Verh. Anat. Ges. 85 (Anat. Anz. Suppl. 170), 593–594 (1991) © Gustav Fischer Verlag Jena

Selektive Rezeptivität des Endometriums für Trophoblast-Invasion in einem Organkultur-Modell

A. Donner, H.-P. Hohn und H.-W. Denker

Institut für Anatomie, Universitätsklinikum, Gesamthochschule Essen, BRD

Die Implantation des Säugetierembryos in den Uterus beginnt mit der Anheftung an und Invasion in das Uterusepithel durch den Trophoblasten, der dazu mit der apikalen Membran des Epithels in Kontakt treten muß. Zur Untersuchung dieser Vorgänge verwenden wir Kaninchen-Endometrium in einem Organkultur-Modell. In diesem Modell konnten bisher sowohl Progesteronwirkungen nachgewiesen (Hohn et al. 1989) als auch Blastozysten-Anheftung und Invasion des Trophoblasten erreicht werden (Hohn und Denker 1990). Wir haben untersucht, ob für diese Anheftung und Invasion spezifische Interaktionen zwischen Uterusepithel und Trophoblast nötig sind, oder ob auch andere invasive Zellen, nämlich Tumorzellen, in diesem Kultursystem über die apikale Seite des Epithels invadieren können. Dazu kombinierten wir unser Kultursystem mit einem etablierten Testsystem für In-vitro-Invasivität (Mareel et al. 1979).

Kaninchen-Endometriumgewebe (Epithel + Stroma) wird fünf Tage nach Induzierung der Ovulation explantiert und in Fragmente von ca. 1–2 mm ∅ zerkleinert; diese werden in Medium aus MEM, FCS und Progesteron kultiviert und in geeigneten Gefäßen auf einem Kreisschüttler in ständiger Bewegung gehalten. Nach zwei Tagen in Kultur sind diese Fragmente lückenlos von Epithel umgeben und können im Versuch eingesetzt werden.
Die getesteten Tumorzellinien waren eine Sarkomlinie der Maus (MO_4) bzw. entstammten verschiedenen Geweben der Ratte (NBT II, 12R1 C-RK) und des Menschen (LLC.H61, SA4, MCF-7), außerdem wurden ein Plattenepithelkarzinom des Kaninchens (V2) und eine Chorionkarzinomzellinie des Menschen (Jeg-3) getestet. Alle Zellinien hatten sich in verschiedenen Invasions-Assays als potentiell invasiv erwiesen, die Jeg-3-Zellinie zeigte außerdem in einem Kultursystem mit menschlichem Endometrium Invasivität über das Epithel (Grümmer und Denker, dieser Verhandlungsband). Aus den Tumorzellen wurden vielzellige Aggregate, sogenannte Multizell-Sphäroide (je nach Zellinie ∅ 200–700 µm) hergestellt. Diese wurden auf einer nicht-adhäsiven Agaroberfläche mit den vorkultivierten Endometriumfragmenten für die Dauer von 3–15 Stunden in Kontakt gebracht, dann entweder sofort fixiert oder bis zu 7 Tage in der Schüttelkultur weiterkultiviert. Bei einem Teil der Fragmente wurde das Epithel vor der Konfrontation mit einem Skalpell verletzt, so daß die Tumorzellen direkt in Kontakt mit dem Stroma treten konnten. Aus dem selben Grunde wurden auch frisch explantierte Fragmente ohne Vorkultur zur Konfrontation verwandt. Die Auswertung erfolgte licht- und elektronenmikroskopisch.

Keine der getesteten Zellinien war in der Lage, das intakte Epithel von apikal her zu überwinden. Nur in seltenen Fällen fand überhaupt eine Anheftung der Tumorzellen an das Epithel statt, Unterbrechungen des Epithels traten aber nie auf. Hatten die Tumorzellen direkten Kontakt zum Stroma, so fanden sich bei mindestens 4 Zellinien (V2, MO_4, Jeg-3, NBT II) Zeichen des aktiven Eindringens der Tumorzellen: Das Fragment hatte tiefe Buchten, in denen die Tumorzellspäroide gelegen waren. Aus dem Sphäroid wanderten Zellen aus und lagen z. T. in deutlichem Abstand im Stroma. Elektronenmikroskopisch fanden sich bei Jeg-3-Zellen Zeichen der Interaktion mit dem Wirtsgewebe: An der Invasionsfront besaßen die sonst glatt begrenzten Tumorzellen viele, lange, z. T weit verzweigte Ausläufer, die tief in das Stroma eindrangen. Häufig fanden sich solche Ausläufer auch in direkter Nähe zu Fibroblasten, Zell-Zell-Kontakte wurden jedoch nicht gesehen. Die Tumorzellen traten an die lateralen Membranen der noch erhaltenen Epithelzellen des Endometriumfragments heran und bildeten dort Desmosomen aus.

Diese Ergebnisse zeigen, daß Tumorzellen sehr wohl dazu in der Lage sind, mit dem Stroma wie dem Epithel des Kaninchen-Endometriums in unserem Organkulturmodell in Kontakt zu treten. Die Invasion über das intakte Epithel bleibt aber dem Kaninchen-Trophoblast vorbehalten (HOHN und DENKER 1990). Unter Berücksichtigung der Ergebnisse von GRÜMMER und DENKER (dieser Verhandlungsband), die zeigen, daß bei Verwendung von menschlichem Endometrium Chorionkarzinomzellen der gleichen Spezies (Jeg-3) durchaus das Epithel invadieren können, schließen wir, daß dieses Kultursystem bezüglich der Invasivität nicht nur Gewebs-(Throphoblast), sondern auch eine für In-vitro-Kulturen äußerst ungewöhnliche Spezifität aufweist.

HOHN, H. P. et al.: Cell Tissue Res. **25**, 505–518 (1989).

HOHN, H. P., DENKER, H. W.: A three dimensional organ culture model for the study of implantation of rabbit blastocysts in vitro. Troph. Res. **4**, 71–95 (1990).

MAREEL et al.: Virchows Arch. B Cell Path. **30**, 95–111 (1979).

Anschrift: A. DONNER, Institut für Anatomie, Universitätsklinikum, Hufelandstraße 55, W - 4300 Essen 1