

Dreidimensionale Aggregate von Chorionkarzinomzellen als ein In-vitro-Modell für den invasiven Trophoblasten

H.-W. DENKER, H.-P. HOHN und E. WINTERHAGER

Abteilung Anatomie der Medizinischen Fakultät an der RWTH Aachen, Aachen, BRD

In früheren Mitteilungen haben wir über die Entwicklung eines Endometrium-Organkultur-Modells berichtet, das die Untersuchung der Anheftung und Invasion des Trophoblasten implantationsbereiter Kaninchen-Blastozysten ermöglicht (DENKER et al., 1984; HOHN und DENKER, 1985). Wir schildern hier erste Versuche, den malignen Trophoblasten einer Chorion-Karzinom-Zelllinie in vitro organoid wachsen zu lassen, um in späteren Studien seine Interaktion mit dem Endometrium auf zellbiologischer Ebene im gleichen System untersuchen zu können.

Die menschliche BeWo-Chorion-Karzinom-Zelllinie (ATTC Nr. CCC 98) wurde von PATILLO und GEX (1968) etabliert. Die Zelllinie zeigt nach wie vor die wesentlichen und bekannten Charakteristika des Chorion-Karzinoms (Fusionsfähigkeit, typische Hormonproduktion). Die Zellen werden aus Monolayer-Kulturen durch Trypsinieren isoliert, mit einer Dichte von ca. 10^5 Zellen pro ml suspendiert und bei 37 °C auf einem Rotationsschüttler unter einer Atmosphäre von Luft mit 5 % CO₂ inkubiert. Das Medium (Ham's F-12 + 15 % fötales Kälberserum) wird nach 3 Tagen und dann täglich gewechselt.

Kleine Aggregate von Zellen bilden sich bereits nach einem Tag und erreichen nach 5 Tagen bis ca. 0,3 mm Durchmesser. Die Größe hängt von der eingesetzten Zelldichte ab. Die Zellen liegen in diesen Sphäroiden dicht gepackt. Semidünnschnitte lassen eine Heterogenität der Zellen hinsichtlich ihrer Größe und Gestalt erkennen; Zellnekrosen sind regelmäßig zu finden, doch liegen diese disseminiert, und auch nach 4 Tagen Kulturdauer ist bei Sphäroiden von ca. 0,3 mm Durchmesser keine zentrale Massierung der Nekrosen zu beobachten. Andererseits deutet sich eine gewisse präferenzielle Anordnung verschiedener Zelltypen an, ganz im Gegensatz zum In-vivo-Verhalten des Chorion-Karzinoms. In den Sphäroiden liegen mit alkalischem Toluidinblau stärker färbbare, meist tangential gestreckte Zellen vorzugsweise an der Oberfläche. Das TEM-Bild zeigt, daß diese Zellen polarisiert sind (mikrovillibedeckte Oberfläche an der Außenseite des Sphäroids) und cytoplasmatische Charakteristika des Syncytiotrophoblasten zeigen (relativ dichtes Cytoplasma; reichlich ER-Zisternen mit unregelmäßigem Ribosomenbesatz; evtl. Fähigkeit zur Ausbildung intrazellulärer mikrovillibesetzter Vakuolen; relativ dichtes, randständiges Heterochromatin in den stark gebuchteten Kernen). Allerdings waren ausgedehntere Zellfusionen nicht zu beobachten. Ein zweiter Zelltyp entspricht in seinen cytologischen Charakteristika recht gut dem menschlichen Cytotrophoblasten (lockeres, organellenarmes Cytoplasma, reichlich freie Polyribosomen, ausgedehnte Glykogenfelder, rundliche, cristaarme Mitochondrien vom „embryonalen“ Typ).

Diese offenbar bestehende Tendenz zu einer gewissen Regelmäßigkeit in der Anordnung von syncytiotrophoblastähnlichen und cytotrophoblastähnlichen Zellen versuchen wir nun zu verstärken, indem wir die Zellen auf perlenförmigen Trägern wachsen lassen. Diese sog. „Microcarrier“ unterscheiden sich je nach Typ durch Art und Ladung des Trägermaterials und z. T. durch eine Beschichtung mit Proteinen. Von großem Interesse ist die Möglichkeit, solche Microcarrier gezielt mit bestimmten Molekültypen der extrazellulären Matrix zu beschichten (etwa Komponenten der

Basalmembran), so daß eine Tendenz zur Polarisierung und Differenzierung der Trophoblastzellen und zum sorting-out eventuell verstärkt werden kann. In ersten, vorläufigen Ergebnissen ist die Tendenz dazu tatsächlich zu beobachten. Ob man je nach Wahl der Matrixmoleküle soweit kommen kann, daß man den Zellen eine ganz regelmäßige Anordnung etwa wie in einer Plazentazotte (Cytotrophoblast innen, Syncytiotrophoblast außen) aufzwingen kann, ist beim Chorion-Karzinom naturgemäß fraglich und in weiterführenden Untersuchungen zu klären.

Der maligne Trophoblast der menschlichen BeWo-Zelllinie scheint nach diesen Untersuchungen, wenn er als Sphäroid oder auf Microcarriern *in vitro* gehalten wird, ein interessantes und vielversprechendes Modell für Studien über die Zellbiologie der Trophoblast-Wirtsgewebe-Interaktionen bei der Invasion zu sein.

Unterstützt durch den Minister für Wissenschaft und Forschung des Landes Nordrhein-Westfalen, Projekt Nr. 50002286.

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)

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

PATTILLO, R. A., GEY, G. O.: The establishment of a cell line of human hormone-synthesizing trophoblastic cells *in vitro*. *Cancer Res.* **28**, 1231-1236 (1968)

Anschrift: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. H.-W. DENKER, Abteilung Anatomie der RWTH Aachen, Melatener Straße 211, D - 5100 Aachen.