20. Arbeitstagung der Anatomischen Gesellschaft
Würzburg, 1. bis 3. Oktober 2003

Anat. Anz. / Ann. Anat. 186 (Suppl), 249, 2004

Ko-Kultur von embryonalen Stammzellen (ES-Zellen) und Trophoblast: Expression von Stammzell- und Keimblattmarkern in ES-Zellen

Kruse LH, Heneweer C, Denker H-W, Thie M

Lehrstuhl für Anatomie und Entwicklungsbiologie, Universitätsklinikum, Hufelandstraße 55, D-45122 Essen

Embryonale Stammzellen (ES-Zellen) werden aus der inneren Zellmasse (ICM) der frühen Blastozyste gewonnen, aus der alle intraembryonalen Gewebe hervorgehen. Unter entsprechenden Kulturbedingungen sind ES-Zelllinien unbegrenzt vermehrbar. Nach Transplantation von Maus-ES-Zellen in Empfänger-Blastozysten oder an ektopische Orte in vivo sowie bei der Differenzierung in vitro bilden sie Derivate aller drei Keimblätter, Ekto-, Meso- und Endoderm. Für eine Differenzierung der ES-Zellen in vitro ist der Zwischenschritt über dreidimensionale Zellaggregate, Embryoid Bodies (EB), förderlich. In der in-vivo-Situation sind die ICM-Zellen vom Trophoblasten umgeben. In der vorliegenden Arbeit wurde ein Modell entwickelt, bei dem EB aus Maus-ES-Zellen (D3-Zelllinie) mit einer Trophoblastzelllinie (BeWo) interagieren können. Um zu untersuchen, inwieweit die Trophoblastzellen das Differenzierungsvermögen von ES-Zellen in EB-Kultur modifizieren können, wurden zum Vergleich trophoblast-freie EB mit und ohne Fibroblast-Zellen (als Feeder) kultiviert. Anschließend wurde das Auftreten des frühembryonalen Stammzellmarkers SSEA-1 sowie der keimblatt-spezifischen Marker Alpha-Fetoprotein (AFP; Endoderm), der Myosinschwerkette (MHC; Mesoderm) und dem leichten Neurofilament (NFL; Ektoderm) nach drei Tagen Kulturdauer bestimmt. Es konnte gezeigt werden, dass EB von BeWo-Zellen umwachsen werden, wobei die Morphologie der Bodies erhalten bleibt. Die speziellen Wachstumsbedingungen (Nische) dieser Ko-Kultur scheinen zu einer Arretierung der ES-Zellen in einem indifferenten Zustand zu führen: Im untersuchten Zeitraum kehren die ES-Zellen nicht in den SSEA-1-positiven Zustand zurück, aber es ist auch keine Stimulation der Keimblattdifferenzierung (= Zunahme von AFP, MHC, NFL positive Zellen) zu beobachten. Im Gegensatz dazu zeigt die Ko-Kultur der EB mit Fibroblast-Zellen ein Auswachsen der Bodies und das Wiederauftreten von SSEA-1 positiven Zellen im Bereich der Auswachszonen. Demnach scheinen D3-ES-Zellen durch BeWo-Zellen im Sinne einer Verzögerung der weiteren Differenzierung beeinflusst zu werden, während der Kontakt mit Fibroblast-Zellen zu einer Rückkehr des embryonalen Markers SSEA-1 führt. Ob dies durch direkte Zell-Zell-Interaktion und/oder durch sezernierte Faktoren ausgelöst wird, erfordert weitere Untersuchungen.