

3.2.3 Etablierung und Charakterisierung der Aszites-Zelllinie PRCL PC3MAS

3.2.3.1 Etablierung der Asziteszelllinie PRCL PC3MAS

Nach zwei Passagen in der Nacktmaus wurden erstmals PC3MAS-Zellen aus der Bauchhöhle steril gewonnen und in der Kulturflasche gehalten. 0,1 ml der Aszitesflüssigkeit entsprechend 7×10^6 Tumorzellen wurden zu 20 ml DMEM-Medium mit 10% FKS gegeben. Einen Tag nach der Aussaat waren sowohl Blut- als auch Tumorzellen im Lichtmikroskop erkennbar. Nach 7 Tagen waren die Blutzellen abgestorben und die Tumorzellen wuchsen adhärent. Das gleiche Experiment wurde auch mit Flüssigkeit aus der Brusthöhle durchgeführt. Da die Tumorzellkonzentration in dem Erguß nur $0,28 \times 10^6$ Tumorzellen / ml betrug, wurde die gesamte Flüssigkeit verwendet. Insgesamt wurden $0,35 \times 10^6$ Tumorzellen zu 20 ml DMEM mit 10% FKS gegeben. Das Ergebnis war das gleiche: einen Tag nach der Aussaat waren noch Blut- und Tumorzellen erkennbar und die wenigsten Zellen wuchsen adhärent. Eine Woche später befanden sich ausschließlich adhärent wachsende Tumorzellen in der Kulturflasche. Die Zellmorphologie der PC3MAS-Zellen ähnelte derjenigen der Prostatakarzinomzelllinie PRCL PC3M. In Abbildung 31 sind lichtmikroskopische Aufnahmen der PC3MAS-Zellen 7 Tage nach der Aussaat zu sehen.

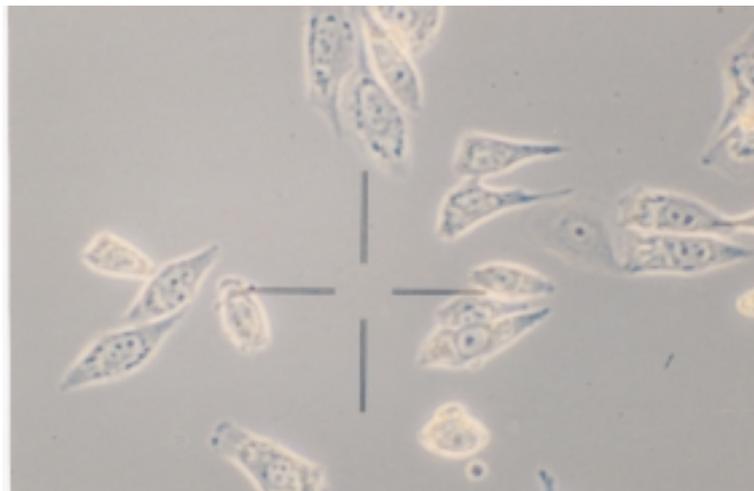


Abb. 31: Prostatakarzinomzelllinie PRCL PC3MAS.
200fache Vergrößerung.

Die lang gestreckten großen Zellen besiedelten den Boden des Kulturgefäßes in Kolonien. Die Kerne waren groß und enthielten deutlich

sichtbare Nukleoli. An der ungefärbten lebenden Zelle liessen sich keine Einzelheiten in Bezug auf den Zustand des Chromatins oder die Häufigkeit der Mitosen erkennen. Das Kern-Zytoplasma Verhältnis war zu Gunsten des Kernes verschoben. Das Zytoplasma enthielt dunkle Granula und in geringerem Maße auch optisch leere Vakuolen.

3.2.3.2 Zellverdoppelungszeit

Die Zellverdoppelungszeit betrug im Falle der PC3MAS-Zellen 31h. Dies entsprach einem prozentualen Anstieg der Zellen pro Tag von 72%. Diese Werte ähnelten denen der Ursprungszelllinie PRCL PC3M, dessen Verdoppelungszeit 32h betrug. Ob es sich bei den aus der Aszitesflüssigkeit isolierten Zellen um die ursprünglichen PC3M-Zellen handelte oder nicht, ließ sich nicht endgültig abklären. Beide Zelllinien wiesen große Ähnlichkeiten auf. Insbesondere ihr Verhalten nach intraperitonealer Injektion in die Nacktmaus verdeutlichte aber auch ihre Unterschiede (siehe Kapitel 3.2.2 und 3.2.4).

3.2.3.3 Wachstumsverhalten nach dem Tieffrieren

Die Lagerung in flüssigem Stickstoff führte nicht zu einer Senkung der Vitalität der Asziteszelllinie PC3MAS *in vitro*.

3.2.3.4 Wachstumsverhalten subkutan injizierter Asziteszellen auf der Nacktmaus

Die unterschiedlichen Zellzahlen, die im Rahmen dieses Versuches den Mäusen subkutan injiziert wurden, wirkten sich in erster Linie auf die Induktionszeit aus. Hierunter wurde in diesem Falle die Zeit verstanden, nach der der Tumor das erste Mal vermessen werden konnte. Die Angangsrate betrug in allen Gruppen 100%. In Tabelle 13, S. 115 ist das Wachstumsverhalten der subkutan wachsenden PC3MAS-Zellen charakterisiert.

Tab. 13: Wachstumsverhalten subkutan injizierter humaner Aszites-Zellen PC3MAS in der Nacktmaus

Tumorbezeichnung	Anzahl Tiere (n)	injizierte Zellzahl (n/Seite)	Angangsrate (%)	Induktionszeit ^a (Tage)	Tumorvolumen erster Meßtag (mm ³)	relatives, medianes # Tumolvolumen (%) # Körpergewicht (%)			Zeit bis Tumolvolumen		
						Tag 4	Tag 7	Tag 11	Tag 14	200% (Tage)	400% (Tage)
PRXF PC3MAS / 1	3	4 Mio	100	4	77	100	409	887	1988	1,47	2,9
						98	100	98	100		
	3	2 Mio	100	4	45	100	218	989	1404	2,75	2,83
						115	130	126	128		
	3	1 Mio	100	7	66	n.m.	100	577	876	1,39	2,77
						111	112	111	113		
	3	0,5 Mio	100	11	308	n.m.	n.m.	100	145	n.e.	n.e.
						119	128	126	126		

^a, Zeit zwischen Implantation und erstem Meßtag.

n.m. = nicht messbar

n.e. = nicht erreicht

In den ersten beiden Gruppen betrug die Induktionszeit 4 Tage. Wurden 1 Mio Zellen / Seite injiziert, vergingen 7 Tage, bis zum ersten Mal ein Tumolvolumen bestimmt werden konnte. Bei einer Zellzahl von 0,5 Mio Zellen / Seite konnten 11 Tage nach der Injektion die Tumoren erstmals vermessen werden. Als Ausgangswert für die Bestimmung des relativen, medianen Tumolvolumens wurde das mediane Tumolvolumen des jeweils ersten Meßtages verwendet. Die Verdoppelungszeiten schienen von der unterschiedlichen Zellzahl nicht beeinflusst worden zu sein. Die Unterschiede, die zwischen den Gruppen auftraten, standen in keinem Zusammenhang mit der injizierten Zellzahl. Auffallend war jedoch, daß bei Gruppe 4 das Anfangsvolumen sehr hoch war, das Wachstum dann aber recht schnell stagnierte, so daß bis zum Versuchsende keine Verdoppelung des Tumolvolumens erreicht wurde.

In Abbildung 32a, S. 117 sind die absoluten, medianen Tumorumfänge dieses Versuches aufgezeigt. Diese Darstellungsform gab Aufschluss über die unterschiedlichen Ausgangswerte bei den einzelnen Gruppen und war deshalb in diesem Fall geeigneter als die sonst übliche Darstellung in relativen Werten.

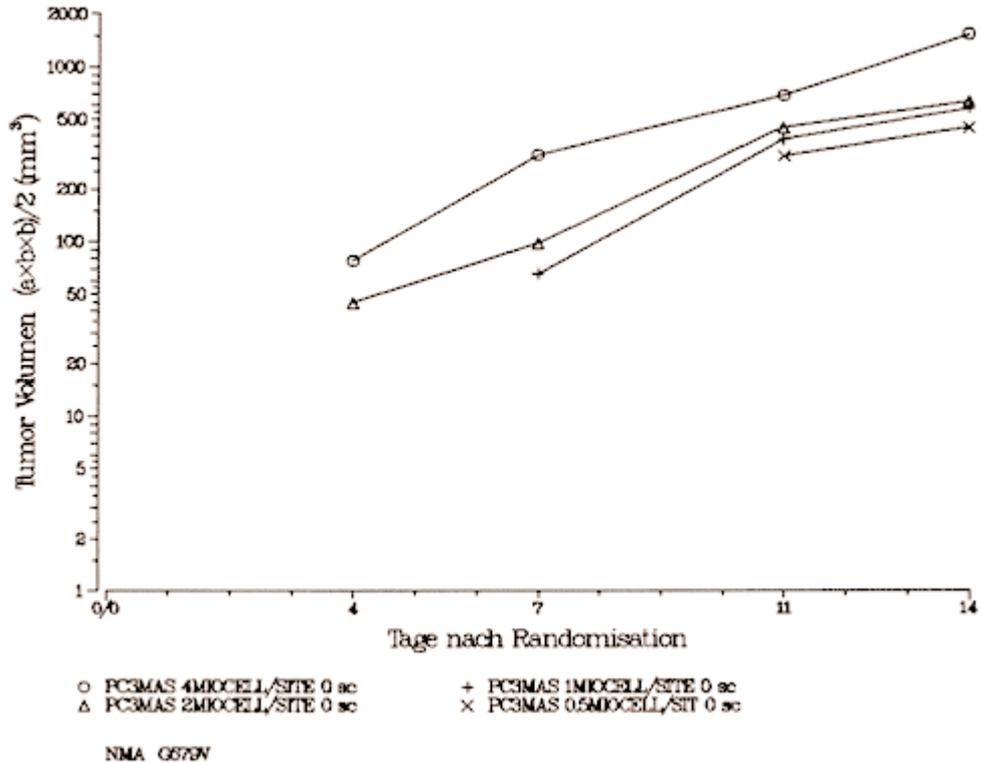


Abb.32a: absolute, mediane Tumorumina der subkutan injizierten PC3MAS-Zellen in Abhängigkeit von der injizierten Zellzahl. Passage 1 auf der Nacktmaus. n = 3 Tiere / Gruppe; 2 Tumoren / Tier

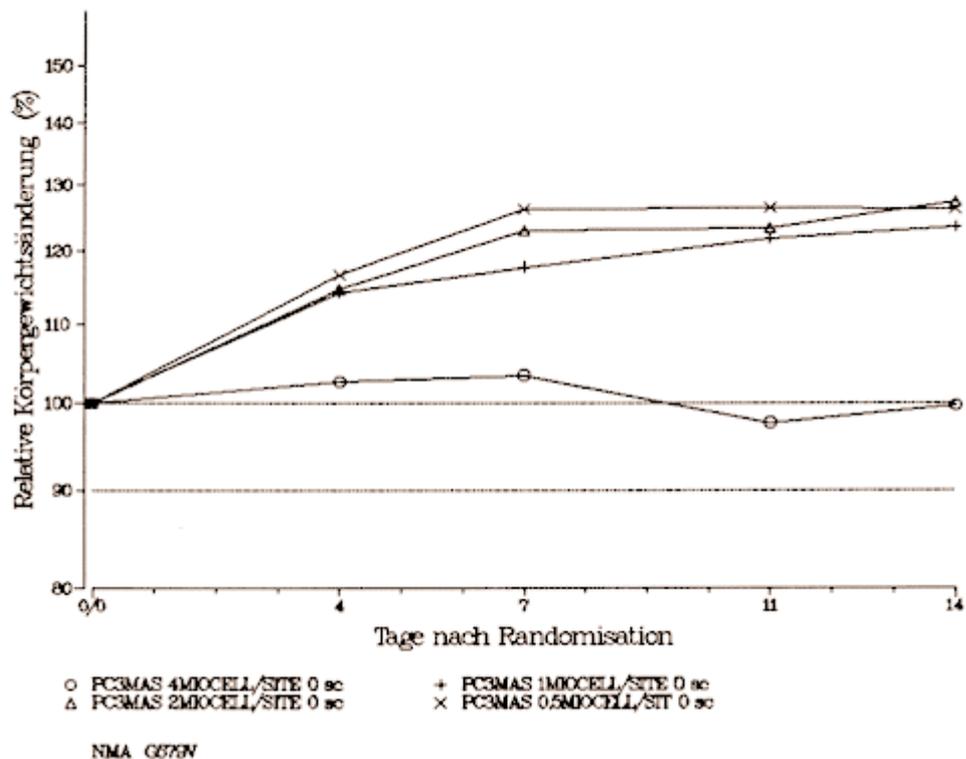


Abb. 32b: relatives, medianes Körpergewicht nach subkutaner Injektion von PC3MAS-Zellen in Abhängigkeit von der injizierten Zellzahl. Passage 1 auf der Nacktmaus. n = 3 Tiere / Gruppe; 2 Tumoren / Tier.

In der Darstellung fiel auf, daß die Gruppen zwar Zellzahl abhängig unterschiedlich hohe Tumervolumina erreichten, daß jedoch die Kurven nahezu parallel verliefen. Dies spiegelte die Beobachtung wider, daß die Verdoppelungszeiten von der Anzahl der injizierten Zellen unabhängig waren. In Abbildung 32b, S. 117 wurden die relativen, medianen Körpergewichtsänderung der Tiere aus diesem Versuch aufgetragen. Lediglich bei einer Injektion von 4 Mio Zellen / Seite kam es zu einer leichten Körpergewichtssenkung.

Vorrangiges Ergebniss dieses Versuches war die Tatsache, daß die PC3MAS-Zellen bei ihrem Weg von der Entstehung aus dem Prostatakarzinom PRXF PC3MT bis hin zur Haltung in der Kulturschale ihre Fähigkeit, solide Tumoren ausbilden zu können, nicht verloren hatten. Daß sie dies mit einem hohen Maß an Regelmäßigkeit taten, spiegelte sich in den hohen Angangsraten und der Konstanz der Verdoppelungszeiten wider.