

verkennen, wie schwierig die Lösung dieser Frage ist. War es doch bisher nicht einmal möglich, eine definitive Einigung über die bindegewebige oder epitheliale Genese der Näßusszellen zu erzielen, trotzdem hier die Verhältnisse wegen der unmittelbaren Nähe der Epidermis viel einfacher liegen. Jedenfalls ist die epitheliale Natur der fraglichen Zellen nicht so unbestritten, wie bisher allgemein angenommen, wobei noch zu untersuchen wäre, ob diese Zellen von den eigentlichen Bindegewebsszellen oder den Endothel- resp. Perithelzellen abstammen, oder ob sie in Beziehungen zu bringen sind mit den Zementoplasten, die, was die Ausläufer, die Kern- und Protoplasmabildung anbetrifft, manche Ähnlichkeit mit den von uns beschriebenen eigenartigen Zellformen haben.

V.

Experimentelle Studien zur Frage der Knochenbildung aus verlagerten Periostosteoblasten.

(Aus dem Pathologischen Institut der Universität Berlin.)

Von

Dr. T. Tsunoda - Kyoto.

Die Bildung des parostalen, d. h. des unabhängig vom Periost im Binde-, Fett- und Muskelgewebe entstehenden Knochens, ist Gegenstand außerordentlich zahlreicher Untersuchungen gewesen. Indessen sind ihre Resultate verschieden.

Während auf der einen Seite angenommen wird, daß der Knochen immer aus Elementen des Periosts hervorging, die in irgendeiner Weise verlagert wurden, hält man es auf der anderen Seite für möglich, daß auch das parostale Bindegewebe imstande sei, Knochen aus sich hervorgehen zu lassen.

Diese Frage, periostaler bzw. skeletogener Ursprung oder metaplastischer, ist aber nicht nur für die parostale, sondern auch für jede, mit dem Knochensystem nicht in unmittelbarer Beziehung stehende Knochenbildung aufgeworfen worden. Von den meisten Forschern wird die Möglichkeit einer Metaplasie von Bindegewebe in Knochen anerkannt, besonders seitdem Barth, Sacer-

dotti und Poscharissky experimentell eine Knochenbildung im Bindegewebe erzeugt haben. Andere Forscher sind anderer Meinung, insbesondere ist Ribbert als Gegner der Metaplasielehre aufgetreten. Dieser wies einmal darauf hin, daß in all den berichteten Fällen das Bindegewebe sich niemals direkt in Knochen umwandelte, sondern „daß immer zunächst ein jugendliches zellreiches Gewebe entsteht, welches dem Periost- und Markgewebe gleichwertig ist und erst durch seine Tätigkeit Knochen erzeugt“, dann aber ging er noch einen Schritt weiter, indem er z. B. gegenüber den Beobachtungen von Lubarsch von Knochen mit typischem Markgewebe und typischen Osteoblasten in einem Myom des Magens sowie in einem Angiosarkom des Pankreas erklärte, „die kalkresorbierenden und knochenbildenden Zellen können auch aus dem Blute und indirekt aus dem Knochenmark des Skeletts stammen“. Ribbert kommt somit zu dem allgemeinen Schluß: „Metaplasie von Bindegewebe in Knochen gibt es also nur da, wo sie selbstverständlich ist, d. h. von den zum Skelett gehörenden Zellen geleistet wird.“ Demgegenüber hat Orth vor ein paar Jahren in einem parostalen intramuskulären Kallus bei Schenkelhalsfraktur eine metaplastische Bildung von Knorpel und Knochen aus Bindegewebe zu erkennen geglaubt. Bemerkenswerterweise hat ein Schüler Ribberts, Takata, später in Virchows Archiv Ansichten über parostale Knochenbildung geäußert, welche von den oben zitierten Ribbertschen in wesentlichen Punkten abweichen. Da ist keine Rede mehr von einem jugendlichen zellreichen Gewebe, welches zuerst entsteht und erst durch seine Tätigkeit den Knochen erzeugt, sondern die Grundsubstanz erwachsenen Bindegewebes wird unmittelbar in Knochengrundsubstanz umgewandelt, d. h. es wird die metaplastische Bildung von Knochengrundsubstanz aus Bindegewebsgrundsubstanz anerkannt. Den naheliegenden weiteren Schluß, daß auch die Knochenzellen umgewandelte Bindegewebeszellen seien, daß also eine richtige Gewebsmetaplasie vorliege, hat allerdings Takata nicht gezogen, sondern er sucht zu begründen, daß die Zellen des Knochens nicht aus dem Bindegewebe stammen, sondern vom Periost¹⁾. Er

¹⁾ Nachträglicher Zusatz: Nach Ablieferung meines Manuskriptes an die Redaktion dieses Archivs hat Ribbert auch betreffs der Knochenzellen, wenn auch nicht ausgesprochenermaßen in bezug auf den parostalen

denkt dabei zunächst an ein kontinuierliches Einwachsen der Osteoblasten besonders von der Spitze der jüngsten Knochenzacken aus, aber es hat nach ihm auch keine Schwierigkeit, sich vorzustellen, daß gelegentlich auch einmal Osteoblasten nicht in voller Kontinuität sich vorschoben, sondern daß einzelne etwas weiter wanderten, den Zusammenhang mit den übrigen verloren und dann in einiger Entfernung von ihnen eine selbständige Knochenbildung begannen. Vermutlich würde diese Wanderung am leichtesten in einem durch benachbarte Entzündung gelockerten Gewebe, aber auch in einem traumatischen Gewebsdefekt vor sich gehen können. „Man wird also“, so schließt T a k a t a , „bei künftigen Untersuchungen über die parostale Knochenbildung die Möglichkeit einer Wanderung der Periostzellen in Betracht ziehen müssen.“

Daran zweifelt wohl niemand, daß auch unabhängig vom Knochen durch völlig abgetrennte und verlagerte Periostfetzen Knochen neugebildet werden kann, denn dafür haben ja zahllose Experimente den Beweis geliefert, ein anderes aber ist doch die Annahme, daß völlig isolierte Osteoblasten abwandern und selbstständig Knochen bilden sollen.

Es ist hier nicht meine Aufgabe, eingehend die Gründe zu würdigen, welche T a k a t a für diese Meinung vorgebracht hat, aber auf zwei Punkte möchte ich doch in Kürze hinweisen. T a k a t a hebt hervor, daß die isolierten Knochenfelder in seinem Falle außen umgeben sind von regellos liegenden zackigen, relativ großen Zellen, offenbar denselben, die nach innen zu Knochenzellen werden. Diese Zellen setzen sich nicht etwa gegen das umgebende Bindegewebe ab, sondern verlieren sich ohne scharfe Grenze. Die Bindegewebsszellen nehmen gegen den Knochen hin allmählich an Größe zu, aber daraus müsse nicht notwendig geschlossen werden, daß sie sich allmählich in Knochenzellen umwandeln, da die beiden Zellarten, Bindegewebsszellen und Osteoblasten, auch, histologisch

Kallus, den Wechsel seiner Stellung vollzogen, denn er gibt in seinem soeben erhieltenen Werk „Das Wesen der Krankheit“ auf S. 119 zu, daß seiner Auffassung schwere Bedenken entgegenstehen und daß er sie, wenigstens nach unseren heutigen Kenntnissen nicht aufrechterhalten kann. Er gibt nun mehr, da er eine andere Erklärung nicht finden kann, zu, daß die Ableitung der Osteoblasten aus den wieder vollkräftig gewordenen Bindegewebsszellen geringeren Schwierigkeiten begegnet.

untrennbar, zwischeneinander geschoben sein könnten, in dem Sinne, daß die knochenbildenden Zellen bei ihrer Vermehrung nach außen und zwischen die sich gleichzeitig vergrößernden Bindegewebszellen sich vordrängten. Warum aber die Bindegewebszellen sich vergrößern und insbesondere, was aus diesen vergrößerten Bindegewebszellen wird, wenn die Osteoblasten die Bindegewebsgrundsubstanz in Knochensubstanz wandeln, davon sagt T a k a t a kein Wort. Wenn nun T a k a t a , und das ist der zweite zu erwähnende Punkt, weiterhin zur Begründung der Osteoblastennatur der Zellen sagt, daß sie sich einzeln im Aussehen ganz so verhalten, wie die knochenbildenden Zellen in den anderen größeren Knochenbalken, die unzweifelhaft periostaler Abkunft sind, so widerspricht er sich erstens selbst, denn vorher hatte er die beiden Zellarten als histologisch untrennbar bezeichnet, und zweitens ist das doch ganz selbstverständlich, daß, wenn Bindegewebszellen sich in Osteoblasten umwandeln, dann diese umgewandelten Bindegewebszellen auch wie Osteoblasten aussehen müssen; darin liegt ja eben das Wesen der Metaplasie von Zellen, daß diese ihr Aussehen ändern.

Wenn sonach gegen die T a k a t a sche Auffassung mancherlei einzuwenden ist, so ist doch die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen, daß auch Osteoblasten wandern und diskontinuierlich Knochen erzeugen können.

Um diese Möglichkeit experimentell zu prüfen, habe ich auf Anregung von Herrn Prof. O r t h zwei Reihen von Transplantationsversuchen angestellt. Ich benutzte dazu möglichst junge und kräftige Kaninchen, da es ja eine bekannte Tatsache ist, daß die osteoblastische Schicht des Periosts bei ausgewachsenen Kaninchen ganz bedeutend ärmer an osteoblastischen Keimzellen ist, als es bei jugendlichen Tieren der Fall ist. Entsprechend den Erfahrungen von O l l i e r und B u c h h o l z habe ich das Periost der Tibia und des Radius benutzt. Bei jungen Kaninchen kann man hier mit außerordentlicher Leichtigkeit nach vorsichtigem und sorgfältigem Abpräparieren der anliegenden Muskeln das Periost in ansehnlichen Lappen abziehen: man braucht nur einen Schnitt ins Periost zu machen und kann die Schicht abheben ohne zu schaben oder zu kratzen, nur daß man einmal mit dem stumpfen Skalpellstiel nachhilft.

Nach der später genauer zu schildernden Herrichtung der Präparate wurde sofort die Transplantation vorgenommen. Es wurde auf dasselbe Tier oder auf Tiere gleicher Gattung transplantiert. Die Temperatur hielt ich bei der Transplantation auf 38 ° C konstant.

Als Ort der Implantation wählte ich die Muskulatur der oberen vorderen Extremität und des Oberschenkels; die Wahl der letzteren ist besonders vorteilhaft, denn man kann am Oberschenkel die Periostmasse bequem zwischen die lateralen Muskelbäuche einführen und mit einigen Nähten fixieren, ohne daß eine wesentliche Blutung entsteht. Es wurden dann die Muskeln und Faszieien und die Hautnaht mit Jodoformkolloidum bedeckt.

Die Zeit, nach welcher unter dauernder Kontrolle eine Wiederöffnung des Implantationsfeldes stattfand, richtete sich nach den Verhältnissen. Es kam mir zunächst durchaus nicht auf histologische Einzelfragen an, sondern nur auf die prinzipielle Beobachtung der Proliferationsfähigkeit der Osteoblasten. So revidierte ich je nach dem Aussehen der Wunde in Zeiträumen von 1 bis 6 Wochen. Es wurden die Periostzellen mit der Unterlage, auf welcher sie nach der Transplantation innig festgewachsen waren, im Zusammenhang herausgeschnitten und dann in Formol-Müller-Flüssigkeit, Flemming schem Säuregemisch oder Alkohol — je nachdem es zweckmäßig schien — fixiert. Die dann vorgenommenen Färbungen in Hämatoxylin-Eosin oder Karmin, Safranin, nach der van Gieson schen Methode oder die Weigertsche Elastikfärbung richteten sich nach dem Modus der Fixation.

In einer Reihe von Experimenten habe ich möglichst fein zerzupfte Periostfetzen überpflanzt. Dabei fand sich unter 40 Fällen nur 6mal eine intramuskuläre Knorpel- und Knochenbildung, die sich innerhalb 2 Wochen nach der Transplantation in den zwischen den Muskelbündeln liegenden Teilen entwickelt hatte. Die kleinsten Herdchen, welche an Größe zwischen einem Nierenglomerulus und einem Hirsekorn schwanken, bestehen aus Knorpel- oder Knochenspangen oder aus einem rundlichen, mitunter etwas länglichen Felde von Knorpel- oder Knochensubstanz, die durch Fuchsin eine ebenso schöne Färbung annimmt wie die kleinen Knochenbälkchen. Sie enthält in zackigen Höhlen noch

relativ große Knochenkörperchen. Die Knochenbälkchen oder das Knochenfeld gehen entweder in hyalinen Knorpel über oder sind von einer Osteoblastenschicht umgrenzt.

Es kann wohl kein Zweifel darüber sein, daß dieser Knochen aus den Osteoblasten der überpflanzten Periostfetzen entstanden ist, so daß hiermit auch der experimentelle Beweis dafür geliefert ist, daß selbst aus kleinsten, traumatisch versprengten Periostfetzen eine selbständige parostale Knochenbildung in Muskeln, Fettgewebe usw. zu stande kommen kann.

Immerhin ist zu beachten, daß nur 15 % der vorgenommenen Überpflanzungen ein positives Resultat ergeben haben, so daß also doch durch starke Zerfetzung des Periostes die Bedingungen für eine osteoblastische Tätigkeit der Kambiumzellen des Periostes recht ungünstig gestaltet werden.

Um nun auch die Frage, ob völlig von ihrem Mutterboden losgelöste Osteoblasten noch Knochen erzeugen können, zu prüfen, habe ich eine II. Reihe von Experimenten angestellt, in der ich nur die durch Abstreichen der inneren Fläche des in eine sterile Schale gelegten Periostes gewonnenen Kambiumzellen transplantierte. Wenn man bei dem Abstreichen nicht rücksichtslos gegen das Gewebe vorgeht, so kann man das Mitreißen von Beinhautfetzen vollkommen vermeiden, vielmehr ein Schabsel erhalten, das nur isolierte Osteoblasten enthält. Ich habe, um ganz sicher zu gehen, eine Reihe von Deckglaspräparaten, welche mit so abgeschabten Massen beschickt waren, genau untersucht und ich kann versichern, daß sich niemals auch nur eine Andeutung eines mitgerissenen Periostfetzens vorgefunden hat, vielmehr nur isolierte Kambiumzellen vorhanden waren.

Auch in dieser Versuchsreihe stellte ich 40 Einzelversuche an. Da ihr eine besondere Bedeutung zukommt, will ich meine zu verschiedenen Zeiten nach der Transplantation erhobenen Befunde etwas genauer mitteilen, obgleich sämtliche Versuche in Rücksicht auf Knochen- oder Knorpelbildung ein völlig negatives Resultat ergeben haben.

I. Gruppe.

Am siebenten Tage nach der Operation fand ich einen feineren weißen Strich in der Muskulatur. Bei schwacher Vergrößerung waren die Muskelbündel

an einzelnen Stellen blutig infiltriert und hie und da fand sich ein kleiner Granulationsherd, welcher vielfach die Interstitien zwischen den Muskelbündeln ausfüllt. Im Zentrum dieses Granulationsgewebes waren viele Leukozyten vorhanden, und ebenso sah man wenige protoplasmareiche isolierte Kambiumzellen und Riesenzellen zwischen den Leukozyten verstreut; die Kambiumzellen zeigten eine kubische oder rundliche Form mit einem ovalen Kern, dessen Färbbarkeit mehr oder weniger abnahm, auch zeigte der Kern kein karyomitotisches Bild. Die Muskelfasern in der Nähe des Granulationsgewebes zeigten häufig Nekrose, Atrophie, Degeneration und Verkalkung.

II. Gruppe.

Zwei Wochen post transplantationem. Die mikroskopische Untersuchung ergibt ein Granulationsgewebe zwischen den Muskelbündeln; man kann aber in demselben weder isolierte Periostzellen noch Knorpel und Knochen konstatieren. Es finden sich jedoch in diesem Granulationsgewebe Teilungsfiguren der Bindegewebszellen und diese zeigen polymorphe Zellformen und weisen außerdem eine geringe faserige Zwischensubstanz auf. In letzterem Falle sind deren Zellen meistens spindel- oder sternförmig. Manche Muskelfasern sind gruppenweise nekrotisiert oder degeneriert und verkalkt. Häufig kommen Regenerationszeichen an Muskelfasern mit sarkoplastischen Kernvermehrungen vor.

III. Gruppe.

Drei Wochen post transplantationem. Der mikroskopische Befund ergibt die bemerkenswerte Tatsache, daß kein Knorpel- oder Knochengewebe aufgetreten ist, sondern vielmehr nur eine Bindegewebswucherung, welche teils aus Granulationsgewebe teils aus anderem, narbigen Gewebe besteht. Die Muskelfasern zeigen häufig Nekrose, Degeneration und Verkalkung, sowie Muskelfaserregeneration an betreffender Stelle. Die abgeschnittene Faszie ist noch nicht regeneriert.

IV. Gruppe.

Vier Wochen post transplantationem. Mikroskopisch findet man an der Transplantationsstelle des Muskels nur Granulations- und faseriges Bindegewebe. Auch hier sind keine Knorpel- und Knochenbildungen nachzuweisen. An den Muskelfasern der betreffenden Stelle ist meistens Degeneration, Nekrose und Verkalkung zu beobachten. Stellenweise sind sie regeneriert. Die abgeschnittene Faszie ist noch nicht regeneriert.

V. Gruppe.

Fünf Wochen post transplantationem Bei mikroskopischer Untersuchung zeigt der Schnitt eine Bindegewebswucherung im betreffenden Muskelgewebe, welche meistens faserig oder narbig und nur teilweise noch zellreich ist. Es findet sich kein Knorpel- und Knochengewebe An den Muskelfasern ist vielfach Atrophie und weniger Nekrose oder Verkalkung zu bemerken; teilweise sind sie regeneriert.

VI. Gruppe.

Sechs Wochen post transplantationem. Der Befund an der Transplantationsstelle ist derselbe wie bei der V. Gruppe.

Somit hat sich bei keiner dieser Versuchsgruppen irgend etwas nachweisen lassen, was auf progressive Veränderungen an den überpflanzten Osteoblasten hingedeutet hätte: sie haben weder Zeichen einer Vermehrung dargeboten, noch haben sie von sich aus oder mit Hilfe des vorhandenen Bindegewebes Knochen oder Knorpel gebildet. Was ich von Veränderungen an diesen Zellen wahrnehmen konnte, ließ sich mit Sicherheit auf eine Ernährungsstörung zurückbeziehen, die bis zum Absterben der Zellen gehen konnte.

Während also meine erste Versuchsreihe für die Möglichkeit sprach, daß auch kleinste, traumatisch abgesprengte und verlagerte Periostfetzchen noch imstande sind, selbständig Knochen und Knorpel zu bilden, hat diese zweite Reihe gar keinen Anhaltpunkt dafür gegeben, daß auch ganz isolierte Osteoblasten noch zu solcher Leistung befähigt wären. Selbstverständlich kann damit die Möglichkeit, daß innerhalb des menschlichen Körpers aus weitergewanderten Osteoblasten Knochen entstehen könnte, nicht als widerlegt gelten, aber jedenfalls sprechen doch diese Versuche dafür, daß eine derartige Leistungsfähigkeit isolierter Osteoblasten als eine Selbstverständlichkeit nicht angenommen werden kann, sondern daß, wer sie behauptet, erst die Beweise für seine Behauptung erbringen muß.

Literatur.

- Orth, von Leuthold — Gedenkschrift, Bd. II. — Derselbe, Pathologisch-anatomische Diagnostik. — Rübbert, Geschwulstlehre. Bonn. 1904. — Derselbe, Lehrbuch der allg. u. spez. Pathologie, 1908. — Lubarsch, Ergebnisse der Pathologie. Jahrgg. VI, IX, X. — Takata, Virch. Arch. Bd. 193. — Grothe, Virch. Arch. Bd. 155. — Ollier, Journal de la Physiologie t. II. — Bruns, Archiv für klinische Chirurgie Bd. 26. — Barth, Zieglers Beitr. d. Path. Bd. 17. — Morpugo, Virch. Arch. Bd. 157. — Buchholz, Virch. Arch. Bd. 26. — Krafft, Zieglers Beitr. d. Path. Bd. 1.