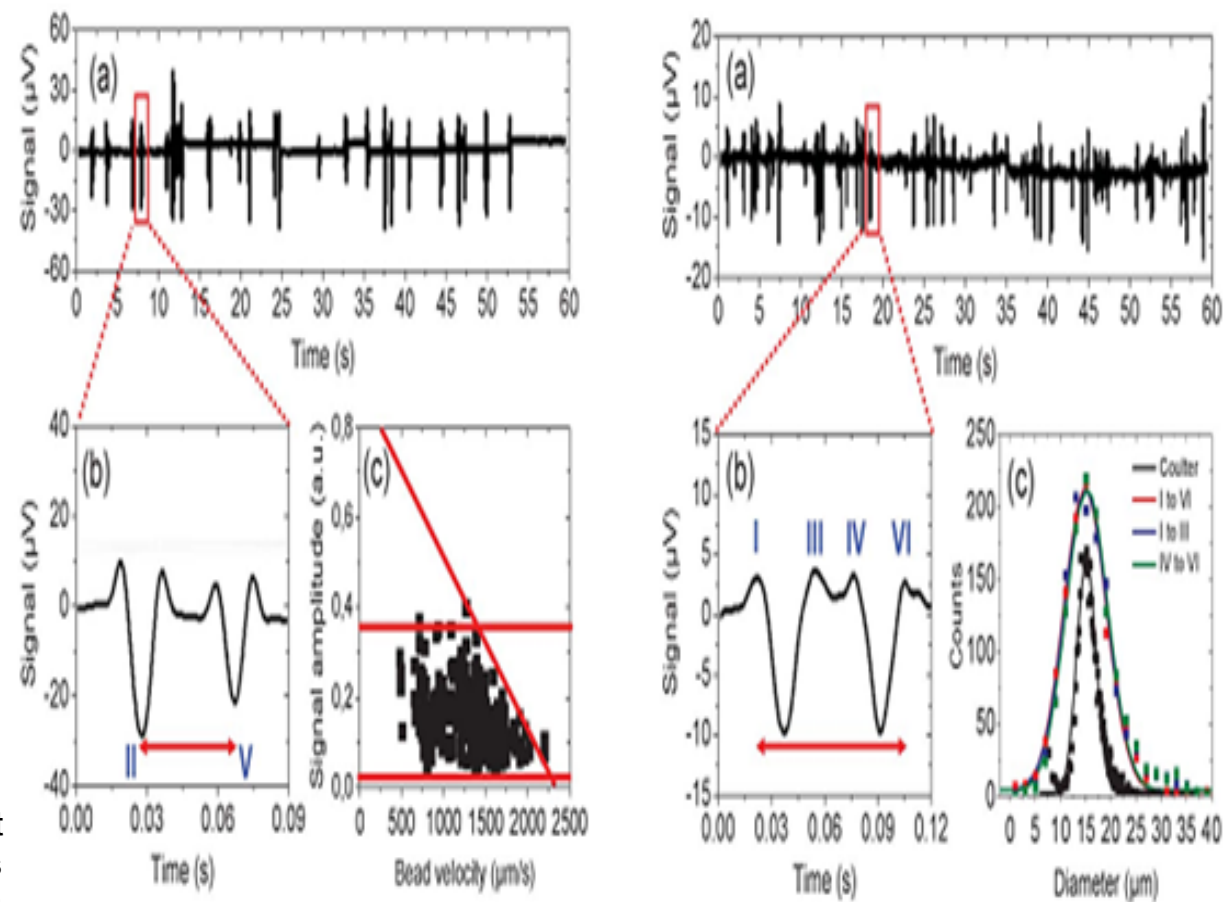


Abb.3 Detektion von gepufferten Nanopartikeln links, und EpCAM markierten Tumorzellen rechts (5)

Ergebnisse:

Erfolgreiche Detektion von 12 µm Nanopartikeln in Pufferlösung. (siehe Abb. 3 links). Das Signalmuster (b) entspricht der Theorie (s. Abb. 2). Im Scatter Plot (c) ist die Signalamplitude als Funktion der Teilchenflussgeschwindigkeit und der Flussrate dargestellt. Erfolgreiche Detektion von EpCAM markierten FaDu Tumorzellen in EDTA Vollblut (s. Abb. 3. rechts). Das Signalmuster entspricht dem Muster der einzelnen Nanopartikel. In Abb 3c rechts wurde die hydrodynamische und die magnetische Zellgröße mit einem Coulter- Zähler gemessen.

Schlussfolgerung:

Ziel des Vorhabens ist die Anwendung des „MrCyte“ zur Quantifizierung und anschließenden molekularen Charakterisierung von CTCs aus dem Blut von Kopf-Hals-Tumorpatienten. „MrCyte“ hat als kostengünstiges IVD- Produkt das Potential eine breite Anwendung in der täglichen Routine zu finden.

Literatur:  
1. Husemann, Y. et al. Systemic spread is an early step in breast cancer. Cancer Cell. 13, 58–68 (2008)  
2. Slade, M. J., Coombes, R. C. The clinical significance of disseminated tumor cells in breast cancer. Nature Clin. Pract. Oncol. 4, 30–41 (2007).  
3. Gröbe A, et al. Prognostic relevance of circulating tumor cells in blood and disseminated tumor cells...oral cavity. Clin Cancer Res. 15, 425-33. (2014)  
4. Wikner J. et al. Squamous cell carcinoma of the oral cavity and circulating tumour cells. World J Clin Oncol. 10, 114-24. (2014)  
5. Helou M, Stauber RH, et al. Time-of-flight magnetic flow cytometry in whole blood with integrated sample preparation. Lab Chip. 21, 1035-8 (2013)