

(Aus der parasitologischen und vergleichend-pathologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin [Direktor: Geheimrat Prof. O. Lubarsch].)

Über Gewebskulturen von Lebergewebe.

Von

Nobumaro Akamatsu, Kioto (Japan).

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 31. August 1922.)

I. Mitteilung.

Die Erforschung der Gewebskulturen hat einen gewaltigen Fortschritt gemacht, seitdem viele Autoren auf diesem Gebiet fortdauernd Untersuchungen angestellt haben und besonders, nachdem es *Burrows* und *Carrel* gelang, fast alle Organe bzw. Gewebe im Explantat zu züchten. Beide berichteten über Erfolge in der Explantation von Milz-, Leber-, Bauchfell-, Knorpel- und Bindegewebe, ferner mit dem Epithelgewebe in Schilddrüse, Niere und Haut und mit Geschwülsten, Sarkom und Carcinom. Auch hatten *Carrel* und die übrigen Forscher bereits Mitosen im Lebergewebsexplantat beobachtet. Andererseits haben viele Autoren eingehende serologische Forschungen über die Gewebsexplantation angestellt. So gibt es über den Einfluß des umgebenden Mediums auf das Gewebsexplantat sehr viele Arbeiten, und auch heute noch wird vielseitig darüber diskutiert.

Es ist von großer Wichtigkeit zu erforschen, ob sich im Blutplasma nach vorangegangenem Wundreiz, z. B. nach der Entfernung eines Gewebsstückes, Stoffe vorfinden oder bilden, die anregend auf das Wachstum des entsprechenden Gewebes wirken. Ich stellte mir die Aufgabe, diese Stoffe direkt oder indirekt morphologisch nachzuweisen. Aus diesem Grunde erforschte ich die Gewebskultur des Lebergewebes, nachdem die Tatsache des guten epithelialen Wachstums auch der Leber ausgetragener Säugetiere von *Mitsuda* im hiesigen Institut bereits festgestellt war, und versuchte meinerseits zu ergründen, ob die obengenannten Stoffe im Blutplasma nach vorangegangenem Wundreiz vorhanden seien.

Meine Untersuchungen habe ich folgendermaßen angestellt:

Am 1. Tage des Versuches habe ich jeweils einem mittelgroßen Kaninchen einen Teil der Leber unter schonender Äthernarkose operativ entfernt. Gleichzeitig habe ich demselben Tiere etwas Blut entnommen,

indem ich es herzpunktierte. Einen Teil des Lebergewebes teilte ich mit der Schere in etwa hirsekorngroße Stückchen, die ich in einer Mischung von Plasma und *Ringerscher Lösung* zu gleichen Teilen in Plasmakammern explantierte¹⁾. Letztere Mischung von Plasma und *Ringerscher Lösung* habe ich immer als Medium bei Gewebskulturen verwandt. Den Rest des Lebergewebes hob ich in Ringerlösung im Eisschrank auf. Nach ca. 24 Stunden des darauffolgenden Tages habe ich denselben Kaninchen nochmals durch Herzpunktion Blut entzogen und das im Eisschrank gelagerte Stückchen Lebergewebe in dieses Plasma und Ringerlösung explantiert.

Durch die ebenfalls im hiesigen Institut auf Veranlassung von Geh.-Rat *Lubarsch* vorgenommenen Untersuchungen von *Nasu* ist es ganz sichergestellt, daß eine mehrtägige, ja wochenlange Aufbewahrung von Organstückchen auf Eis ihre Lebensfähigkeit nicht im geringsten mindert.

Diese Vergleichungsuntersuchungen habe ich aus dem Grunde nacheinander angestellt, um den Unterschied feststellen zu können zwischen dem Lebergewebe im normalen Plasma und in demjenigen, welches dem Tier nach vorangegangenem Wundreiz entnommen ist. Ich habe einen deutlichen Unterschied im Wachstum der beiden Explantate beobachtet. In dieser ersten Arbeit will ich nur kurz die Ergebnisse meiner Untersuchungen zusammenfassen. Ich habe die Absicht, später noch genauer darauf einzugehen und über weitere Forschungen zu berichten.

Bis zum ungefähr 6. Tage konnte man fast keine bemerkenswerten Wachstumserscheinungen bei dem ersten Leberstückchen (Kontrollfall) feststellen, jedoch bei dem zweiten Leberstückchen (experimenteller Fall) ließ sich ein deutliches Wachstum des Bindegewebes und in den folgenden Tagen auch der Epithelzellen beobachten. Beim Kontrollfall war das Wachstum des Bindegewebes und das spärliche Wuchern der Epithelzellen erst nach gegen 8 Tagen bemerkbar. In dem experimentellen Falle konnte man lebende und auch wachsende Epithelzellen an den peripheren Teilen des explantierten Lebergewebes finden, die sich in Haufen angeordnet hatten. Das Protoplasma der wachsenden Zellen war etwas granuliert, der Kern chromatinarm, färbte sich stark mit Hämatoxylin, auch konnte man die Kernteilungsfiguren sehen. Bindegewebzellen fanden sich einzeln zwischen den wachsenden Epithelzellen oder an den ganz peripheren Teilen des Explantates.

Dieses Bild wurde mit jedem Tage ausgesprochener. Am ausgeprägtesten war das Bild der wuchernden Lebergewebzellen am 14. bis

1) Wir benutzen zu Explantationen diese von Dr. *Kuczynski* (Berl. klin. Wochenschr. 1921, Nr. 51) angegebenen einfachen Schalen, welche sehr leicht steril zu beimpfen sind und je nach dem gewählten Durchmesser es gestatten, eine beliebige Anzahl von Gewebsstücken nebeneinander und auch beliebig viel Plasma zu verwenden.

15. Tage nach der Explantation. Hin und wieder konnte man auch Zellen sehen, die in ihrer Form etwas größer als die übrigen Epithelzellen waren und feine braune Pigmentkörnchen anscheinend vermehrt in sich enthielten (Abb. 1 u. 2). Diese Beobachtung bedarf jedoch noch genaueren Studiums. Beide explantierten Lebergewebsstücke waren im Zentrum fast ganz und gar nekrotisch, und man konnte keine rechte Struktur mehr erkennen, doch konnte man auch in einigen Präparaten, in den mehr zentralen Teilen des Explantates, wachsende Epithel- bzw. Bindegewebszellen beobachten. Wenn man jedoch die Präparate in Serienschnitten genauer untersuchte, so fand man, daß das im Zentrum wachsende Lebergewebe mit dem peripherisch wachsenden zusammenhing. Dieses beweist, daß Stoffe im Blutplasma vorhanden waren, die auf das im Zentrum stehende Gewebe einen Wachstumsreiz ausübt haben, zumindest gegenüber der normalen Kontrolle eine Wachstumsverstärkung bewirken.

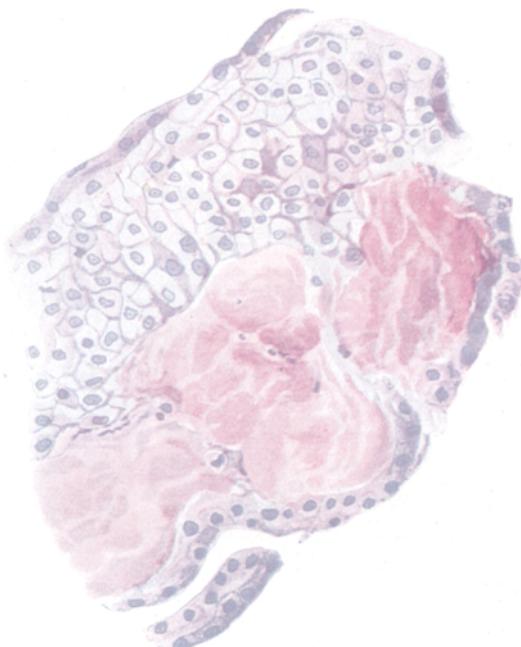


Abb. 1 (Wundreizfall, Leitz Ok. 1, Obj. 6) ist besonders bemerkenswert, daß sich die peripher gelegenen Leberzellen bereits zu einer Art Balkenform zusammengesetzt haben, außerdem sieht man große mit Pigmentkörnchen gefüllte Zellen. Der mit Eosin gefärbte Teil ist das explantierte nekrotisierte Lebergewebe. Fixiert 14 Tage nach der Explantation.

in 12 Fällen das neue Wachstum von Leberzellen sehr deutlich war, während in den Kontrollfällen die Explantate der 3 übrigen Kaninchen völlig abstarben. Bei den 15 Kontrolltieren beobachtete ich ein mäßiges Wuchern von Leberzellen nur in 4 Explantaten, bei 11 Explantaten konnte ich kein Wachstum von Leberzellen feststellen, auch will ich hier betonen, daß das Wuchern der Leberzellen im experimentellen Falle bedeutend ausgesprochener war als im Kontrollfall.

Außerdem muß man noch berücksichtigen, daß die zu den Wundreizversuchen benutzten Leberstückchen 24 Stunden lang in Ringer-

lösung gelegen hatten, wodurch ihre Lebenskraft jedenfalls eher herabgesetzt war, gegenüber der des als Kontrolle benutzten, frisch herausgeschnittenen Leberstückchens. Daß jedoch das mit verminderter Lebenskraft ausgerüstete Lebergewebstückchen schneller und deutlicher gewachsen ist, ist wiederum ein beweisendes Zeichen dafür, daß im Plasma sich wachstumserregende Stoffe befanden.

Somit habe ich das Vorhandensein von Faktoren im Blutplasma nachgewiesen, die auf das Gewebswachstum nach vorangegangenem Wundreiz anregend wirken, indem ich zunächst ihre Wirkung auf die Zellkomplexe gezeigt habe.

Nach dieser oben angegebenen Methode könnte man auch die Gewebskulturen der anderen Organe, wie z. B. Schilddrüse, Hoden usw., noch weiter erforschen und den Einfluß der Wundreize auf diese innersekretorischen Organe beobachten.

Erst wenn es weiter gelingt, den Mechanismus dieser Beziehung aufzuklären, wird es möglich sein, die Erscheinungen dieser Art im tierischen Organismus mit den bei der Pflanze von *Haberlandt* in grundlegender Arbeit gezeigten in Verbindung zu bringen.

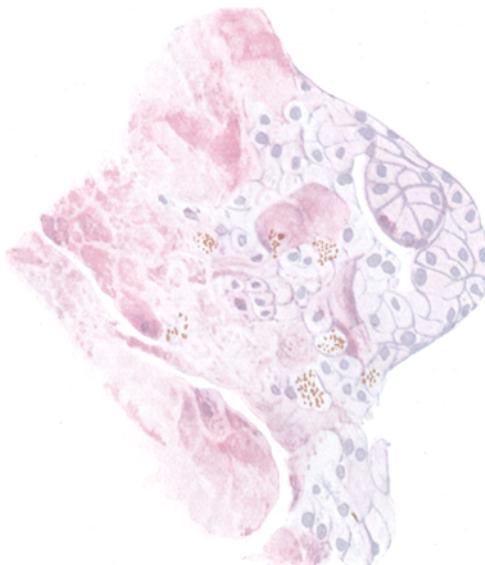


Abb. 2 (Wundreizfall, Leitz Ok. 1, Obj. 6) sieht man 15 Tage nach der Explantation um den nekrotisierenden Herd herum ein starkes Wuchern von neuen Leberzellen.