Eine immunhistochemische Methode zur Differenzierung fetaler Trophoblastzellen von mütterlichen Zellen

R.		Reichel
H.	Heidrun	Karlic
K.		Czerwenka
J.C.		Huber

I. Universitäts-Frauenklinik Wien (Vorstand: Prof. Dr. E. Gitsch)

Dr. R. Reichel, I. Universitäts-Frauenklinik Wien, Spitalgasse 23, A-1097 Wien (Österreich)

Ziel der Studie war es, in Ergänzung zur mikromorphologischen Erkennung von Trophoblastzellen diese auch immunzytochemisch zu identifizieren und von mütterlichen Deziduazellen zu differenzieren. Diese Methode sollte auf ihre Eignung als Qualitätskontrolle von Chorionproben überprüft werden. Weiters sollte Vorarbeit geleistet werden für die Entwicklung einer Methode zur Anreicherung von Trophoblastzellen aus biotischem Material sowie für die qualitative und quantitative Bestimmung fetaler Zellen im mütterlichen Blut und für das Heraussortieren dieser Zellen mit Hilfe des „Fluorescence Activated Cell Sorting“ (FACS) zur weiteren cytogenetischen, biochemischen und molekularbiologischen Analyse. Da uns kein Antikörper gegen Oberflächenantigene von Trophoblastzellen zur Verfügung stand, verwendeten wir in der ersten Phase unserer Arbeit einen spezifisch gegen β -HCG gerichteten Kaninchen-Antikörper eines MILAB ICC-KIT'S. Die Antigen-Antikörperkomplexe werden jedoch bei diesem KIT nicht durch Immunfluoreszenz sondern durch einen mit Peroxidase markierten Antikörper sichtbar gemacht.

Als Untersuchungsmaterial verwendeten wir (a) das durch Kürettage gewonnene Material einer Blasenmole, (b) Chorionzotten aus dem Geschabsel eines artefiziellen Aborts in der 10. Schwangerschaftswoche. Indikation war eine wegen myelomonozytärer Leukämie durchgeführte Chemotherapie. Bei diesem Material wurden Chorionzotten unter mikroskopischer Sicht sorgfältig von mütterlicher Dezidua gereinigt und 72 Stunden in Chang-Medium kultiviert. Zwecks Chromosomenanalyse wurden eine Kolchizin-Inkubation und eine Färbung angeschlossen. Vor und nach der Kultur des mechanisch gereinigten chorialen Materials wurde die immunzytochemische Charakterisierung eines aliquoten Anteiles mit dem gegen β -HCG gerichteten Antikörper durchgeführt. Weiters wurde Blut einer Schwangeren in der 14. Woche (c) und Blut einer Patientin mit einem Chorionkarzinom post partum (d) auf β -HCG enthaltende Zellen untersucht. Dabei wurde nach Abpräparation der Erythrozyten mittels Ficoll ein Ausstrich-Präparat mit dem KIT behandelt. Wir kamen zu folgenden Ergebnissen: Trophoblastzellen konnten in den untersuchten Schnitten der Blasenmole und des artefiziellen Aborts mit dem gegen β -HCG gerichteten Antikörper markiert werden. Trotz gründlicher Reinigung der Chorionzotten unter dem Präpariermikroskop zeigte die immunzytochemische Färbung vor und nach der Kultur neben den β -HCG-positiven Trophoblastzellen eine Kontamination mit Dezidua. Mitosen konnten allerdings nur in

Trophoblastzellen gesehen werden. Die Möglichkeit, daß bei den 33 nach der Kultur untersuchten Metaphasenplatten auch mütterliche Mitosen vorhanden waren, ist damit zwar Mitteilungen zum 3. Hauptthema

119

unwahrscheinlich, aber nicht auszuschließen, zumal es sich um einen weiblichen Embryo handelte und somit eine heterosomale Unterscheidung wegfällt.

In einer Plazenta post partum am Termin sowie in Trophoblastzellen nach einwöchiger Kultur, konnten keine β -HCG-positiven Zellen nachgewiesen werden.

In den untersuchten Blutpräparationen erhielten wir zwar Peroxidase-anfärbbare Zellpartikel, morphologisch konnten wir jedoch bisher keine Trophoblastzellen identifizieren.

Daraus ergeben sich folgende Schlüsse: Solange sich die pränatale Diagnostik auf die Analyse von Chromosomenpräparationen beschränkt, dürfte die beschriebene Qualitätskontrolle von geringerer Bedeutung sein, für molekulargenetische Untersuchungen könnte eine Weiterentwicklung der Methode herangezogen werden, um erste Hinweise für eine Kontamination der kindlichen DNA mit mütterlicher DNA zu erhalten. Bei Anwendung eines fluoreszierenden Antikörpers gegen β -HCG positive Zellen oder gegen spezifische Oberflächenantigene von Chorionzotten konnten diese nach Herstellung einer Einzelzellsuspension mittels „Fluorescence Activated Cell Sorting's“ herausortiert werden und stünden somit hochgereinigt einer weiteren Kultur und Analyse zur Verfügung. Wenn es auch in der ersten Phase unserer Arbeit nicht gelungen ist, Trophoblastzellen im mütterlichen Blut zu identifizieren, erscheint es uns interessant, dieser Möglichkeit durch Verbesserung der Methode weiter nachzugehen, zumal für molekularbiologische Untersuchungen nur eine geringe Zellzahl benötigt wird.

Literatur

Covone A. E. et al.: Trophoblast cells in peripheral blood from pregnant women, *Lancet*; 1984 Oct. 13: 841–843. Goodfellow, C. F. et al.: Extraction and identification of trophoblast cells circulating in peripheral blood during pregnancy. *Brit. J. Obstet. Gynaecol.* 89: 65–68 (1982). Mc Laughlin, P. J. et al.: Expression on cultured human tumour cells of placental trophoblast membrane antigens and placental alkaline phosphatase defined by monoclonal antibodies. *Int. J. Cancer* 30: 21–26 (1982). Pitmon, D. et. al.: Simplified chromosome preparations from chorionic villi obtained by choriocentesis or derived from induced abortions. *Ann. Génét.* 27: 254–256 (1984). Simoni, G. et al.: Efficient direct chromosome analyses and enzyme determinations from chorionic villi samples in the first trimester of pregnancy. *Hum. genet.* 349–357 (1983). Simoni, G. et al.: Diagnostic application of first trimester trophoblast sampling in 100 pregnancies. *Hum. Genet.* 66: 252–259 (1984).