

#### **3.2.2.4 Infiltration und Metastasierung**

Die Abbildung 14a-f S. 70 zeigt Hämatoxylin-Eosin-gefärbte Paraffinschnitte der verschiedenen Modelle, auf denen die Infiltration der humanen Tumorzellen in das Gewebe der Maus, in das sie implantiert wurden, zu sehen ist. Die Fähigkeit der Tumorzellen, in das umgebende Gewebe einzudringen, war Voraussetzung für das Gelingen der Implantation. Ohne zu infiltrieren, konnten die aufgenähten Tumorfragmente nicht in ihr eigentliches Ursprungsgewebe einwachsen.

Eine Übersicht über das Metastasierungsverhalten der einzelnen Modelle ist Tabelle 7, S. 71 zu entnehmen. Die Verteilung der Metastasen auf die einzelnen Organsystem ist in Abbildung 15a-e, S. 72 dargestellt.

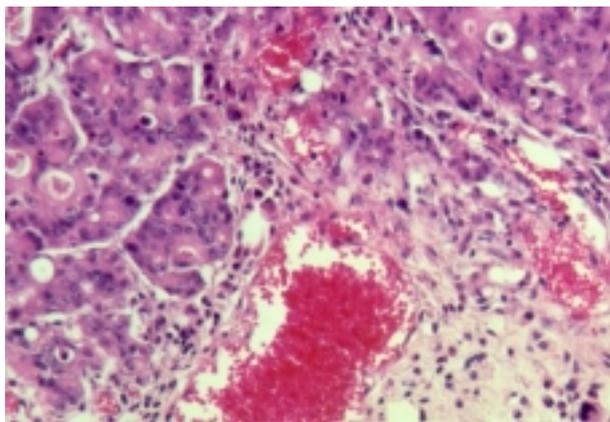


Abb. 14a: infiltrativ wachsendes orthotop implantiertes Kolonkarzinom CXF 1103T/13N4. HE-Färbung. 160fache Vergrößerung.

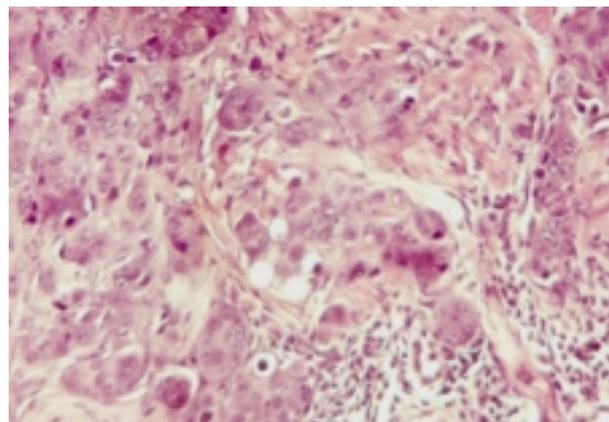


Abb. 14b: infiltrativ wachsendes orthotop implantiertes Blasenkarzinom BXF 1299T/7N5. HE-Färbung. 160fache Vergrößerung.

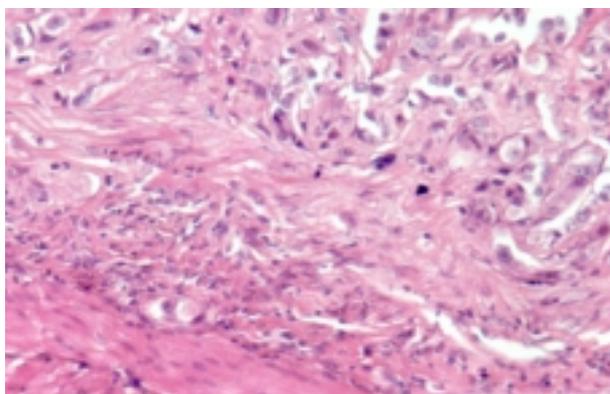


Abb. 14c: infiltrativ wachsendes orthotop implantiertes Prostatakarzinom PRXF PC3MT/2. HE-Färbung. 160fache Vergrößerung.

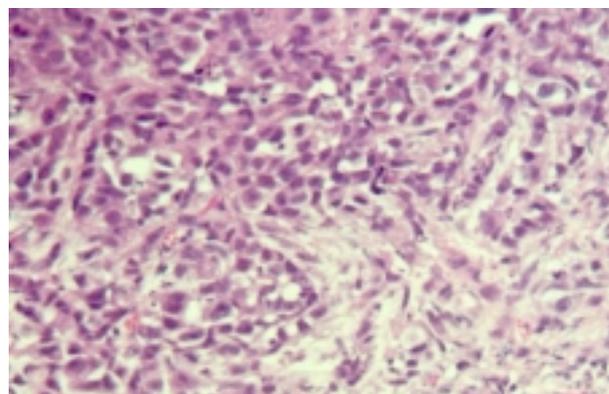


Abb. 14d: infiltrativ wachsendes orthotop implantiertes Prostatakarzinom PRXF PC3MMT/3. HE-Färbung. 160fache Vergrößerung.

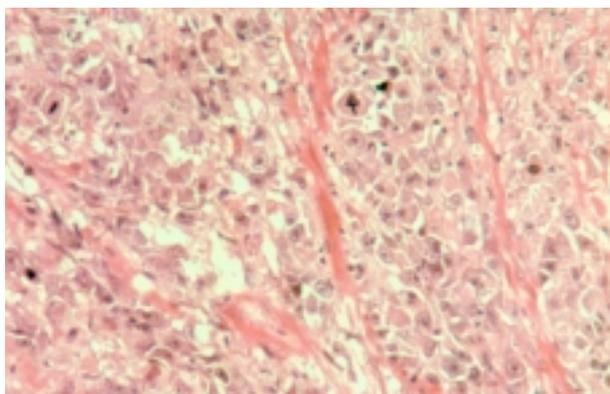


Abb. 14e: infiltrativ wachsendes orthotop implantiertes Prostatakarzinom PRXF PC3MAS/6A4. HE-Färbung. 160fache Vergrößerung.

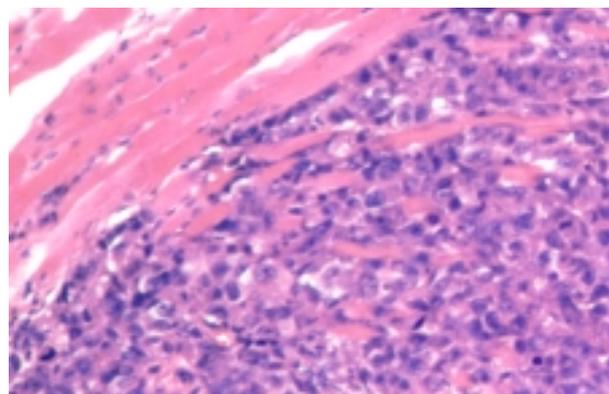


Abb. 14f: infiltrativ wachsende Peritonealmetastase des Aszitesmodellss PRXF PC3MAS/6A4. HE-Färbung. 160fache Vergrößerung.

**Abb. 14: Infiltratives Wachstum orthotop in die Nacktmaus implantierter humaner Tumorxenografts.**

Tab. 7: Metastasierungsverhalten orthotop implantierter humaner Tumorenografts in der Nacktmaus

Tumorbezeichnung	Metastasierungsrate (n / gesamt <sup>a</sup> )	(%)	befallene Organe
Kolonkarzinom CXF 1103T / 13N4	15 / 21	71	Leber, Lunge andere untersuchte Lymphknoten Niere Peritoneum, Pleura regionale Lymphknoten
Blasenkarzinom BXF 1299T / 7N5	12 / 16	75	andere untersuchte Lymphknoten Leber, Lunge Peritoneum, Pleura regionale Lymphknoten
Prostatakarzinom PRXF PC3T / 2	2 / 8	25	regionale Lymphknoten
Prostatakarzinom PRXF PC3MT / 2	19 / 19	100	andere untersuchte Lymphknoten Leber, Lunge Mediastinallymphknoten, Milz Niere Peritoneum, Pleura regionale Lymphknoten
Prostatakarzinom PRXF PC3MMT / 3	8 / 11	73	andere untersuchte Lymphknoten Leber Mediastinallymphknoten Peritoneum, Pleura regionale Lymphknoten
Aszites-Modell PRXF PC3MAS / 3-7	17 / 21	81	Leber Mediastinallymphknoten Niere Pleura regionale Lymphknoten

<sup>a</sup> Anteil an der Gesamtheit der Tumore mit kontinuierlichem Wachstum.  
andere untersuchte Lymphknoten = Lymphknoten der Bauchhöhle, der Achsel, und der Leiste.

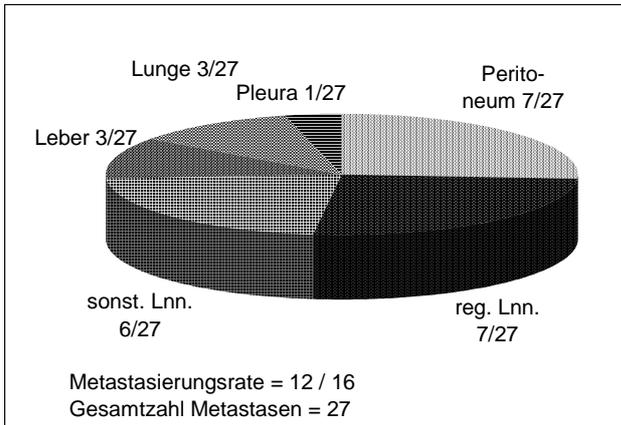


Abb. 15a: Metastasierungsmuster des orthotop in die Nacktmaus implantierten CXF 1103T.

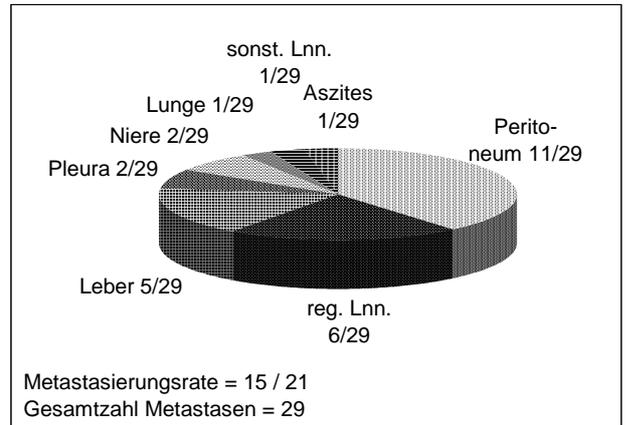


Abb. 15b: Metastasierungsmuster des orthotop in die Nacktmaus implantierten BXF

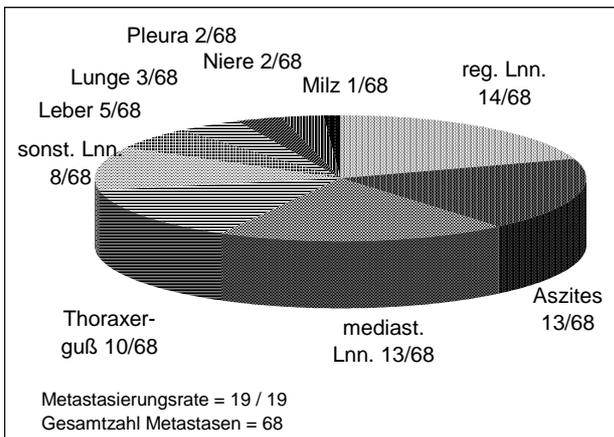


Abb. 15c: Metastasierungsmuster des orthotop in die Nacktmaus implantierten PRXF PC3MT..

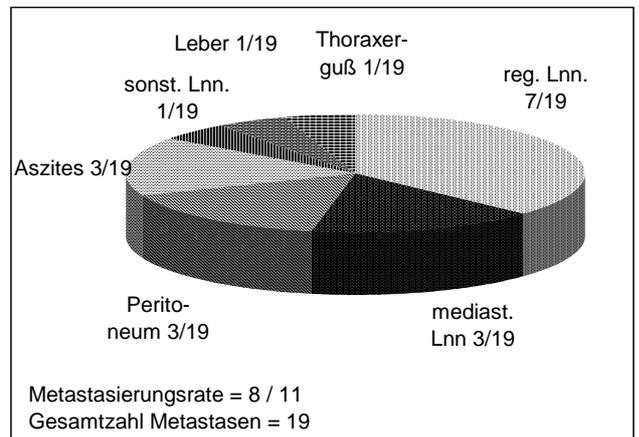


Abb. 15d: Metastasierungsmuster des orthotop in die Nacktmaus implantierten PRXF PC3MMT.

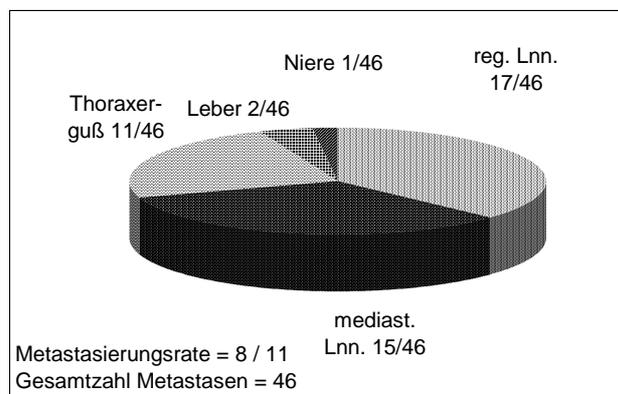


Abb. 15e: Metastasierungsmuster intraperitoneal in die Nacktmaus injizierter PC3MAS-Zellen.

**Abb. 15: Metastasierungsmuster orthotop in die Nacktmaus implantiert humaner Tumorengrafts.**

Das Kolonkarzinom CXF 1103T infiltrierte die Darmwand. Die Metastasierungsrate lag bei 71%. Die meisten Sekundärgeschwulste fanden sich auf dem Peritoneum. Dessen unmittelbare Nachbarschaft zum Primärtumor begünstigte die Entstehung von Abklatsch- oder Abschwimmetastasen. Abgesehen von den Peritonealgeschwulsten entstanden in erster Linie Metastasen in der Leber, in den regionalen Lymphknoten aber auch in der Lunge. Dem Lymphstrom folgend erreichten die Zellen über den *ductus thoracicus* und die *vena cava cranialis* die *arteria pulmonalis*. In deren Kapillarnetz mußten sie aufgrund ihrer Größe stecken bleiben und konnten dort solide Geschwulste ausbilden. Danach brachen die Zellen wiederum in die Blutbahn ein und wurden mit dem Blutstrom über die Bauchhöhlenorgane verteilt. Die Leber als erstes dem Herzen nachgeschaltetes Kapillarbett war dementsprechend erster Entstehungsort solcher Metastasen.

Das Blasenkarzinom BXF 1299T infiltrierte, wie in Abbildung 14b, S. 70 zu sehen ist, die Muskelschicht der Blasenwand. Die Metastasierungsrate betrug 75%. Bei diesem Modell war es möglich den Zeitpunkt der Metastasierung und die Reihenfolge der Metastasenbildung näher zu bestimmen. 12 Tage nach der Implantation waren zwar alle Tumoren im Wachstum begriffen, aber keiner hatte makroskopisch oder mikroskopisch sichtbare Metastasen gebildet. 34 Tage nach der Implantation hatten 3 von 7 Tieren Abklatschmetastasen am Peritoneum. Eines davon hatte zusätzlich Metastasen auf der Pleura. 49 Tage nach der Implantation ergab sich dann das Bild, das in Tabelle 7, S.71 und in Abbildung 15b, S.72 aufgezeigt ist. Das Blasenkarzinom metastasierte folglich zwischen 12 und 34 Tage nach der Implantation zunächst in die unmittelbare Umgebung. Zu einem späteren Zeitpunkt bildeten sich Metastasen in den regionalen Lymphknoten. Abgesehen davon traten Sekundärgeschwulste in der Lunge und der Leber auf. Die beiden Organe waren stets gemeinsam betroffen. Dies zeugte von einer sekundär hämatogenen Ausbreitung, wie sie bereits bei Kolonkarzinom CXF 1103T beschrieben wurde.

Abbildung 14c, S. 70 zeigt die Infiltration des PRXF PC3T in das Prostatagewebe der Maus. In diesem Modell metastasierten 25% der Tumoren mit kontinuierlichem Wachstum. Die Sekundärgeschwulste des Prostatakarzinoms PRXF PC3T traten ausschließlich in den regionalen Lymphknoten auf. Dorthin gelangten die abgelösten Tumorzellen über Lymphspalten im Gewebe. In den nächstgelegenen Lymphknoten wurden sie abgefangen und entwickelten sich an Ort und Stelle zu soliden Tumoren.

Das Prostatakarzinom PRXF PC3MT infiltrierte seine direkte Nachbarschaft und hatte mit 100% die höchste Metastasierungsrate von allen untersuchten Modellen. Darüber hinaus lagen Daten vor, die eine zeitliche Eingrenzung des Metastasierungsvorganges erlaubten. 11 Tage nach der Implantation waren noch keine Metastasen aufgetreten. 25 Tage nach der Implantation waren 6 von 8 Tumoren metastasiert. Vorrangig befallenes Organ waren die regionalen Lymphknoten, gefolgt vom Peritoneum und der Pleura. Es erfolgte somit eine primär lymphogene Absiedelung zwischen Tag 11 und 25 *post operationem*. Am Endpunkt des Versuches waren die Lymphknoten das am häufigsten betroffene Organsystem. Lunge und Peritoneum waren ebenfalls von Metastasen befallen. Bei einem Viertel der Tiere traten auch Sekundärgeschwulste in den Bauchhöhlenorganen, in erster Linie in der Leber auf. Bei den Peritonealmetastasen handelte es sich um Abklatsch- bzw. Abschwimmetastasen. Aus der Häufigkeit und der Reihenfolge des Auftretens der Metastasen ergab sich folgender Ausbreitungsweg für die abgelösten Tumorzellen: Zunächst fand eine lymphogene Metastasierung in die regionalen Lymphknoten statt. Dem Lymphstrom folgend gelangten die Tumorzellen in die anderen Lymphknoten des Organismus. Bevorzugt wurden die Mediastinallymphknoten befallen. Auch die anderen untersuchten Lymphknoten der Bauchhöhle, der Achsel und der Leiste waren mit Tumorzellen durchsetzt. Durch den Befall der meisten Lymphknoten der Körperhöhlen wurde der Abfluss der Lymphe mechanisch behindert. Die Folge waren Flüssigkeitsansammlungen in den Körperhöhlen. In dieser Flüssigkeit befanden sich abgeschilferte Tumorzellen. Diese bildeten Abschwimmetastasen an der Auskleidung der Körperhöhlen. Über den *ductus thoracicus* gelangten die Tumorzellen schließlich in den Blutkreislauf.

Das aus einer Metastase von PRXF PC3MT entstandene Prostatakarzinom PRXF PC3MMT infiltrierte, wie in Abbildung 14e, S. 70 verdeutlicht, die Prostata. Die Metastasierungsrate betrug 73%. Der orthotop implantierte Xenograft metastasierte an erster Stelle in die regionalen Lymphknoten. Auch Lymphknoten von Bauchhöhle, Mediastinum, Leiste und Achsel wurden mit Tumorzellen infiltrierte. Abgesehen von den Abklatschmetastasen auf dem Peritoneum entstanden noch Sekundärgeschwulste im Thorax und seltener in der Leber. Der Ausbreitungsweg der Tumorzellen im Organismus entsprach dem bei Kolonkarzinom CXF 1103T beschriebenen. Die Ausbildung von Aszites und Thoraxerguß geschah auf die gleiche Art und Weise wie bei PRXF PC3MT beschrieben.

In Abbildung 14f, S. 70 ist das infiltrative Wachstum einer soliden Peritonealmetastase des PRXF PC3MAS aufgezeigt. Die Metastasierungsrate des Aszitesmodells betrug 81%. Die Tumorzellen breiteten sich in erster Linie über die Lymphbahnen aus. Nach Einbruch in die Blutbahn über den *ductus thoracicus* erfolgte die Ausbreitung über den gesamten Organismus. Regionale und Mediastinallymphknoten waren die am häufigsten befallenen Organe. Die Pleura war in Form eines Thoraxergusses ebenfalls sehr oft betroffen. In seltenen Fällen traten auch Metastasen in der Leber und den Nieren auf. Da die Tochtergeschwulste im Inneren dieser Organe lagen, konnte davon ausgegangen werden, daß die primäre Ansiedelung der Tumorzellen über die Blutbahn erfolgte.

Im Falle des Aszitesmodells wurde die Metastasierungsrate ebenfalls in Abhängigkeit von der injizierten Zellzahl untersucht. Stammt die Spenderzellen aus einer Nacktmauspassage, traten bei allen Tieren unabhängig von der Zellzahl Metastasen auf. In allen drei behandelten Gruppen waren bei 3 von 3 Tieren die regionalen Lymphknoten befallen. Je 2 von 3 Tieren entwickelten einen Thoraxerguß mit Beteiligung der Mediastinallymphknoten. Ein Tier aus Gruppe 3 (= 2 Mio Zellen / Tier) litt zusätzlich unter einer Sekundärgeschwulst in der Niere. In der Gruppe, die 1 Mio Zellen pro Tier erhalten hatte, trat abgesehen von den Lymphknotenmetastasen noch eine Lungenmetastase auf. Variationen der Zellzahl im Bereich von 1 bis 4 Millionen Zellen hatten folglich keinen Einfluß auf das Metastasierungsverhalten der Tumorzellen in diesem Modell.

Waren die Zellen vor der Injektion in die Maus eine Passage in der Zellkultur vermehrt worden, ergab sich folgendes Bild: In der Gruppe, die 4 Mio Zellen erhalten hatte, lag die Metastasierungsrate bei 3 von 3. Alle drei Tiere hatten Metastasen in den regionalen und Mediastinallymphknoten sowie einen Thoraxerguß. Abgesehen davon traten eine Lungen- und eine Nierenmetastase auf. Nach Applikation von 2 Mio Zellen pro Tier metastasierten 2 von 3 Tumoren. Beide Tiere wiesen Tumorzellanhäufungen in den regionalen Lymphknoten auf. Eines entwickelte einen Thoraxerguß mit Beteiligung der Mediastinallymphknoten, das andere zeigte Metastasen in den Körperlymphknoten. Wurden 1 Mio Zellen verabreicht metastasierten 2 von 4 Tumoren. In beiden Fällen traten sekundäre Geschwülste in den regionalen und den mediastinalen Lymphknoten sowie der Pleura auf.

In diesem Versuch bestand eine Abhängigkeit zwischen Zellzahl und Metastasierungsverhalten. Je weniger Zellen injiziert wurden desto niedriger war die Metastasierungsrate. Die Lokalisation der Metastasen blieb davon unbeeinflusst.

Zellen, die vor der Injektion in flüssigem Stickstoff gelagert wurden, bildeten in Abhängigkeit von der Zellzahl und davon, ob sie vor der Injektion *in vitro* vermehrt worden waren, folgendes Metastasierungsmuster: In der Gruppe, die 4 Mio Zellen / Tier erhalten hatte, die zuvor in der Kulturschale vermehrt worden waren, metastasierten 4 von 4 Tumoren. Die regionalen und die mediastinalen Lymphknoten waren bei allen Tieren befallen. Bei drei von ihnen entwickelte sich zudem ein Thoraxerguß. In einem Fall traten tumoröse Körperlymphknoten auf. Die nächst niedrigere Behandlungsgruppe hatte eine Metastasierungsrate von 3 von 4. Bei allen drei metastasierenden Tumoren entwickelte sich das typische Verteilungsmuster: regionale und mediastinale Lymphknoten waren befallen und ein Thoraxerguß trat auf. In der Gruppe mit der niedrigsten Zellzahl entwickelten 2 von 4 Tieren Metastasen. Deren Lokalisation entsprach derjenigen der vorangegangenen Gruppe. Wurden die Zellen ohne vorherige Behandlung der Maus injiziert, lag die Angangsrate lediglich bei 63%. Von den Tieren, die Aszites entwickelten, hatten aber alle Metastasen. Auch in diesem Fall lag die oben beschriebene für dieses Modell typische Verteilung der Sekundärgeschwulste vor. Anzumerken ist jedoch, daß es im Vergleich mit Gruppe 2, die die gleiche Zellzahl erhielt, bis zur Entwicklung des klinischen Krankheitsbildes 2,5 mal so lange dauerte.

Schlußfolgern ließ sich aus dieser Versuchsreihe, daß die Zellen weder durch Lagerung in flüssigem Stickstoff noch durch die Passage in der Kulturflasche ihr metastatisches Potential verloren. Jedoch war das Metastasierungspotential bei PRXF PC3MAS-Zellen, die aus einer Nacktmauspassage stammten, am höchsten.

Der Vergleich des Aszitesmodells mit intraperitoneal injizierten PRCL PC3M-Zellen fiel in bezug auf das Metastasierungsverhalten ähnlich aus wie bei Betrachtung von Angangsrate und Beobachtungszeit. Grundsätzlich traten Metastasen auf. Das Verteilungsmuster entsprach demjenigen der PC3MAS-Zellen. Allerdings war deren Inzidenz wesentlich höher. Nach Injektion von 4 Mio PC3M-Zellen pro Tier waren 2 von 3 Tieren von Metastasen befallen. Wurden 2 oder nur 1 Mio Zellen verabreicht, metastasierte jeweils nur einer von 3 Tumoren.