Verh. Anat. Ges. 85 (Anat. Anz. Suppl. 170), 591–592 (1991) © Gustav Fischer Verlag Jena

Untersuchungen zum Invasionsverhalten dreidimensional wachsender Chorion-Karzinomzellen

R. Grümmer und H.-W. Denker

Institut für Anatomie, Universitätsklinikum, Gesamthochschule Essen, BRD

Die Untersuchungen, über die wir hier berichten, haben zum Ziel, ein dreidimensionales In-vitro-System für das Studium der Invasion menschlicher Trophoblastzellen in ihr typisches Wirtsgewebe, das Endometrium, zu entwickeln.
Als Modell für den invasiven Trophoblasten verwenden wir dreidimensional wachsende Aggregate aus Chorion-Karzinomzellen (Zellinien BeWo, Jeg-3, JAr). Wie schon früher beschrieben, weisen die Zellen in diesen Tumorzell-Sphäroiden sowohl morphologische als auch funktionelle Merkmale z. T. des Zytotrophoblasten, z. T. des Synzytiotrophoblasten auf (Grümmer et al., im Druck).

Die Invasivität der Zellen wurde zunächst in einem etablierten Invasionsassay nach Mareel et al. (1979) getestet, in dem Tumorzell-Sphäroide mit Fragmenten aus embryonalem Hühnerherz zusammengebracht werden. In diesem Test erwiesen sich alle drei verwendeten Chorion-Karzinomzellinien als invasiv.
Nach diesen Voruntersuchungen wurden menschliches Endometriumgewebe als Wirtsgewebe getestet. Es stammt aus Hysterektomien aus der mittleren Sekretionsphase. Das Gewebe wurde in Anlehnung an ein Kaninchen-Endometrium-Organkulturmodell (Denker et al. 1984; Hohn und Denker 1985) nach der Explantation in kleine Fragmente geschnitten und drei Tage lang unter Zugabe von Progesteron und Östradiol in der Schüttelkultur kultiviert. Unter diesen Bedingungen regenerierte sich das Oberflächenepithel, so daß es die Fragmente vollständig umschloß. Stromazellen und Drüsenschläuche waren in ihrer organotypischen Anordnung gut erhalten.

Diese vorkultivierten, epithelumschlossenen Endometriumfragmente wurden dann mit Sphäroiden aus Chorion-Karzinomzellen nach dem Prinzip des Mareel-Assays zusammengebracht. Nach verschiedenen Zeitintervallen wurden Proben entnommen und in Serie geschnitten, um so den Invasionsprozeß verfolgen zu können.

Die Chorion-Karzinomzellen heften sich an das Epithel der Endometriumfragmente an und drangen im Verlauf der Schüttelkultur durch das Epithel in das endometriale Stroma ein. Bei der Anheftung der Tumorzellen an das Epithel bildeten sich, offenbar ausgehend von den Mikrovilli der beiden Gewebe, primitive und zunächst punktuelle Zellkontakte. Dies ist für apikale Membranen (Endometriumepithel!) bemerkenswert.
Im weiteren Verlauf der Kultur drangen die Tumorzellen zwischen die Epithelzellen der Endometriumfragmente ein. Hierbei legten sich die Chorion-Karzinomzellen der lateralen Membran der Epithelzellen eng an, die Membranen verliefen weitgehend parallel, und es wurden auch hier Zellkontakte (vorwiegend primitive Adhärensjunktionen) ausgebildet. An einigen Stellen zeigten die Epithelzellen die Ausbildung basaler Fortsätze, die die Basallamina ausstülpten. Anzeichen für eine Zytolyse der Epithelzellen durch die Tumorzellen waren nicht zu erkennen.
Nach zwei Tagen in der Schüttelkultur waren Tumorzellen im Fall der Jeg-3-Linie tief in das Stroma des Endometriumfragmentes invadiert. Das Wirtsgewebe war zum großen Teil von den Tumorzellen ersetzt worden, an manchen Stellen hatten diese auch die Drüsenepithelien von der basalen Seite her angegriffen.
In diesem dreidimensionalen In-vitro-Modell ist es somit möglich, die Anheftung von Chorion-Karzinomzellen als Modell für den menschlichen Trophoblasten an das Uterusepithel sowie die ersten Phasen der Invasion in das endometriale Stroma zu verfolgen. Das System scheint zudem eine bemerkenswerte Spezifität aufzuweisen, da die menschlichen Chorion-Karzinomzellen offenbar nicht

in der Lage sind, über das Epithel in Fragmente aus Kaninchenendometrium (im Gegensatz zu menschlichem) zu invadieren (DONNER et al., dieser Verhandlungsband).
Das Modell könnte daher Möglichkeiten eröffnen, bestimmte zellbiologische Elemtarvorgänge, die frühen Stadien der Embryoimplantation beim Menschen analog sein dürften, zu untersuchen.

Unterstützt durch den Minister für Wissenschaft und Forschung des Landes NRW, Projekt Nr. 50001988

DENKER, H.-W., BUSCH, L. C., KÜHNEL, W.: Endometrial organ culture: development of an in-vitro model for embryo implantation. Anat. Anz. **156,** 142 (1984).

GRÜMMER, R., HOHN, H.-P., DENKER, H.-W.: Choriocarcinoma cell spheroids: an in vitro model for the human trophoblast. Troph. Res. **4**, 97–111 (1990).

HOHN, H.-P., DENKER, H.-W.: Attachment and invasion of rabbit blastocytes confronted with endometrium in organ culture. Europ. J. Cell Biol. Suppl. **7** (Vol. 36), 15 (1985).

MAREEL, M., KINT, J., MEYVISCH, C.: Methods of study of the invasion of malignant C3H-mouse fibroblasts into embryonic chick heart in vitro. Virchows Arch. B Cell Path. **30**, 95–111 (1979).

Anchrift: RUTH GRÜMMER, Institut für Anatomie, Universitätsklinikum Essen, Hufelandstr. 55, W - 4300 Essen