Verh. Anat. Ges. 84 (Anat. Anz. Suppl. 168), 49–50 (1991) © Gustav Fischer Verlag Jena

Differenzierung von Chorionkarzinomzellen auf extrazellulärer Matrix

H.-P. Hohn[1], H.-W. Denker und M. Höök[2]

[1]Institut für Anatomie Universitätsklinikum Essen, BRD und [2]Dept. of Biochemistry, University of Alabama at Birmingham, Al., USA

Chorionkarzinomzellen sind ebenso wie der normale Trophoblast (bzw. Subpopulationen) ausgesprochen invasiv. Die Invasion des normalen Trophoblasten unterliegt allerdings Regulationen, deren Mechanismus unbekannt ist. In utero wird vor allem eine räumliche Limitierung der Invasion auf das Endometrium deutlich, sowie nach ektopischer Transplantation eine zeitliche Begrenzung (Kirby). Dagegen ist die Invasion des malignen Trophoblasten unkontrolliert. Trotzdem sind Chorionkarzinomzellen fähig zur Differenzierung, abzulesen an der Expression von verschiedenen Genprodukten (Trophoblast-Markern). Da extrazelluläre Matrix (ECM) generell die Zelldifferenzierung induzieren bzw. modulieren kann, haben wir das Differenzierungsverhalten von Chorionkarzinomzellen der Zell-Linie BeWo beim Wachstum auf ECM untersucht.

Als Matrix-Substrate haben wir einerseits isolierte Komponenten, und zwar Laminin, Fibronectin und Kollagen I und IV, eingesetzt. Als komplexe Matrices wurden andererseits eine aus Placenta isolierte Matrix und die basalmembranähnliche Matrix des EHS-Tumors (Matrigel) benutzt. Diese Matrices wurden entweder als starre Substrate, d. h. als dünne Schicht auf Zellkultur-Plastik, verwendet oder soweit möglich als dreidimensionale (3-D-) Substrate in Form rekonstruierter Gele (Kollagen I und Matrigel) oder dickerer Schichten von Placenta-Matrix. Als Differenzierungsmarker wurden u. a. die Synthese von hCG und Progesteron, die Bildung der plazentatypischen alkalischen Phosphatase, die Wachstumsmorphologie und das Proliferationsverhalten untersucht.

Auf allen starren Substraten, gleich welcher Zusammensetzung, wachsen die Zellen als Monolayer mit heterogenen Zelltypen. Auf flexiblen 3-D-Substraten dagegen bilden sich Kolonien, die auf Matrigel sehr regelmäßig rund geformt sind und dieses Erscheinungsbild über längere Zeit beibehalten. Auf Kollagen-Gelen sind die Kolonien unregelmäßig, und, während das Kollagen abgebaut wird, bilden sie mit der Zeit wieder Monolayer. Die in der Regel mit der Differenzierung verbundene Arretierung der Zellproliferation zeigte sich auch nur auf 3-D-Substraten, nicht auf starren Substraten, in Form einer langsameren Zunahme des Gesamtzellproteins (vor allem auf Matrigel-Gelen) und der reduzierten Inkorporation von (^{3}H) Thymidin.

Auch bei den biochemischen Markern war die höhere Effizienz von 3-D-Substraten im Vergleich zu starren zu beobachten. Die alkalische Phosphatase und die Produktion von Progesteron waren allerdings keine überzeugenden Differenzierungsmarker. Die alkalische Phosphatase wurde auf Matrigel leicht stimuliert, dagegen auf einer Schicht von Placenta-Matrix reprimiert. Ähnlich wurde die Sekretion von Progesteron auf Matrigel-Gelen supprimiert, aber auf allen anderen Substraten leicht stimuliert.

Die Sekretion von hCG erwies sich als wesentlich besseres Differenzierungsmerkmal: Auf allen starren Substraten war sie im Vergleich zu unbeschichteten Kulturgefäßen stimuliert (allerdings höchstens bis zu zweifach), und dies in der Regel unabhängig von der Konzentration des Substrats. Auf 3-D-Substraten war die Sekretion wesentlich stärker gesteigert (bis zu 10fach auf Matrigel). In Autoradiogrammen der sezernierten Proteine erwies sich hCG als das einzige Protein, das eine signifikante Steigerung erfuhr.

Wie schon am Beispiel der erneuten Bildung eines Monolayers auf Kollagen-Gelen zu sehen

(s. o.), war die Beeinflussung des Zellverhaltens durch die ECM jedoch nicht stabil. Im Zeitverlauf ging die hCG-Sekretion auf allen Substraten nach einem Maximum auf die Aufgangswerte zurück. Dies mag auf sezernierte Proteasen zurückzuführen sein, die in Zymogrammen darstellbar waren. Sie können durchaus eine wesentliche Bedeutung für das maligne Verhalten dieser Chorionkarzinomzellen haben. Falls auch während der Invasion ins Bindegewebe zunächst eine Differenzierung der Zellen stimuliert wird, werden diese Proteasen auch in der In vivo-Situation dafür sorgen, daß die die Differenzierung stimulierende Wirkung der Matrix nur temporär wirken kann.
Aus den beschriebenen Ergebnissen schließen wir, daß die Interaktion von Chorionkarzinomzellen mit extrazellulärer Matrix ein interessantes Modell für Differenzierung/Dedifferenzierung und Invasion zu sein scheint.

HOHN, H.-P., BOOTS, L. R., PARKER, C. R. JR., DENKER, H.-W., HÖÖK, M.: Induction of differentiation in choriocarcinoma cells by extracellular matrix: does the structure contribute important information? (in preparation)

Anschrift: Dr. H.-P. HOHN, Institut für Anatomie, Universitätsklinikum Essen, Hufelandstr. 55, D-4300 Essen 1