

## Die 96-well hanging drop Methode zur Untersuchung von Kopf-Hals-Karzinomen

Becker S<sup>1</sup>, Hahn M<sup>2</sup>, Welz C<sup>3</sup>, Matthias C<sup>1</sup>, Baumeister P<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Hals-Nasen-Ohren-Klinik und Poliklinik, Universitätsmedizin Mainz

<sup>2</sup> Klinik und Poliklinik für Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde, Ludwig-Maximilians-Universität München

<sup>3</sup> Klinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde, Universitätsmedizin Göttingen

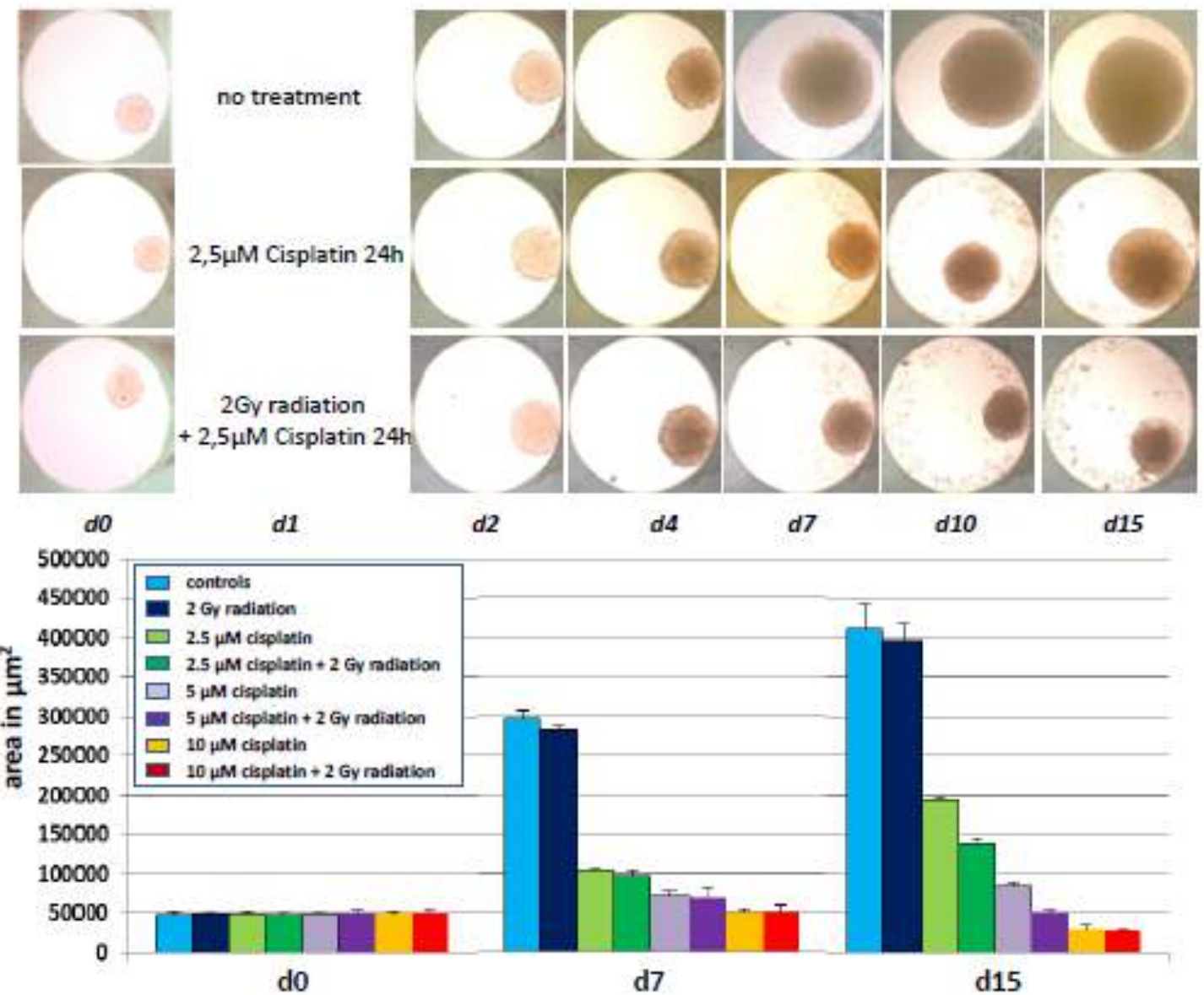
### Einleitung

Die Untersuchung verschiedener Therapiekonzepte (Bestrahlung, Chemotherapie, Kombinationstherapien) bei Kopf-Hals-Tumorzelllinien ist häufig zeitaufwendig und kostenintensiv. Schnelle Hochdurchsatz-Verfahren wären daher wünschenswert. In der vorliegenden Studie sollte ein Hochdurchsatz 3D-Tumormodell basierend auf der hanging drop Methode evaluiert werden.

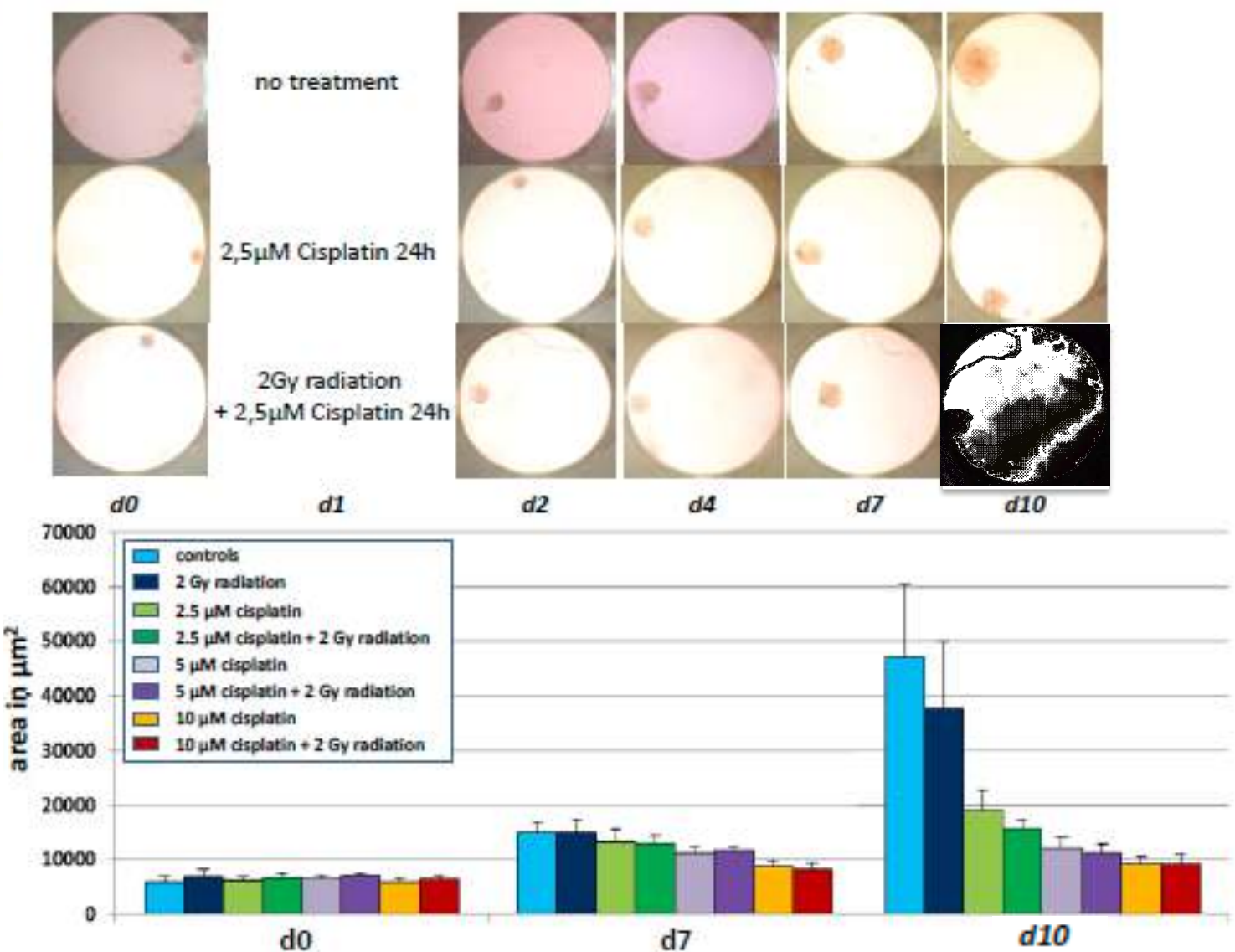
### Methoden

Jeweils 1000 FaDu-Zellen bzw. 2000 Cal27-Zellen wurden für 3 bzw. 5 Tage in hängenden Tropfen einer 96-well Platte kultiviert. Im Anschluss konnten die 3D-Mikrotumore in eine spezielle Kultivierungsplatte geerntet werden. Einzelne Sphäroide erhielten eine Bestrahlung, Chemotherapie mit Cisplatin oder eine Kombination aus beidem. Mikroskopisch wurden digitale Bilder aquiriert und diese offline mittels dem Freeware-Bildverarbeitungsprogramm J-Image planimetrisch ausgewertet.

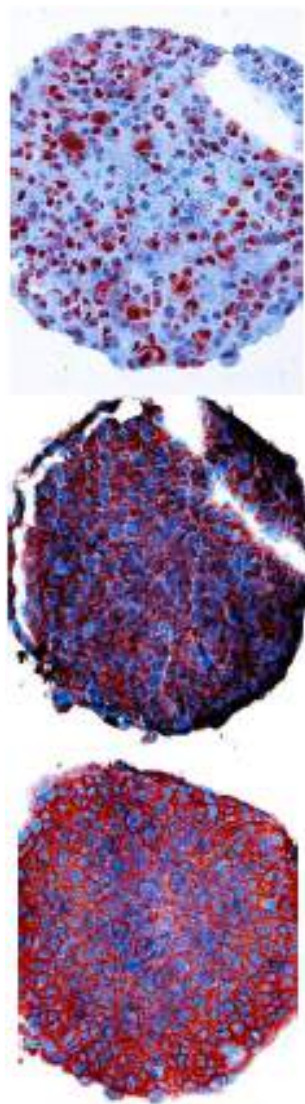
### Ergebnisse



**Fig. 1:** Wachstumsverlauf von FaDu 3D-Mikrotumoren über 15 Tage nach Kultur im hängenden Tropfen für 3 Tage. Die Tumore wurden mit unterschiedlichen Konzentrationen von Cisplatin (2,5  $\mu$ M, 5  $\mu$ M, 10  $\mu$ M) sowie mit und ohne Bestrahlung (2 Gy) behandelt (n = 8 pro Gruppe). Das Wachstum der sphärischen Mikrotumore war nach Chemotherapie oder Kombinationstherapie signifikant gegenüber der Kontrolle verlangsamt.



**Fig. 2:** Wachstumsverlauf von Cal27 3D-Mikrotumoren über 10 Tage nach Kultur im hängenden Tropfen für 5 Tage. Die Tumore wurden mit unterschiedlichen Konzentrationen von Cisplatin (2,5  $\mu$ M, 5  $\mu$ M, 10  $\mu$ M) sowie mit und ohne Bestrahlung (2 Gy) behandelt (n = 8 pro Gruppe). Das Wachstum der sphärischen Mikrotumore war nach Bestrahlung oder Chemotherapie / Kombitherapie signifikant gegenüber der Kontrolle verlangsamt.



**Fig. 3**

**Fig. 3:** Immunhistochemische Färbung eines FaDu-Mikrotumors der Kontrollgruppe nach drei Tagen Kultur im hängenden Tropfen und anschließender Kultivierung über weitere 10 Tage: Ki67 (oben), EGFR (Mitte), EpCam (unten). Vergrößerung 20x.

### Diskussion und Schlussfolgerung

Mit der vorliegenden 96 well hanging drop Methode war es möglich Therapieeffekt darzustellen und Unterschiede im Therapieansprechen zwischen den beiden Zelllinien herauszuarbeiten. In weiteren Versuchen soll untersucht werden ob die Methode auch zur Anzucht von Tumorzellen aus Frisch-Biopsaten dient. Über das individuelle Therapieansprechen vor Beginn der eigentlichen Therapie könnten so eventuell Aussagen getroffen werden.