

(Aus dem Anatomischen Institut der University of Chicago, Chicago, Ill., U. S. A.)

Über krebsähnliche Verwandlung der Milchdrüse in Gewebskulturen*).

Von

Prof. Dr. Alexander Maximow.

Mit 27 Textabbildungen.

(Eingegangen am 13. November 1924.)

1. Einleitung.

Zur Erforschung der Wirkung innersekretorischer Einflüsse auf den Bau und die Tätigkeit der Milchdrüse unternahm ich eine Reihe von Versuchen mit Gewebskulturen dieses Organs in verschiedenen Medien. Als Material gebrauchte ich Kaninchen. In der vorliegenden Arbeit will ich die Veränderungen des Drüsengewebes in Kulturen beschreiben, die mit Blutplasma und Knochenmarkextrakt bereitet wurden. Die Ergebnisse, die bei Anwendung von anderen Gewebsextrakten erzielt wurden, werde ich in einer anderen Arbeit darlegen.

Das Gewebe der Milchdrüse macht in den mit Knochenmarkextrakt bereiteten Kulturen merkwürdige Verwandlungen durch, die histologisch den bei Carcinom auftretenden Erscheinungen sehr ähnlich sind. In den verschiedenen Züchtungsreihen und sogar in den verschiedenen Kulturen ein und derselben Reihe können sie einen verschiedenen Entwicklungsgrad erreichen. In den ausgesprochensten Fällen erhält man unter dem Mikroskop, wie wir sehen werden, das typische Bild des carcinomatösen Prozesses.

In meinen früheren Arbeiten über Kulturen verschiedener embryонаler und erwachsener Gewebe erhielt ich sehr günstige Ergebnisse mit der Mischung von Blutplasma junger Kaninchen und von Knochenmarkextrakt erwachsener Kaninchen als Nährmedium ^{1, 2, 3, 4, 5}). In der vorliegenden Versuchsserie schien das von trächtigen Tieren gewonnene Knochenmarkextrakt besonders wirksam zu sein.

2. Material und Methoden.

Die Technik der Explantation war im großen und ganzen dieselbe, wie sie von mir in meinen früheren Arbeiten über Gewebskulturen bereits beschrieben wurde^{1, 2, 3, 4, 5}). Das Blutplasma entnahm ich der Carotis junger, 2–3 Monate

*) Als vorläufige Mitteilung vorgetragen auf der 40. Versammlung der American Association of Anatomists in Buffalo, am 18. April 1924.

alter Kaninchen und verdünnte es mit Wasser im Verhältnis von 2 : 1. Zum Plasma wurde die gleiche Menge von frischem, von einem erwachsenen Tiere gewonnenem Knochenmarkextrakt hinzugesetzt; es wurde zubereitet durch Zerreiben des Gewebes in einem Porzellanmörser mit keimfreiem Sand und mit dem 4—6fachen Volumen Ringerscher Lösung; der Gewebsbrei wurde sodann bei hoher Geschwindigkeit 15 Minuten lang zentrifugiert und die klare Flüssigkeit nach sorgfältiger Entfernung der Fettsschicht abpipettiert.

Wie ich es in meinen früheren Arbeiten bereits mitgeteilt habe, lasse ich das Gewebe im Plasmatropfen auf der Oberfläche eines kleinen runden Deckgläschen wachsen; das letztere haftet mittelst eines Tropfens Ringerscher Lösung an der unteren Oberfläche eines großen quadratischen Deckglases, welches die Vertiefung des ausgehöhlten Objektträgers bedeckt.

Jeden 3. oder 4. Tag muß die Kultur in frisches Nährmedium übertragen werden. Zu diesem Zwecke wird das runde Deckglas mit dem Explantat vom großen quadratischen Deckglas abgehoben, in Ringerscher Lösung gewaschen, auf ein neues viereckiges Deckglas getan und mit einem neuen Tropfen frischen Extraktes versehen; in Fällen, wo ausgedehnte Verflüssigung des Fibrins eingetreten ist, empfiehlt es sich, bei dieser Transplantation außerdem auch noch einen Tropfen frisches Blutplasma hinzuzusetzen. Die ältesten Kulturen in der vorliegenden Versuchsreihe waren 15 Tage alt.

Das ausschließliche Studium von lebenden und sogar von im ganzen fixierten und gefärbten Kulturen genügt selbstverständlich keineswegs zur Klärung der in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Veränderungen des Milchdrüseneipithels. Die Gewebsschicht ist eben stets viel zu dick dazu, und Einzelheiten des histologischen Bildes können im lebenden Zustande meist nur an einigen wenigen Stellen am Rande des Explantats und besonders in den verflüssigten Bezirken, wo die untere Fläche des Deckglases mit zahlreichen, zerstreuten Epithelzellen gepflastert ist, unterschieden werden. Serienschnitte von fixiertem Material sind unbedingt notwendig. Zur Fixierung gebrauchte ich, wie gewöhnlich, Zenker-Formol. Bei der Einbettung in Celloidin verfuhr ich folgendermaßen. Statt die Kultur mit dem geronnenen Plasmatropfen, wie ich es früher tat, in 95 proz. Alkohol einfach mit einer Gilletteklinge vom Deckglas abzuholen, belasse ich sie auf dem letzteren und entwässere Deckglas mit Kultur zusammen während 24 Stunden in absolutem Alkohol und durchtränke sie dann in einer mitteldicken Celloidinlösung während ebenfalls 24 Stunden. Aus der Celloidinlösung kommt das runde Deckglas mit der Kultur für ein paar Stunden in Chloroform und nachträglich in 75 proz. Alkohol. Die erhärtete Celloidinschicht mit der Kultur wird jetzt mittels einer in demselben Alkohol reichlich angefeuchteten Gilletteklinge vom Glase glatt abgeschnitten, rasch zwischen 2 Schichten Filtrierpapier getrocknet und endgültig in einer neuen Portion Celloidinlösung eingebettet. Dies Verfahren erwies sich als besonders nützlich in den Fällen, wo das Fibrin eine ausgedehnte Verflüssigung unterging, und wo die flüssige Schicht auf der Deckglasoberfläche viele freischwebende oder am Glase haftende Zellen enthielt. Die feste Celloidinschicht hält alle diese freien Zellen zusammen und verhüttet ihre Verlagerung und Abfallen. Wie Vergleichsversuche gezeigt haben, entfernt die biegsame Klinge alles von der Glasoberfläche, und sogar platte, dem Glas eng angeschmiegte Zellen können später auf Serienschnitten in vollkommen unbeschädigtem Zustande wiedergefunden werden.

Die der Oberfläche der Kultur (und des Glases) parallel geführten Schnitte wurden meistens nach meiner üblichen Methode mit Eosin-Azur gefärbt⁶). Bei einigen Kulturen, die zwecks Chondriosomen- und Fettstudiums mit meiner Mischung von Zenker, Formol und Osmiumsäure fixiert wurden, wurde die Kullsche Färbung mit Fuchsin S, Aurantia und Thionin angewandt.

3. Die in lebenden Kulturen sichtbaren Gewebsveränderungen.

Beim Beobachten der lebenden Kulturen sieht man während der ersten 2 Tage das gewöhnliche Auswachsen von radiär gerichteten Spindelzellen, der Fibroblasten und einer mehr oder weniger reichlichen Auswanderung großer und kleiner Wanderzellen. Diese letzteren sind besonders zahlreich in von säugenden Tieren stammenden Explantaten.

In den meisten Fällen umgibt sich das Explantat allmählich mit einer breiten Zone von neugebildetem Bindegewebe; letzteres besteht, wie gewöhnlich, aus vorwiegend in radiärer Richtung angeordneten und netzartig verflochtenen Fibroblasten und aus Wanderzellen. Der Durchmesser des Explantats kann in manchen Fällen nach 15 Tagen bis zu 6 mm betragen. Im Laufe dieses Wachstums plattet sich das ausgepflanzte Gewebsstück bedeutend ab und die Grenze zwischen dem alten und dem neugebildeten Gewebe erscheint verwischt.

In anderen, oft sogar zu derselben Serie gehörenden Kulturen kann das Verhalten des Bindegewebes, aus unbestimmbaren Gründen, ganz verschieden sein — es kann mehr oder weniger passiv bleiben, nur sehr spärliche Fibroblasten wachsen heraus, und auch diese verfallen sehr früh der Vakuolisierung, und ihr Protoplasma wird von Fetttröpfchen und glänzenden Körnern durchsetzt. Dies ist besonders dann der Fall, wenn das Explantat große Mengen Fettgewebe enthält. Mitunter kann das Bindegewebe sogar vollständig nekrotisch werden, und solche Explantate bleiben im Plasma als scharf umschriebene Körper liegen.

Das Verhalten des Epithels erweist sich als ziemlich unabhängig von den Veränderungen des Bindegewebes. Explantate mit passivem oder sogar totem Bindegewebe können dessen ungeachtet auf einem Teil ihrer Oberfläche mit lebendem Epithel bekleidet sein und können in ihrem Innern wucherndes Epithel enthalten.

Erscheinungen von seiten des Epithels machen sich in den lebenden Kulturen durchschnittlich im Laufe des 3. Tages bemerkbar; in einigen Fällen geschieht dies früher, in anderen später. Zusammen und zwischen den radiär ausstrahlenden Fibroblasten tauchen an der Oberfläche des Explantates epitheliale Auswüchse von verschiedener Form und Größe auf. Sie entstammen Ausführungsgängen, die während des Herausschneidens des Stückchens durchtrennt wurden, und stellen entweder hohle Säcke mit dünner oder dicker, aus glänzendem, Fett enthaltendem Protoplasma bestehender Wand oder kompakte, an den Enden fingerförmig zerteilte Stränge und Züge von eckigen oder rhombischen, etwas verlängerten Zellen vor. Sie können auch schon von Anfang an als lose Büschel lang ausgezogener, spindelförmiger Elemente auftreten, die sich mit den Fibroblasten vermischen und von denselben im Leben oft nur mit Mühe oder gar nicht unterscheiden lassen. In späteren Stadien sind in der neugebildeten Bindegewebszone meistens zahlreiche, dick-

wandige, unregelmäßige Gänge mit glänzendem Epithel, manchmal mit cystenähnlich erweiterten Räumen im Innern vorhanden. In den ältesten Kulturen, wo das ganze Explantat stark abgeplattet erscheint und das Gewebe, besonders an der Peripherie, eine dünne und durchsichtige Schicht bildet, können öfters Gruppen von alten, also noch vor der Explantation vorhandenen, Alveolen zwischen den Fibroblasten zerstreut gefunden werden. Sie weisen auch glänzendes, stark lichtbrechendes Epithel mit Vakuolen und Fetttröpfchen im Protoplasma auf und erscheinen mitunter auch cystisch erweitert. Aktive Verwandlungen sind jedoch an ihnen meistens nicht zu vermerken.

Wie alle anderen Epithelarten, so offenbart auch das Milchdrüsenepithel eine ausgesprochene Fähigkeit, das Fibrin des Nährplasmas zu verflüssigen. Wo man in den lebenden Kulturen größere Massen wachsenden Epithels angehäuft findet, wird man stets dieser Erscheinung gewahr. Die umgebenden Gewebelemente, vor allem das Bindegewebe, werden dabei durch die sich ansammelnde Flüssigkeit auseinander geschoben; weiter vergrößern sich die Höhlen zum Teil auch infolge der Kontraktion des umgebenden Fibrinnetzwerkes, und man erhält durchsichtige, runde, schon mit bloßem Auge sichtbare Lücken. In den weiter unten beschriebenen Fällen von ausgedehnter krebsähnlicher Veränderung sind diese Lücken besonders zahlreich und groß. Sie erscheinen, als Regel, nach 5 oder 6 Tagen an den Rändern des Explantates und wandeln dasselbe allmählich, indem sie an Umfang zunehmen, in eine sichelförmige Gewebsmasse, die dem Rande der kreisförmigen Lücke einseitig anliegt und sich an ihren Enden manchmal in dünne Gewebsstränge fortsetzt, die den ganzen Raum ringförmig umgeben. Das Epithel mit seinen großen, glänzenden Zellen sieht man umfangreiche, kompakte, kissenartige Haufen am konkaven Rande des sichelförmigen Explantates bilden und am inneren Rande des Ringes entlang vorwärts gleiten. Die Oberfläche des Deckglases im Bereiche des verflüssigten Gebietes ist meistens mit zahllosen unregelmäßig zerstreuten Epithelzellen bedeckt, die ein sehr günstiges Objekt für cytologische Studien in lebendem Zustande vorstellen. Am äußeren Rande des die Lücke umsäumenden Gewebsringes sieht man die Fibroblasten meistens ins unverflüssigte Fibrin weiter radiär vordringen. Sie können hier übrigens auch von Epithelzügen begleitet werden, und es können hier weiterhin neue Verflüssigungszentren entstehen.

4. Bindegewebe.

Die Ausführungsgänge der Kaninchenmilchdrüse sind von dichtem Bindegewebe umgeben, welches zwischen den Drüsenläppchen mit ihren Alveolen und zwischen den größeren Fettgewebeinseln in Form von Scheidewänden angeordnet erscheint. Es enthält viel derbes

Kollagen, Fibroblasten und ruhende Wanderzellen (Histiocyten). In der aktiven Drüse, wo die Alveolen mehr oder weniger entwickelt erscheinen, enthält das im Inneren der Läppchen, zwischen den Alveolen gelegene interstitielle Bindegewebe nur wenig Kollagen, dafür aber große Mengen locker angeordneter Fibroblasten, ruhende Wanderzellen und massenhaft Lymphocyten und Plasmazellen mit gelegentlicher Beimengung von eosinophilen Leukocyten.

Das Verhalten des interstitiellen Gewebes der Milchdrüse und insbesondere der Fibroblasten in Gewebskulturen entspricht im allgemeinen dem, was *ich* seinerzeit in Kulturen von gewöhnlichem lockerem, ungeformtem subcutanem oder intermuskulärem Bindegewebe beschrieben habe^{7).}

In Fällen, wo die Kultur reichliches Wachstum von Bindegewebe zeigt, erscheint das dichte, nach Eosinazur leuchtend rosafarbene alte Bindegewebe von einem schmäleren oder breiteren, blaugefärbten, aus mitotisch wuchernden spindelförmigen Fibroblasten bestehenden Kranze neugebildeten Bindegewebes umgeben. Die Mitosen sind hier besonders unmittelbar nach Übertragung in frisches Medium sehr zahlreich. Bei ihrem Auswachsen ins Plasma bilden die Fibroblasten, wie gewöhnlich, ein lockeres Netzwerk mit radiär vordringenden Spindeln an der Peripherie. Auf der Oberfläche des Deckglases platten sie sich ab und erscheinen hier in parallelen Zügen angeordnet. Die Grenze zwischen dem neuen, blauen, lockeren und dem alten, rosafarbenen, dichten Gewebe bleibt stets an fixierten und gefärbten Präparaten scharf sichtbar. Das alte Kollagen wird in den späteren Stadien etwas aufgelockert, und die zwischen seinen Fasern gelegenen Fibroblasten hypertrophieren und enthalten Mitosen.

In Fällen, wo das Bindegewebe ein nur schwaches oder gar kein Wachstum zeigt, erfüllt sich gewöhnlich das Protoplasma der im dichten Bindegewebe des Explantates befindlichen hypertrophen Fibroblasten mit groben acidophilen „Degenerationskörnern“, mit Fetttröpfchen und mit Vakuolen und es werden nur selten Mitosen getroffen. Hier fehlt der erwähnte periphere Kranz von neuem Bindegewebe, und statt dessen sieht man bloß einzelne spärliche Spindelzellen sich von der Oberfläche des Explantates ablösen und ins Fibrin eindringen.

In einigen Kulturen kann endlich das Bindegewebe, wie erwähnt, ganz nekrotisch gefunden werden, und das mikroskopische Bild zeigt dann nur dichte verfilzte rosafarbene Kollagenfasern mit spärlichen Zellspurenen.

Die ruhenden Wanderzellen des interstitiellen Bindegewebes werden *in vitro* mobilisiert und erscheinen an fixierten Präparaten als typische amöboide und phagocytierende Polyblasten, die zum Teil im Explantat sitzen bleiben, meistens aber ins Fibrin auswandern. In Milchdrüs-

kulturen enthalten sie in ihrem Protoplasma sehr oft, außer gewöhnlichen Fetttröpfchen, zahlreiche gelbe Pigmentkörnchen oder -schollen, die zum Teil auch durch Osmiumsäure geschwärzt werden und von eingedickter und resorbiertter Milch zu stammen scheinen. In seltenen Fällen findet man in ihnen Mitosen.

In von aktiven und besonders von laktierenden Drüsen stammenden Kulturen erscheint die Zahl der Wanderzellen bedeutend vergrößert. Die Mehrzahl der Plasmazellen und der Eosinophilen verbleibt zwischen den Alveolen im Explantat und verfällt hier allmählich der Degeneration. Im alten und besonders im jungen, neugebildeten, das Explantat umgebenden Bindegewebe aber erscheinen zwischen den weiter unten beschriebenen epithelialen Elementen äußerst zahlreiche, stark amöboide, zum Teil pigmenthaltige Wanderzellen von histiocytärer Natur zerstreut (Abb. 7e). Außerdem erblickt man überall Lymphocyten von verschiedener Größe in amöboider Bewegung begriffen oder frei schwimmend in verflüssigtem Fibrin. Viele von ihnen sieht man hypertrophieren und sich in Polyblasten verwandeln. In einigen Fällen fand ich die größeren Lymphocytenformen in mitotischer Teilung begriffen und sich in eosinophile und Spezialmyelocyten verwandelnd — dieselbe Erscheinung, wie sie von *mir* bereits in mit Knochenmarkextrakt zubereiteten Kulturen von lymphoidem Gewebe beschrieben wurde³).

Die Fettzellen und Blutgefäße zeigen ebenfalls dieselben Veränderungen wie in Kulturen von gewöhnlichem Bindegewebe.

5. Veränderungen des Epithels.

Ich explantierte Milchdrüsen in verschiedenen funktionellen Zuständen — jungfräuliche, reife ruhende, wachsende von trächtigen Tieren, sezernierende von säugenden Tieren und endlich auch Drüsen im Zustand der Rückbildung nach Abschluß der Lactation. Je nach diesem verschiedenen Ursprung zeigten die Epithelveränderungen bedeutende Verschiedenheiten, doch waren die letzteren nur quantitativer Natur, und dem Wesen nach verhielt sich das Epithel überall in gleichartiger Weise. Dies kann uns nicht wundernehmen, wenn wir bedenken, daß, wie wir es noch sehen werden, die aktiven Reaktionserscheinungen unter dem Einfluß des Knochenmarkextraktes sich hauptsächlich an den Epithelien der Ausführungsgänge, nicht aber am Epithel der Alveolen abspielen. Das mit reichlichen Entwicklungspotenzen ausgestattete Epithel der Milchgänge ist in jeder Milchdrüse vorhanden und zeigt an und für sich nur geringe Veränderungen in Verbindung mit den cyclischen funktionellen Zuständen des Organs. Das Alveolenepithe hingegen fehlt in der jungfräulichen und eigentlich auch in der ruhenden erwachsenen Drüse; es wird während der Schwangerschaft neugebildet und erreicht die volle funktionelle Reife zur Zeit des Säugens.

Am deutlichsten reagierte stets das Epithel in den Gängen der Explantate, die von Tieren in der ersten Hälfte der Trächtigkeit stammten; in solchen Fällen enthält bekanntlich schon normalerweise das Gangepithel und auch das Epithel der wachsenden Alveolen zahlreiche Mitosen. In jungfräulichen Drüsen, wo nur Gänge mit ruhendem Epithel vorhanden waren und in milchenden Drüsen, wo das Alveolenepithel durch die Sekretionstätigkeit stark in Anspruch genommen war, fand ich die Reaktion viel schwächer ausgesprochen; hier sah man die typischen Erscheinungen sich nur in späteren Stadien, z. B. nach 10 bis 12 Tagen, nach 2 Transplantationen, deutlich entwickeln, aber auch dann verblieben die weiter unten beschriebenen krebsähnlichen Verwandlungen meistens in mäßigen Grenzen. Sehr oft boten jedoch 2 Kulturserien, die 2 Drüsen in augenscheinlich gleichem Funktionszustande entstammten und mit demselben Knochenmarkextrakt bereitet wurden, deutliche Verschiedenheiten sowohl in bezug auf das Epithel als auch auf das Bindegewebe dar, Verschiedenheiten, für die man keine befriedigende Erklärung geben konnte. Manchmal wurden sogar die verschiedenen Gänge in ein und demselben Explantat in verschiedenen Verwandlungszuständen getroffen.

Das Epithel der Alveolen, welches, wie gesagt, meistens keine sehr wichtigen Veränderungen *in vitro* durchmacht und in mehr oder weniger passivem Zustande verbleibt, kann in Fällen, wo das Explantat einer milchenden Drüse entstammt, seine sekretorische Tätigkeit außerhalb des Organismus für eine Zeitlang fortsetzen. Im Protoplasma der Drüsenzellen geht dann Bildung neuer Fetttröpfchen und Vakuolen vor sich, und das Lumen der Alveolen wird durch die sich ansammelnde Flüssigkeit allmählich cystisch erweitert. Manchmal entstehen hier auch zwischen den Zellen große intercelluläre Vakuolen, die die Zellkörper auseinanderdrängen und verunstalten und die Kerne zusammendrücken; einige von den Zellen können von Fetttröpfchen überfüllt werden und ins Lumen hineinragen. Sehr oft sieht man im Protoplasma der Alveolenzellen und zwischen ihnen große, gelbe, körnige oder schollige Einschlüsse. Lymphocyten sind ebenfalls hin und wieder zwischen den Drüsenzellen anzutreffen und geben hier nach Degeneration dunkelgefärbten Chromatinschollen Ursprung. Allmählich entwickeln sich im Laufe von 5–6 Tagen atrophische Veränderungen in den Alveolen; die Drüsenzellen schrumpfen und sammeln sich in den zusammengefallenen Säckchen in kleinen Häufchen an.

Die myoepithelialen Zellen in den Alveolen bleiben als Regel ziemlich unverändert und treten gewöhnlich im Explantat noch deutlicher hervor als in den Kontrollpräparaten der für das Experiment benutzten Drüse. Sie erscheinen hier als dunkle, sichelförmige, zwischen Membrana propria und Drüsenzellen gelegene und der gewölbten unteren Oberfläche der letzteren eng angeschmiegte Kerne.

In der Regel scheinen folglich die vollentwickelten funktionierenden Drüsenzellen der weiter unten für die Epithelien der Gänge beschriebenen Veränderungen und vor allem der atypischen schrankenlosen Wucherung unfähig zu sein.

In Explantaten jedoch, die Tieren in frühen und mittleren Trächtigkeitsstadien entstammen, wo das Epithel in Vergleichspräparaten sowohl in den Gängen als auch in den Alveolen Mitosen aufweist, wo die Alveolen also noch im Wachstum begriffen sind und die volle funktionelle Reife noch nicht erreicht haben, können die Drüsenzellen, obzwar stets weniger aktiv als das Gangepithel, in späteren Stadien doch manchmal dieselben Strukturveränderungen und dieselbe Wucherung zeigen wie das Epithel der Gänge. Es kann angenommen werden, daß die Alveolenzellen hier noch nicht vollkommen spezifisch differenziert und gerade aus diesem Grunde befähigt sind, die krebsähnlichen Verwandlungen des Epithels der Gänge mitzumachen.

Das Epithel in den Gängen weist bekanntlich 2 Schichten auf. Die innere besteht aus gewöhnlichen, unregelmäßig kubischen oder zylindrischen Zellen, die äußere aus verlängerten, mehr oder weniger deutlich gefaserten, sogenannten myoepithelialen Zellen, die mit der Membrana propria und dem Bindegewebe mittels kleiner eckiger Fortsätze zusammenhängen. In milchenden Drüsen findet man zwischen den beiden genannten Schichten viele eingewanderte Lymphocyten, mitunter auch eosinophile Leukocyten.

In den explantierten Gewebsstückchen erscheinen die Gänge natürlich immer mindestens an einer, manchmal an mehreren Stellen durchtrennt. Die Epithelränder an den durchtrennten Enden können sich manchmal unmittelbar nach dem Herausschneiden wieder schließen und vom umgebenden Medium sogar durch eine Schicht darübergeschobenen Bindegewebes abgegrenzt werden. In den meisten Fällen jedoch bleibt hier das Epithel von Anfang an den Einflüssen der neuen, abnormen Umgebung unmittelbar ausgesetzt, und dementsprechend setzen hier auch die Veränderungen am frühesten ein und bleiben auch im folgenden am deutlichsten ausgeprägt.

Die neuen, durch die Auspflanzung geschaffenen Daseinsbedingungen rufen von seiten des Epithels der Gänge eine prompte Reaktion hervor. Im Laufe der ersten 2–3 Tage erleidet es eine deutliche Hypertrophie, und Mitosen treten auf. In Kulturen, die von schwangeren Tieren stammen, erhöht sich die Zahl der schon vorher vorhandenen Mitosen ganz bedeutend (Abb. 7). Eine sehr typische Erscheinung ist der Schwund einer deutlichen Grenze zwischen der äußeren myoepithelialen und der inneren Zellschicht. Die myoepithelialen Zellen können für eine Zeitlang ihre spindlige Form bewahren, sie senden aber zwischen die anliegenden Kollagenfasern spitze Ausläufer hinaus (Abb. 12 m). Die Zellen der

inneren Schicht bewahren zuerst noch eine ziemlich regelmäßige Anordnung als zylindrische oder kubische Gebilde. Bald nehmen sie aber eine polymorphe, unregelmäßig kubische, polyedrische, dreieckige oder runde Gestalt an (Abb. 12) und häufen sich manchmal an der Wand des Ganges in höckerartig ins Lumen hineinragenden Falten oder Wülsten an.

Die äußere Form der Gänge selbst erleidet ebenfalls tiefgreifende Veränderungen; in einigen Stellen fallen sie zusammen und stellen an Schnitten eckige oder sternartige Gebilde fast ohne Lichtung vor; an anderen Stellen sammelt sich im Lumen Flüssigkeit an, und es entstehen cystische Erweiterungen. Auch zwischen den unregelmäßig zusammen gedrängten Epithelzellen in der Wand der Gänge kann sich Flüssigkeit in Form von großen intercellulären Vakuolen ansammeln (Abb. 12*i*). Die Lichtung des Ganges kann dabei stellenweise unterbrochen werden, und es treten große cystische oder kavernöse Räume auf, die von einander durch dünne oder dicke epitheliale Scheidewände abgegrenzt erscheinen (Abb. 7*c*). Die Flüssigkeit in diesen Höhlen kann Lymphocyten, Colostrumkörperchen von verschiedener Größe mit Fetttröpfchen und granulären Einschlüssen im Protoplasma und manchmal Gruppen abgefallener runder Epithelzellen enthalten. Andererseits kann das wuchernde Epithel auch eine abnorme absondernde Tätigkeit entfalten, und in diesem Falle sieht man zwischen den Zellen kleine und große Schollen einer homogenen, stark mit Azur färbbaren Substanz auftreten (Abb. 7*s*).

An den freien Enden der Gänge oder an Stellen, wo das Epithel der selben vom Plasma nur durch eine dünne Schicht Bindegewebe abgegrenzt ist, tritt die unmittelbare Wirkung der abnormen Umgebung besonders klar hervor. Die Hypertrophie ist sehr deutlich (Abb. 1*u*), und es entstehen besonders große, atypische Gebilde, die entweder einzeln zwischen den anderen noch mehr oder weniger unveränderten Zellen zerstreut sind (Abb. 12) oder in Haufen beisammen liegen. Die Mitosen sind besonders zahlreich. Das wachsende und wuchernde Epithel fängt an, aus dem durchtrennten Gange hervorzuquellen, und dringt entweder in das Fibrin und in das neugebildete Fibroblastengewebe ein, oder es gleitet weiter an der freien äußeren Oberfläche des Explantats.

Das letztere geschieht in den Fällen, wo das Bindegewebe, wie erwähnt, aus unbekannten Gründen in passivem Zustande verbleibt, und wo kein „grasartiges“ oder „histiotypisches“ Hervorsprossen von Fibroblasten bemerkt wird. Jedenfalls tritt aber diese Neigung des Epithels, freie äußere Oberflächen im Explantat zu überziehen, im Milchdrüsengewebe unvergleichlich schwächer hervor als in manchen anderen Organen des erwachsenen Säugetieres (z. B. in der Uterusschleimhaut) und besonders in Körperstücken junger Embryonen, die, wie ich es neulich beschrieben habe, außerhalb des Organismus in der Regel „organo-

typische“ Entwicklung zeigen [Maximow⁵)]. Nur äußerst selten findet man in Milchdrüsenexplantaten einen bedeutenden Teil der Oberfläche mit Epithel bedeckt.

Bei seinem Vordringen ins Fibrin bildet das Milchdrüsenepithel des Kaninchens, wenigstens unter den in meinen Kulturen vergegenwärtigten Bedingungen, kaum jemals ausgedehnte, zusammenhängende Membranen und Schichten, wie dies bei anderen Epithelien so oft der Fall ist, und wie es noch vor kurzem für die Milchdrüse der Maus von Drew⁸) beschrieben wurde.

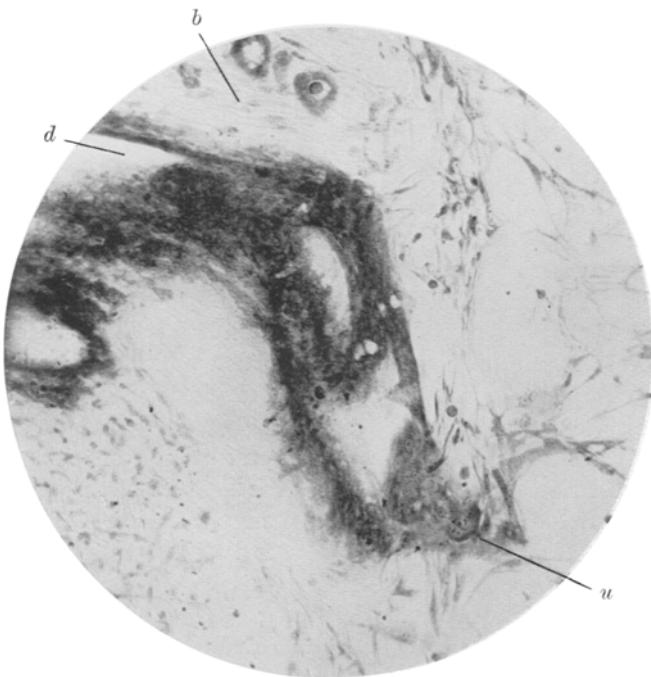


Abb. 1. Ruhende Milchdrüse; Kultur von 5 Tagen in Plasma und Knochenmarkextrakt. Ein erweiterter Gang (*d*) mit Hypertrophie des Epithels am freien Ende (*u*); *b* = interstitielles Bindegewebe. Mikrophotographie. Vergr. 160.

In der Mehrzahl der Fälle — man sieht es, wie erwähnt, bereits in lebenden Kulturen — erscheinen große, hohle oder massive Auswüchse mit unregelmäßigen Umrissen und feinen spitzen Ecken oder cystenähnliche Ausstülpungen. Ihre Wand kann sehr dünn erscheinen und besteht aus platten, breiten, endothelähnlichen oder aus langen, spindligen Epithelzellen (Abb. 2). In anderen Fällen (Abb. 6) besteht die Wand aus einer kompakten Masse dicht gedrängter, stark basophiler, dunkel gefärbter vieleckiger Zellen und zerteilt sich allmählich in eine verschiedene Anzahl von finger- oder läppchenähnlichen Fortsätzen mit

glatten oder zackigen Rändern. Das freie Ende eines Ganges erscheint manchmal von einem kompakten, runden, knospenähnlich vordringenden Epithelpfropf mit großen, hypertrofischen Zellen verschlossen (Abb. 5).

Sobald diese Epithelauswüchse in die neugebildete Bindegewebszone eingedrungen sind, zerteilen sie sich in kleinere oder größere isolierte inselförmige Gruppen von großen, basophilen, unregelmäßig eckigen, runden oder plump spindelförmigen Epithelzellen, die sich zwischen den Fibroblasten zerstreuen (Abb. 3, 5 und 6a).

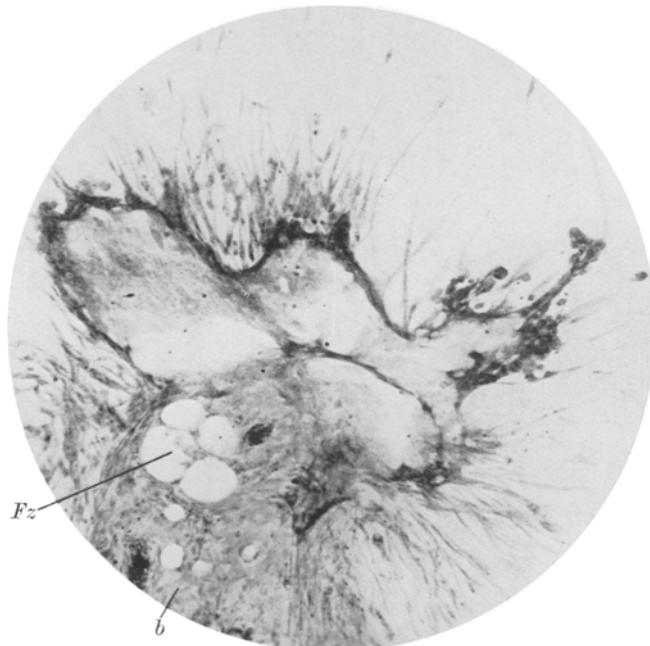


Abb. 2. Milchende Drüse; Kultur von 7 Tagen (1 Transplantation). Große, eckige, von Fibroblasten umgebene, aus einem Gange herauswachsende Epithelcyste; *Fz* = Fettzellen; *b* = interstitielles Bindegewebe. Mikrophotographie. Vergr. 90.

In vielen Fällen nehmen die aus den Öffnungen der Gänge hervorsspringenden Epithelzellen sofort eine lange, schlanke Spindelform an und erscheinen in Form von losen Netzen, Büscheln oder verzweigten, fächerförmig ins Fibrin ausstrahlenden Zügen angeordnet (Abb. 4). Sie werden von Fibroblasten begleitet, die in derselben Richtung vorwärts gleiten, und an solchen Stellen mag es manchmal nicht nur in lebenden Kulturen, sondern auch im fixierten und gefärbten Präparat sehr schwierig erscheinen, die beiden Zellarten voneinander zu unterscheiden. Bei oberflächlicher Betrachtung mögen solche Bilder vielleicht die Idee von einer konvergierenden Verwandlung von Fibroblasten und

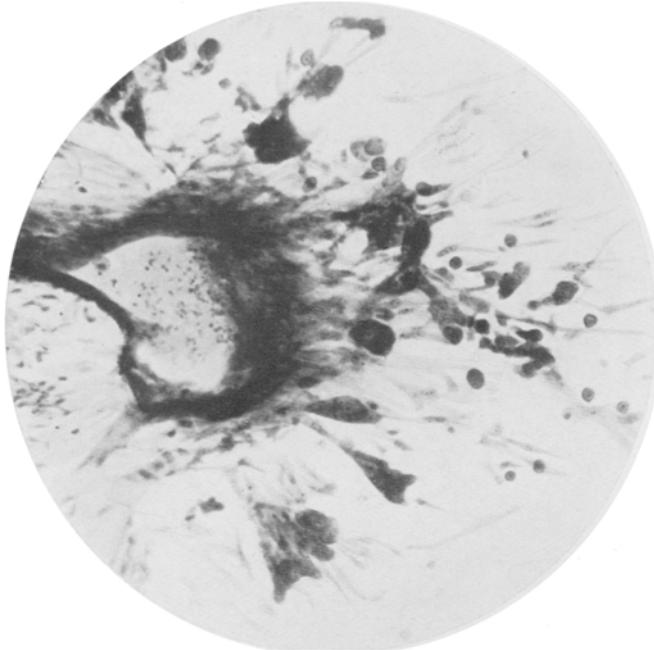


Abb. 3. Ruhende Milchdrüse; Kultur von 6 Tagen (1 Transplantation). Das dunkle, basophile, hypertrophierte Epithel eines Gangs wuchert heraus und zerstreut sich zwischen den Fibroblasten in Form von einzelnen kugeligen Zellen und von kompakten Zellgruppen. Mikrophotographie. Vergr. 200.

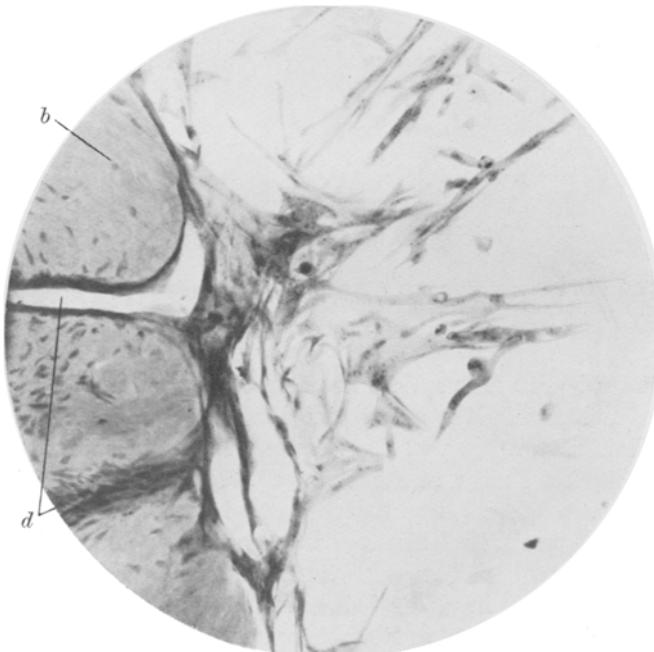


Abb. 4. Drüse am Ende der Lactation; Kultur von 10 Tagen (2 Transplantationen). Das Epithel von zwei eröffneten Gängen (*d*) wächst in Form von schlanken, spindelartigen, fibroblastenähnlichen Gebilden heraus; *b* = dichtes, zellarmes interstitielles Bindegewebe. Mikrophotographie. Vergr. 200.

Epithelzellen in der Richtung eines gemeinsamen „entdifferenzierten“ Zelltypus aufkommen lassen. Eine genaue Prüfung gibt uns aber stets die Möglichkeit, die Epithelzellen an der tieferen Färbung ihres Protoplasmas mit basischen Anilinfarben, an der dickeren Kernmembran, an den größeren Nucleolen und an der plumperen, mehr eckigen Form des Zellkörpers zu erkennen. Sie zeigen stets alle Übergänge zu stark basophilen, kugeligen, kontrahierten Zellen.

Die Zellen der inneren Schicht im Milchdrüsengang reagieren zuerst in der beschriebenen Weise und gleiten nach außen. Die myoepithelialen Elemente hingegen scheinen ihre Differenzierung zäher beizubehalten

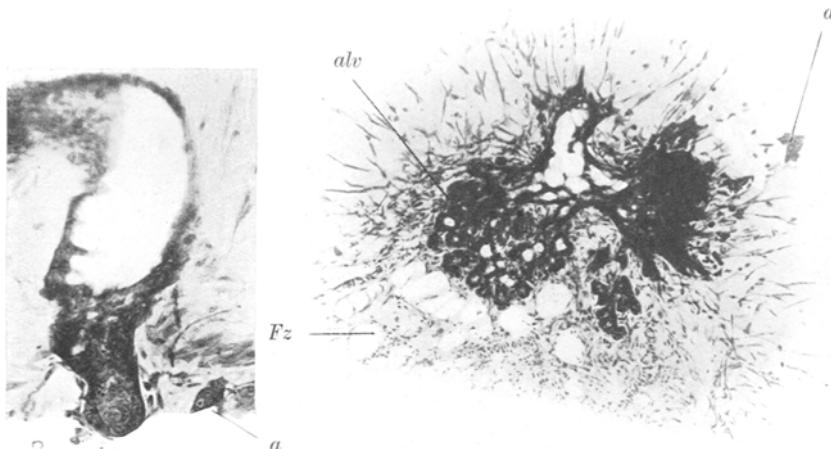


Abb. 5. Ruhende Drüse; Kultur von 6 Tagen (1 Transplantation). Das durchtrennte Ende eines Ganges erscheint von einer kompakten, in das Fibrin herauswachsenden Epithelknospe verschlossen; die Zellen der letzteren ordnen sich konzentrisch an; *a* = isolierte Epithelzellengruppe. Mikrophotographie. Vergr. 160.

Abb. 6. Drüse von einem trächtigen Tier; Kultur von 3 Tagen. Aus einem mit einer Gruppe von Alveolen (*alv*) verbundenen Gange sprossen ein hohler und ein massiver Auswuchs hervor; *a* = isolierte Epithelzellengruppe; *Fz* = Fettzellen. Mikrophotographie. Vergr. 80. *a* = isolierte Epithelzellengruppe. Mikrophotographie. Vergr. 160.

und verbleiben längere Zeit in unverändertem Zustande. Später folgen sie aber doch nach und verändern sich in derselben Weise wie die Zellen der inneren Schicht (Abb. 12 *m*). Sie scheinen eine besonders ausgesprochene Neigung zur eben erwähnten fibroblastenähnlichen Verwandlung zu besitzen.

In der Literatur über die Geschwülste der Milchdrüse wird mitunter die Möglichkeit einer tatsächlichen Verwandlung der myoepithelialen Zellen zu Bindegewebszellen erörtert [Peyron⁹]. Ich glaube jedoch, daß die entsprechenden histologischen Bilder bloß eine Deutung im Sinne einer vorübergehenden, rein äußerlichen, histologischen Strukturveränderung zulassen; die fibroblastenähnlichen Epithelzellen können sich jederzeit wieder abrunden und das typische epitheliale Aussehen wiedererlangen.

Die aus den eröffneten Gängen ins Fibrin respektive in die periphere neugebildete Bindegewebszone vorgedrungenen Epithelzellen werden stets zuerst von den weiter unten beschriebenen krebsähnlichen Veränderungen betroffen. In späteren Stadien findet man jedoch dieselben

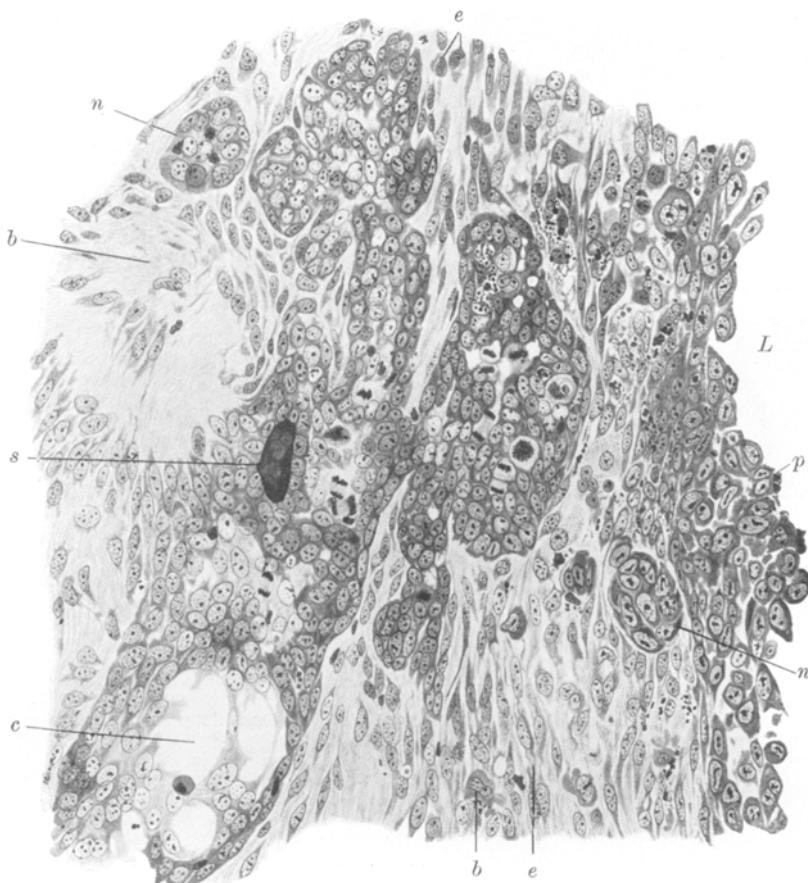


Abb. 7. Drüse von einem trächtigen Tier; Kultur von 6 Tagen (1. Transplantation). Ein Gang mit cystischen Erweiterungen des Lumens (*c*), mit vielen Mitosen im Epithel und mit dunkel gefärbtem abnormem Sekret (*s*), entsendet Auswüchse, die zum Teil in das interstitielle Bindegewebe (*b*) eindringen und hier krebsähnliche Zellnester mit atypischen, hypertrofischen, wuchernden Zellen erzeugen (*n*), zum Teil durch das Bindegewebe hindurch in die verflüssigte Höhle (*L*) gelangen, wo sie am Rande der letzteren dicke Epithelpolster bilden (*p*); *e* = Wanderzellen (Polyblasten) im Bindegewebe. Zeichnung, Zeiss Apochr. Obj. 4, Comp. Oc. 4.

Erscheinungen auch tiefer im Innern der Gänge. Wo das Epithel vom Plasma nur durch eine dünne Schicht Bindegewebe abgegrenzt erscheint, kann es mitunter das letztere durchbrechen und auf diese Weise ins Nährmedium gelangen (Abb. 7).

6. Verteilung der wuchernden Epithelzellen in der Kultur.

Wenn das wuchernde Gangepithel aus dem Explantat in die Zone des neugebildeten Bindegewebes gelangt, erscheinen seine Zellen von radiär oder in losen Netzwerken angeordneten Fibroblasten, von Polyclasten und Lymphocyten umgeben. Sie zerstreuen sich in Bindegewebe einzeln oder in Gruppen von verschiedener Größe (Abb. 3), oder sie bilden verzweigte Zellzüge oder kompakte runde Nester, und in solchen Stellen entstehen dann die oben erwähnten Verflüssigungsbezirke (Abb. 7).

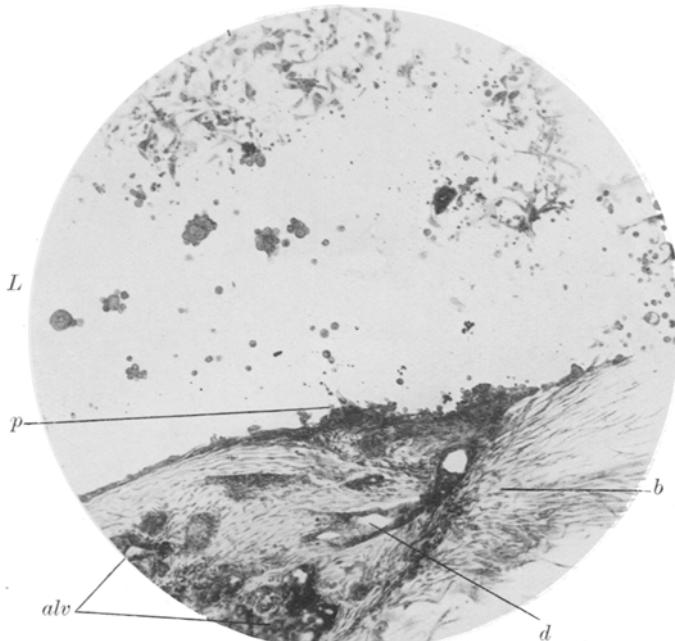


Abb. 8. Dieselbe Kultur wie in Abb. 7. Das Epithel des Ganges *d* zerstreut sich auf der Deckglasoberfläche im Bereich des verflüssigten Bezirkes *L*; man sieht kompakte runde Epithelkörper und einzelne, eckige, fibroblastenähnliche Epithelzellen; *p* = Epithelpolster am Rande des Explantats; *alv* = Alveolengruppen; *b* = wucherndes interstitielles Bindegewebe. Mikrophotographie. Vergr. 65.

Diese Verhältnisse können natürlicherweise in allen ihren Einzelheiten nur an Serienschnitten, an fixierten und gefärbten Präparaten studiert werden. Im Bereich der verflüssigten Bezirke (Abb. 7, 8 *L*) bleiben gewöhnlich nur wenige oder gar keine Bindegewebelemente liegen. Die Fibroblasten werden als Regel zusammen mit dem sich kontrahierenden Fibrin nach der Peripherie abgedrängt und bilden hier einen konzentrisch geschichteten, die kreisförmige Fläche umfassenden Ring. Am äußeren Rande des letzteren setzen sie ihr gewöhnliches „grasartiges“ Wachstum fort und dringen in das nicht verflüssigte Fibrin weiter ein; am inneren Rande hingegen wird der Ring gewöhnlich von einer dickeren oder

dünneren Schicht Epithel umsäumt, welche an vielen Stellen unterbrochen erscheint und dicke Polster und kompakte Haufen bildet (Abb. 7 und 8 p). Besonders große Anhäufungen von Epithel sind immer an der inneren konkaven Oberfläche des dem verflüssigten Felde von außen sichelförmig angeschmiegten Explantats zu finden.

Die auf der Glasoberfläche im verflüssigten Felde zerstreuten Epithelzellen sind außerordentlich vielgestaltig (Abb. 8, 10, 13). Sie bewegen sich in verschiedenen Richtungen, wuchern reichlich und bilden an vielen

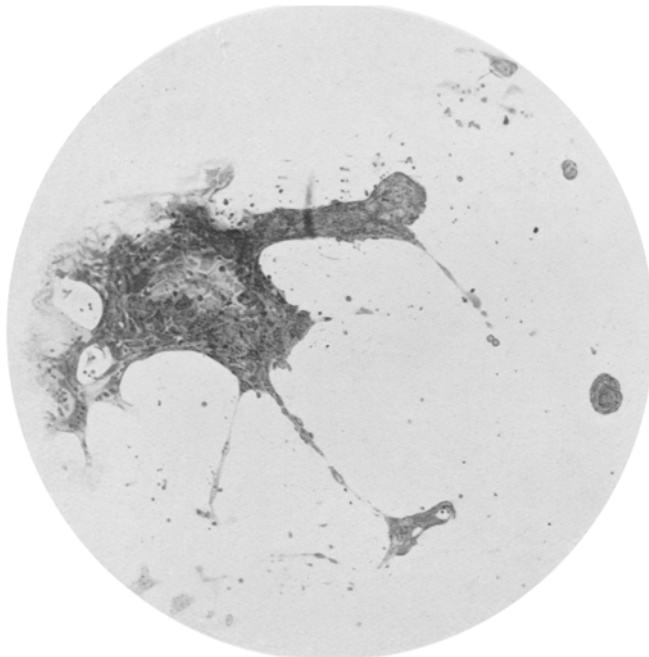


Abb. 9. Große Epithelinsel aus derselben verflüssigten Fläche wie in Abb. 8. Mikrophotographie. Vergr. 65.

Stellen lockere, gewebsähnliche Schichten (Abb. 10 und 13) oder kompakte, scharf begrenzte Haufen oder Inseln von kugeliger oder unregelmäßiger Form und von sehr verschiedener Größe (Abb. 9, 14, 21, 22). Eine ähnliche Mannigfaltigkeit von Epithelzellenformen ist vor kurzem von meinen Schülern *Chlopin*^{10, 11)} und *Mjassojedoff*¹²⁾ in Gewebskulturen der Submaxillaris, der Harnblase und der Ovarfollikel beobachtet worden.

7. Veränderungen im Bau der Epithelzellen.

Sobald das Epithel seine normale Anordnung in einem Gange aufgegeben hat und aus den durchschnittenen Enden des letzteren in der beschriebenen Weise hervorsprießt, erleiden seine Zellen stets tief-

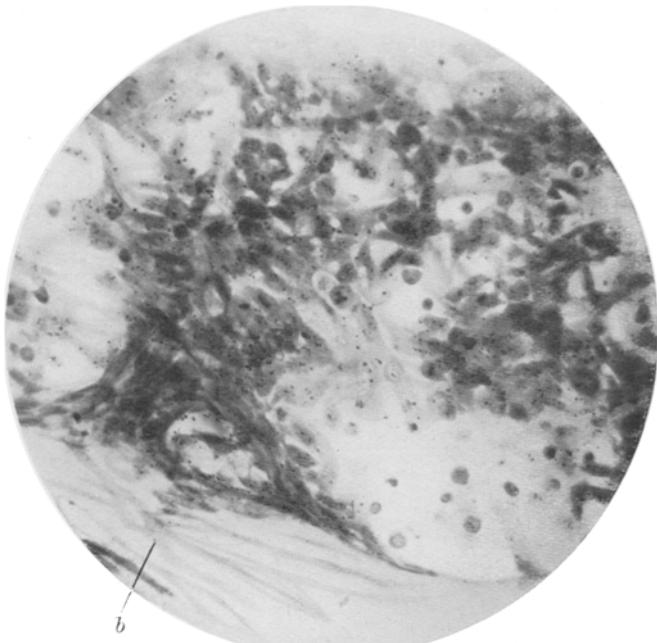


Abb. 10. Drüse von einem trächtigen Tier; Kultur von 7 Tagen (2 Transplantationen). Das atypische, stark und unregelmäßig hypertrophische, wuchernde Epithel erscheint in Form einer dicken, losen Gewebschicht an der Oberfläche des Deckglases angeordnet. Im Zentrum eine dreipolige Mitose; *b* = Bindegewebe. Mikrophotographie. Vergr. 200.

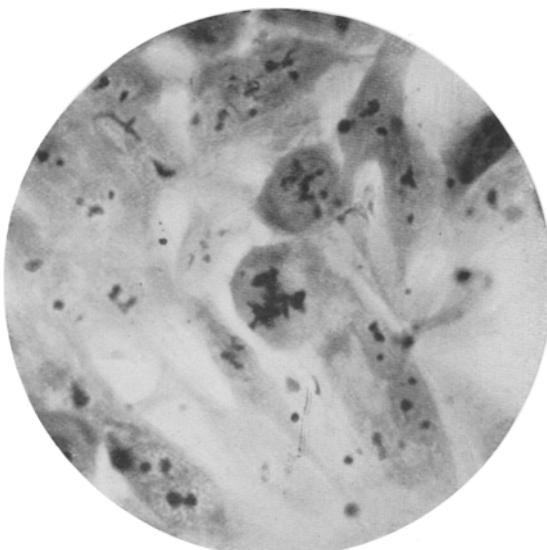


Abb. 11. Die in der vorigen Abbildung sichtbare Kernteilungsfigur bei starker Vergrößerung; in den umgebenden Zellen Kernamitosen. Mikrophotographie. Vergr. 900.

greifende Strukturveränderungen. Dies kann sogar schon früher eintreten, zur Zeit, wo die Zellen ihre Lage im Innern des Ganges noch beibehalten (Abb. 12); für die Zellen jedoch, die herausgewachsen sind, ist es die Regel.

Die Zellen vergrößern sich noch mehr, aber keineswegs gleichmäßig; die Hypertrophie kann in späteren Stadien und besonders in den verflüssigten Bezirken und in den kompakten Epithelinseln ganz außer-

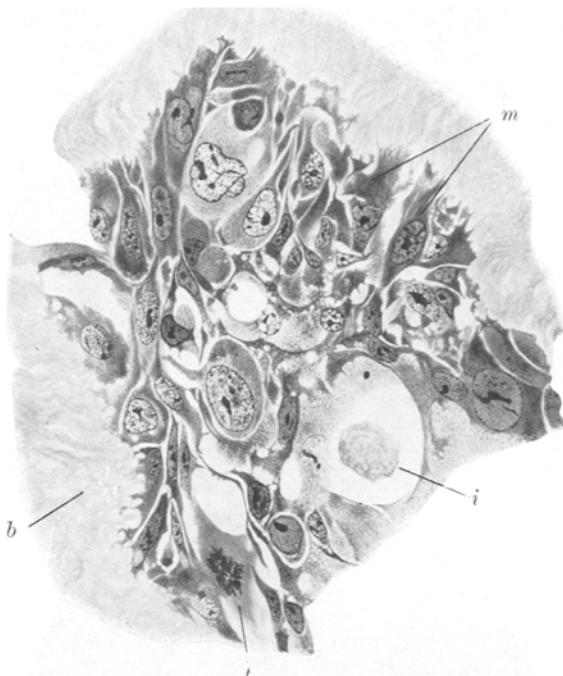


Abb. 12. Ruhende Drüse, Kultur von 9 Tagen (2 Transplantationen). Schrägschnitt durch die Wand eines Ganges; das interstitielle Bindegewebe (*b*) ist nekrotisch. Das Epithel zeigt Mitosen (*t*) und Hypertrophie; die myoepithelialen Zellen (*m*) schließen sich in ihrer Verwandlung den anderen Epithelzellen an; *i* = mit Flüssigkeit gefüllte intercelluläre Vakuolen. Zeichnung, Vergr. wie in Abb. 13.

ordentliche Grade erreichen (Abb. 13 und 14). Die polare Differenzierung geht vollständig verloren. Die äußere Form ist unendlich verschieden. Außerdem wird die Mannigfaltigkeit noch durch die im lebenden Zustande sehr deutlich sichtbare amöboide Bewegung erhöht, indem die Zellen zahlreiche, manchmal sehr große Pseudopodien treiben (Abb. 13—19). Die Grundform aller dieser Gebilde ist jetzt kugelig; riesengroße, runde, überall in der Neubildungszone und besonders im Bereich der verflüssigten Flächen zerstreute Epithelzellen sind überhaupt ein typisches Merkmal der mit Knochenmarkextrakt bereiteten

Kulturen der Kaninchenmilchdrüse (Abb. 13—19). Diese runden Zellen lassen sich von den bindegewebigen Wanderzellen, den Polyblasten, leicht durch ihren größeren helleren Kern mit dem groben Kernkörperchen und der dicken Kernmembran und durch die Abwesenheit oder nur sehr spärliche Anzahl von Fetttröpfchen unterscheiden. Von den kugeligen Zellen sieht man alle Übergänge zu dicken Spindeln und ferner zu langen, schlanken, fibroblastenähnlichen Gebilden. In den kompakten Epithelinseln und

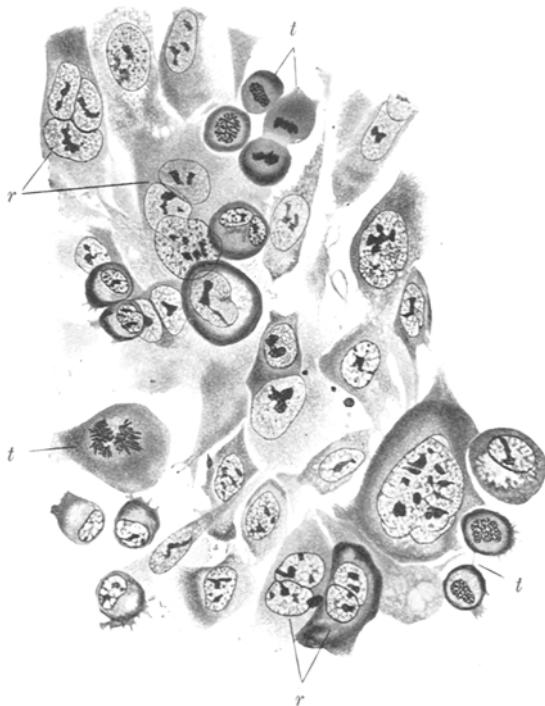


Abb. 13. Drüse von einem trächtigen Tier; Kultur von 6 Tagen (1 Transplantation). Epithelschicht auf der Oberfläche des Deckglases. Die Zellgrößen sind außerordentlich ungleichmäßig; viele Mitosen (t), Kernamitosen (r) und Pseudopodienbildung. Zeichnung, Zeiss Hom. Imm. $1/12$, Comp. Oc. 6. Bei der Reproduktion um die Hälfte verkleinert.



Abb. 14. Eine andere ähnliche Kultur von derselben Serie. Eine kompakte Gruppe von hypertrophen, amöboiden Epithelzellen; die Kerne zeigen amitotische Zerschnürung. Zeichnung, Vergr. wie in Abb. 13.

Klumpen erhalten die runden Zellen durch gegenseitigen Druck eine vieleckige Gestalt (Abb. 9 und 14), während sie an der äußeren Oberfläche der Epithelmassen wie in einer Morula halbkugelförmig vorspringen (Abb. 8 und 9); auch hier erscheint ihr Protoplasma an der freien Oberfläche sehr oft mit kurzen, spitzen, durchsichtigen Pseudopodien oder mit zahlreichen kleinen Zacken besetzt (Abb. 22).

Eine besonders erstaunliche Anzahl von verschiedenen Epithelzellenformen wird, wie gesagt, auf der Deckglasoberfläche im Bereich der Verflüssigung des Fibrins vorgefunden (Abb. 10, 13). Auch hier herrschen die runden Zellen vor; einige von ihnen erscheinen zusammengezogen und kugelig, andere platten sich auf dem Glase ab und verwandeln sich in riesige runde Scheiben (Abb. 13, 15, 19). Die Peripherie des Zellkörpers ist fast stets entweder an der ganzen Oberfläche oder an einem bestimmten

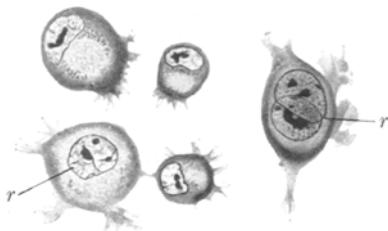


Abb. 15.



Abb. 16.



Abb. 17.

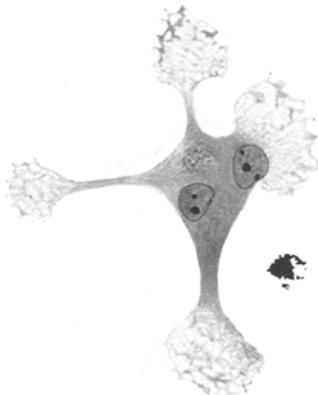


Abb. 18.



Abb. 19.



Abb. 20.

Abb. 15–20. Drüse von einem trächtigen Tier; Kultur von 7 Tagen (2 Transplantationen). Verschiedene im Text beschriebene Formen atypischer Epithelzellen; *r* = Kernamitose; *t* = tetradenähnliche Chromosomen in einer großen unregelmäßigen Mitose. Zeichnung, Vergr. wie in Abb. 13.

begrenzten Teile der letzteren mit durchsichtigen homogenen ektoplastischen Pseudopodien besetzt, deren Bewegungen im lebenden Zustande leicht verfolgt werden können. Oft kommen große, mit einer Art Fußplatte und mit einem Schopf wurzelähnlicher Pseudopodien ausgestattete Kugelzellen vor (Abb. 14, 15, 19). Sehr typisch sind ferner beil-, schaufel- und ruderähnliche Zellen mit einem dem Körper einseitig ansitzenden kurzen oder langen Auswuchs, der in eine fächerartige, im Leben glashelle, homogene protoplasmatische Membran ausläuft; der konvexe Rand der letzteren haftet fest am Glase und erscheint gewöhnlich mit kleinen zackenartigen Pseudopodien besetzt (Abb. 14 und

16). Wenn die fächerartige Membran nicht gestielt ist, sondern dem Zellkörper unmittelbar einseitig breit ansitzt, entstehen Formen, die mit den von *Goodrich*¹³⁾ in Funduluskulturen beschriebenen „Canoezellen“ übereinstimmen. In anderen Fällen kann der runde Zellkörper im Gegenteil mit einem besonders langen Stiel versehen sein, der an seinem Ende in eine breite, kreis- oder halbkreisförmige oder ganz unregelmäßige, am Rande auch mit Pseudopodien besetzte Protoplasmplatte ausläuft. Manche Zellen können zwei symmetrische schaufelförmige Auswüchse besitzen (Abb. 17), und gelegentlich begegnet man sehr großen flachen Zellen mit mehreren langen in verschiedenen Richtungen auseinander gespreizten schaufelförmigen Fortsätzen (Abb. 18). Die Stiele sind manchmal sehr lang fadenförmig ausgezogen. Alle diese an der Glasoberfläche haftenden Zellen können schließlich eine ganz unregelmäßige eckige oder verlängerte Gestalt annehmen, und dabei können sehr oft wiederum fibroblastenähnliche Gebilde von verschiedener Größe entstehen.

Selbstverständlich ist der beschriebene außerordentliche Formenreichtum keineswegs für die Milchdrüse und nicht einmal für das Epithelgewebe spezifisch. Schaufel- und beilförmige Zellen werden mitunter auch in Kulturen anderer Epithelarten getroffen, und ich sah sie gelegentlich sogar in Knochenmarkskulturen.

Die innere Struktur der beschriebenen hypertrofischen Epithelzellen ist sehr typisch. Der riesige runde oder ovale Kern erhält eine dicke Membran. In den kugeligen Zellen nimmt er eine exzentrische Stellung ein, und seine der größeren Protoplasmaanhäufung zugekehrte Seite erscheint gewöhnlich eingedellt oder gefaltet. Das Chromatin ist spärlich, aber die in Ein- oder Mehrzahl vorhandenen Kernkörperchen sind sehr groß, von sehr unregelmäßiger Form und färben sich stark. Der Zelleib besitzt im lebenden Zustande einen äußerst typischen, sehr dicken, stark lichtbrechenden, glänzenden peripheren Saum von verdichtetem Protoplasma. Nach Fixierung und Färbung mit Eosinazur erscheint derselbe dunkelblau gefärbt (Abb. 13 und 15). Falls die betreffende Zelle cilien- oder membranähnliche Pseudopodien besitzt, sieht man die blasse, durchsichtige Substanz der letzteren der äußeren Oberfläche des dunklen basophilen Saumes entspringen. Das den Kern umgebende und meistens, wie gesagt, einseitig angehäuften Endoplasma ist deutlich acidophil und enthält ein großes Cytozentrum. Oft kann zwischen diesem rosafarbenen Endoplasma und dem dicken tiefblauen Ektoplasma ein netzartiges Gebilde unterschieden werden — das Golgi-Netz, wie es von *Da Fano*¹⁴⁾ in Tumorzellen beschrieben wurde (Abb. 13, 15, 16). In den Zellen, die eine spindelähnliche, platte, eckige oder schaufelförmige Gestalt annehmen, tritt die typische konzentrische Anordnung des basophilen Ektoplasmas und des acidophilen Endo-

plasmas weniger deutlich hervor. Immerhin ist ein zentraler, rosafarbener, dem Kern anliegender Hof stets vorhanden. In den kompakten Epithelinseln bleiben die Umrisse der großen, dicht zusammengedrängten basophilen Zelleiber immer sehr deutlich als scharf gezogene rote Linien sichtbar (Abb. 9, 14, 21, 22).

Ein eingehenderes cytologisches Studium der beschriebenen Elemente mit speziellen Methoden, besonders zur Aufklärung des Verhaltens der Chondriosomen, würde sich gewiß lohnen.

8. Vermehrung.

Vor dem Eintreten der soeben beschriebenen Veränderungen im Bau der Epithelzellen vermehren sich die letzteren ausschließlich durch gewöhnliche Mitose. Normale Kernteilungsfiguren sind im Epithel der cystisch erweiterten Gänge sehr häufig. In den atypischen, hochgradig hypertrophischen, aus den Gängen heraussprossenden und sich im neugebildeten Bindegewebe und in den verflüssigten Bezirken zerstreuenden Zellen erreicht die Stärke der Wucherung einen noch höheren Grad. Gewöhnlich trifft man die kleineren runden Zellen in Teilung begriffen (Abb. 13t). Die Mitosen in den großen, stark hypertrophischen Elementen zeigen sehr oft abnormen Charakter. Unregelmäßige, asymmetrische und namentlich mehr-, meistens dreipolige Mitosen sind eine ganz gewöhnliche Erscheinung (Abb. 10 und 11). Manchmal sehen die Chromosomen den Tetraden der Reifungsteilungen sehr ähnlich aus (Abb. 19t).

Die großen, kugeligen, pseudopodientreibenden Zellen mit der dicken Außenschicht von glänzendem, basophilem Protoplasma, aber auch die beschriebenen eckigen, spindel- oder schaufelförmigen Zellen besitzen sehr oft zwei, manchmal auch mehrere große, meistens halbkugelförmige Kerne, die stets eng aneinander geschmiegt erscheinen. Dies ist die Folge der direkten Kernteilung; typische Bilder der Kernamitose mit Kernmembranfalten, die tief in den Kern einschneiden und ihn schließlich vollkommen durchschnüren, können überall leicht gefunden werden (Abb. 11, 13r, 14, 15r, 16, 19r).

9. Perlenbildung und Verhornung.

Alle aus den Gängen hervorgesprossenen Epithelzellen, die sich durch die abnorme Hypertrophie, durch die starke Wucherungstätigkeit und durch die beschriebenen Strukturveränderungen auszeichnen, zeigen auch eine ausgesprochene Neigung zur Ansammlung in konzentrisch angeordneten kugeligen Gruppen. Oftmals kann man dies bereits in den frühen Stadien bemerken, z. B. in den massiven Epithelknospen, die die Öffnungen der Gänge verschließen und nach auswärts wachsen (Abb. 5). Später wird diese Erscheinung überall gefunden, besonders

aber in den verflüssigten Bezirken, wo man gewöhnlich auch alle Übergänge findet von kleinen zu sehr großen kompakten Epithelkörpern mit konzentrischer Anordnung der Zellen, die den Hornperlen in Plattenepithelkrebsen ganz ähnlich sehen (Abb. 8, 9). In den kleineren Körpern ist gewöhnlich nur ein meistens von einer oder zwei großen, blasigen, degenerierenden und oft deutlich verhornten Zellen eingenommenes Zentrum vorhanden, welches von einer wechselnden Anzahl von flachen, im optischen Querschnitt sichelförmigen, verhornten Zellen umgeben erscheint. In den größeren Epithelinseln können mehrere Perlen vorhanden sein, mit allen Übergängen zwischen großen, hellen, blasigen Zellen und dünnen, konzentrisch angeordneten Hornschuppen (Abb. 21, 22, 23).

Auch andere Degenerationstypen kommen gelegentlich in solchen Stellen vor; manchmal häufen sich große, dunkel färbbare intracelluläre Einschlüsse an, oder es entstehen riesige Vakuolen, die den Zellkörper zu einer dünnen Membran ausdehnen. In den Riesenkernen können geschwollene homogene Kernkörperchen von außergewöhnlicher Größe auftreten. Oft sieht man große Haufen von locker angeordneten sphärischen Zellen in verschiedenen Stadien der Verhornung und kleine Perlen in den verflüssigten Höhlen und zwischen Bindegewebsszellen und Fibrinnetzen zerstreut liegen.

10. Phagocytose.

Da die beschriebenen atypischen Epithelzellen, wie wir gesehen haben, amöboid beweglich sind und Pseudopodien treiben, ist es ganz natürlich, daß sie verschiedene kleine Teilchen in ihr Protoplasma aufnehmen können. Sehr oft, besonders in den kompakten Epithelballen und Epithelinseln sieht man kleinere, runde, mitunter in Mitose befindliche Epithelzellen von anderen ähnlichen, aber größeren Zellen aufgenommen (Abb. 20); das Protoplasma der letzteren ist dabei wie in einer Fettzelle auf eine dünne, die verschlungene Zelle umhüllende Membran reduziert, die an der Stelle des Kernes eine entsprechende Verdickung zeigt. Ähnliche Erscheinungen sind vor kurzem auch von *Chlopin*¹¹⁾ in Gewebskulturen der Harnblasenschleimhaut beobachtet worden. In einem Falle, wo die Kultur durch saprophytische Bakterien infiziert wurde, sah ich die hypertrophenischen Epithelzellen große Mengen dieser Bakterien in ihr Protoplasma aufnehmen; eine große kugelförmige Bakterienkolonie, die der Oberfläche eines Epithelballens mit Perlen im Inneren anlag, erschien sogar vollständig umhüllt von mehreren Schichten konzentrisch angeordneter flacher Zellen.

In den Fällen, wo Baumwollfasern und andere sterile Fremdkörper zufällig in der Kultur zugegen sind, findet man sie oft dicht beklebt mit hypertrophenischen amöboiden Epithelzellen.

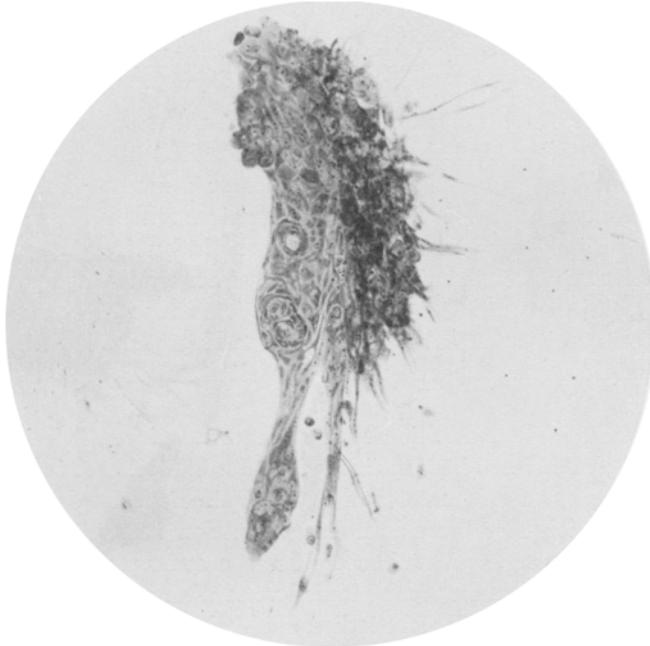


Abb. 21.

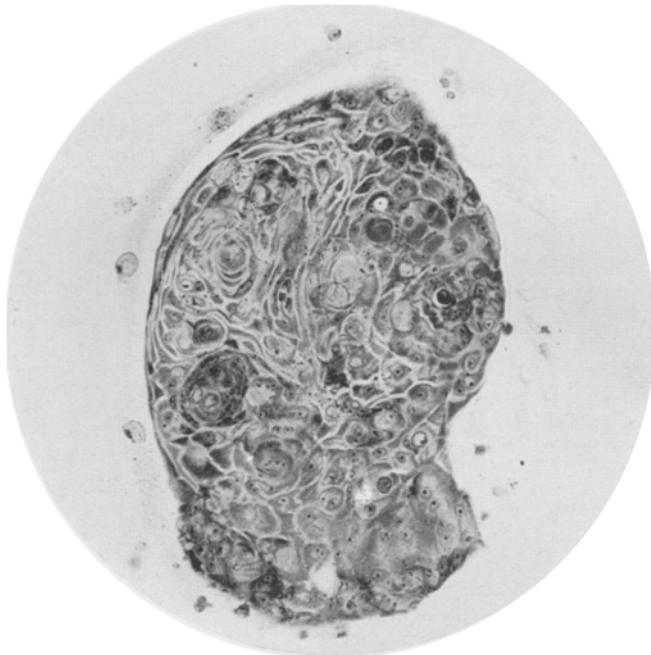


Abb. 22.

Abb. 21 und 22. Drüse von einem trächtigen Tier; Kultur von 9 Tagen (2 Transplantationen). Zwei große kompakte Epithelkörper aus einer verflüssigten Fläche, mit Perlenbildung. Mikrophotographien. Vergr. 130 resp. 225.

11. Infiltratives Wachstum.

Wenn die beschriebenen anormalen Veränderungen in Größe, Form und innerem Bau der Epithelzellen und ihre starke Wucherung, zusammen mit den Erscheinungen der Perlenbildung und der Verhornung, schon an und für sich die Idee einer krebsähnlichen Verwandlung aufkommen lassen, so wird das Bild des Carcinoms durch die Beziehungen des abnormen Epithels zum Bindegewebe endgültig vervollständigt.

Wie erwähnt, zerstreuen sich die hypertrophen, wuchernden Epithelzellen in der Neubildungszone des Bindegewebes in einzelnen runden oder polymorphen, spindelförmigen oder eckigen Exemplaren oder in lockeren, unregelmäßigen Gruppen (Abb. 3); sie erscheinen mit-

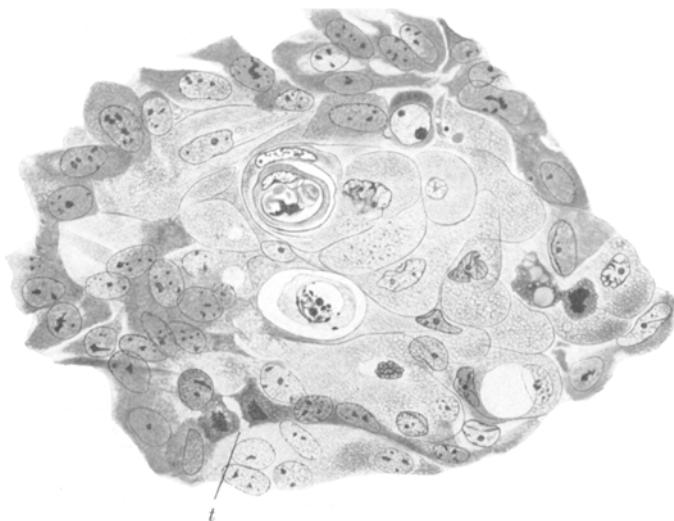


Abb. 23. Drüse von einem trächtigen Tier; Kultur von 10 Tagen (3 Transplantationen). Verhornung und Perlenbildung in einer aus einem Gang hervorsprossenden Epithelmasse. Zeichnung, Vergr. wie in Abb. 13.

unter auch in verzweigten, platten oder zylindrischen Strängen und Zügen angeordnet. In günstigen Schnitten kann die direkte Verbindung dieser Zellstränge mit den im Explantat gelegenen Gängen und mit ihrem wuchernden und Ansammlungen von eingedicktem, färbbarem oder wasserhellem Sekret enthaltenden Epithel festgestellt werden (Abb. 7). Indem sich nun diese wachsenden und sich verzweigenden Zellstränge in einzelne isolierte Abschnitte zerteilen, entstehen kompakte, runde oder ovale, krebsähnliche Nester von großen, basophilen Epithelzellen mit hellen Kernen (*n*). Die zwischen ihnen angeordneten Elemente des Bindegewebes (*b*), die Fibroblasten und die amöboiden Polyblasten (*e*), bilden eine Art Stroma. Auf der freien, dem verflüssigten Bezirke (*L*) anliegenden

Oberfläche des Explantats sammelt sich das wuchernde Epithel, wie schon oben erwähnt, in dicken Polstern an (*p*).

Die wichtigste Tatsache jedoch, die uns besondere Veranlassung gibt, die vom Milchdrüsengewebe *in vitro* durchgemachten Verwandlungen einem regelrechten carcinomatösen Prozeß an die Seite zu stellen, ist das Verhalten des Epithels der Gänge dem alten, faserigen Bindegewebe des explantierten Keimstückes gegenüber. Das hypertrophische wuchernde Epithel wächst nicht nur aus den eröffneten Enden der Gänge in das neue Bindegewebe hinein, um dort in der beschriebenen Weise

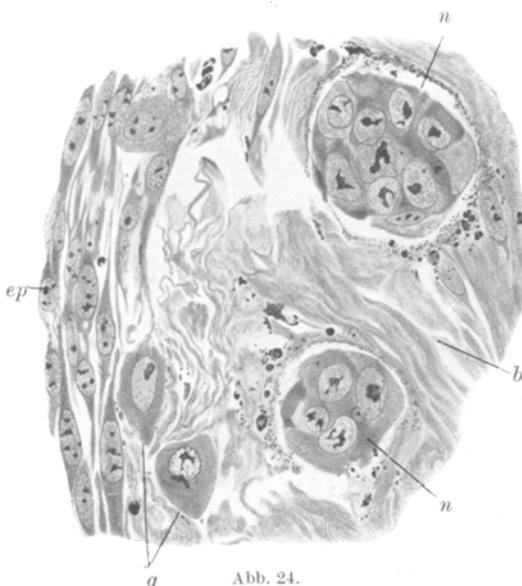


Abb. 24.

Zellnest zu bilden, sondern es dringt auch in das alte, derbe, fibröse, die Gänge umhüllende Bindegewebe im Explantat selbst hinein, besonders an den Stellen, wo die zusammenfal-

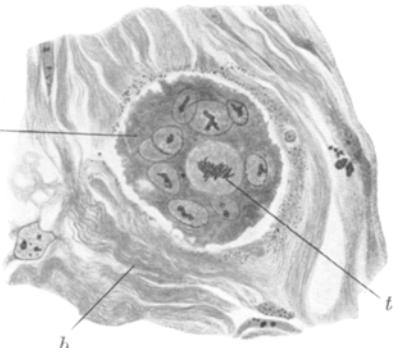


Abb. 25.

Abb. 24 und 25. Drüse von einem trächtigen Tier; Kultur von 6 Tagen (1 Transplantation). Das in seiner Struktur und Anordnung vollkommen atypisch verwandelte Epithel eines Ganges (*ep*) dringt in das darunterliegende dichte Bindegewebe (*b*) in Form von einzelnen großen Zellen (*g*) ein; durch weitere Wucherung der letzteren (*t*) entstehen krebsähnliche Zellnest (*n*). Zeichnung, Vergr. wie in Abb. 13.

lenden Wände der Gänge tief ins Bindegewebe hineinreichende Falten bilden, oder wo das Epithel die äußere Oberfläche des Explantats bekleidet. In solchen Stellen (Abb. 24 *g*) sieht man an Eosinazur-Präparaten, wie sich große, mitotisch wuchernde Zellen mit dunkelblauem Protoplasma und mit ebenfalls sehr großen, hellen Kernen von der Epithelschicht (*ep*) einzeln oder in kleinen Gruppen loslösen und tief zwischen die rosa-farbenen, welligen Kollagenbündel (*b*) eindringen. Auf die beschriebene Weise wird das dichte interstitielle Bindegewebe des Explantates von großen, oft riesigen isolierten amöboiden Epithelzellen oder von kompakten runden Gruppen solcher Gebilde durchsetzt — das typische Bild von carcinomatösen Zellnestern (Abb. 24 und 25 *n*).

In einigen meiner Versuche explantierte ich zusammen mit der Milchdrüse auch Stückchen vom Corpus luteum. Die Parenchymzellen des letzteren, die Luteinzellen, verfallen dabei fast stets der Degeneration, während das bindegewebige Stroma und das Capillarendothel am Leben bleiben können. Die wuchernden Gangepithelien des anliegenden Drüsenstückchens drangen nun tief in das Corpus-luteum-Gewebe ein und infiltrierten die Räume zwischen den toten Luteinzellen (Abb. 26).

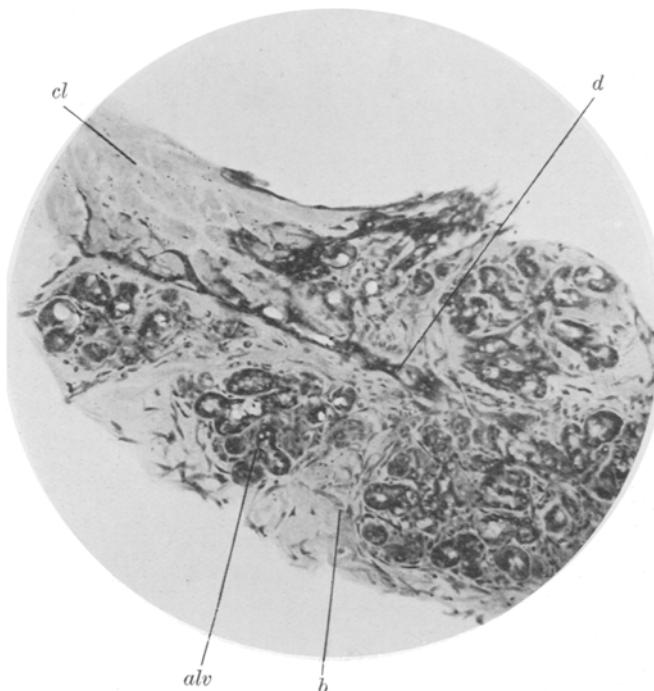


Abb. 26. Ruhende Drüse, explantiert zusammen mit einem Stück Corpus luteum; Kultur von 3 Tagen. Das Epithel des Ganges (*d*) wächst in das nekrotische Gewebe des Corpus luteum (*cl*) hinein; *alv* = Alveolengruppen; *b* = interstitielles Bindegewebe. Mikrophotographie. Vergr. 110.

Durch Zufall war ferner einmal ein kleines Stück quergestreiftes Muskelgewebe zusammen mit dem Mammagewebe in die Kultur gelangt. Nach 10 Tagen (während dieser Zeit wurde zweimal in frisches Nährmedium umgebettet) erschienen die Muskelfasern tot, als zylindrische, blassen, homogene Gebilde. Das anliegende Milchdrüsenstück enthielt viele an der Oberfläche klaffende Gänge. Aus den letzteren sah man nun Züge großer, basophiler Epithelzellen tief zwischen die degenerierten Muskelfasern eindringen.

12. Späte Stadien.

Der Vorgang der „atypischen“ Entwicklung des Epithels kann in verschiedenen Einzelkulturen verschiedene Grade erreichen.

Die Veränderungen im Epithel, die, wie wir gesehen haben, am 3. oder 4. Tage an den eröffneten Enden der Gänge beginnen, breiten sich allmählich auch auf die anderen, tiefen Teile der Gänge aus und können nach 6 und mehr Tagen sogar auf die Alveolen übergreifen; letzteres geschieht besonders in Fällen, wo die Drüse einem Tiere in der ersten Trächtigkeitshälfte entstammt. Die Zellen der Alveolen, die drüsigen sowohl wie die myoepithelialen, verwandeln sich dann sämtlich in große, basophile, wuchernde Elemente. Das umgebende Bindegewebe wird jedoch von ihnen nicht durchsetzt.

In meinen ältesten Brustdrüsenkulturen erwies sich das Explantat in einigen seltenen Fällen auf einem großen Teil seiner Oberfläche mit atypischem hypertrophischem Epithel bedeckt. Zahlreiche kugelige Zellen lösten sich ab und flottierten frei im verflüssigten Fibrin. Andere sah man in das darunterliegende Bindegewebe eindringen. In den meisten Fällen breitet sich jedoch nach 10—15 Tagen das Explantat mit seinem peripheren wachsenden Bindegewebskranz über eine bedeutende Fläche aus, und seine Zellen zeigen noch immer fortgesetztes Wachstum und Entwicklung und enthalten zahlreiche Mitosen. Das neue und das alte Bindegewebe können beide zahlreiche krebsähnliche Epithelzellennester enthalten. Verflüssigte, von Bindegewebe freie Lücken von verschiedener Größe sind meistens vorhanden, und in ihrem Bereich sieht man noch immer zahllose wuchernde atypische Epithelien zerstreut, in Form einzelner Zellen, lockerer Gruppen oder kompakter Epithelkörper mit verhornten Perlen.

Es ist merkwürdig, daß in einigen älteren Kulturen, wo kein histiotypisches Wachstum des Bindegewebes zu vermerken war und das Explantat scharf umschrieben blieb, das alte Bindegewebe teilweise oder vollständig nekrotisch vorgefunden wurde, während das Epithel der Gänge und der Alveolen vollkommen lebenskräftig blieb und seine stark hypertrophischen, atypischen Zellen noch zahlreiche Mitosen enthielten (Abb. 27). An vielen Stellen sah man diese Epithelzellen in das nekrotische Gewebe einwuchern.

Die Verhältnisse in meinem Laboratorium machen es mir nicht möglich, reine Zellstämme zu isolieren und während einer langen Zeitperiode weiterzuzüchten; dies ist der Grund, weshalb ich es nicht versucht habe, Reinkulturen der beschriebenen krebsähnlichen Epithelzellen anzulegen.

13. *Schluss.*

Die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Verwandlungen der Milchdrüse in Gewebskulturen bieten histologisch das Bild des carcinomatösen Prozesses dar. Ohne Kenntnis ihres Ursprungs, nach dem mikroskopischen Aussehen allein, könnten viele von diesen Kulturen sehr wohl als Brustdrüsencarzinom diagnostiziert werden. Das Epithel

in den Gängen verändert sich von Grund aus; es erleidet außerordentliche und ungleichmäßige Hypertrophie, zeigt starke Wucherung mit mehrpoligen Mitosen und Amitosen, und seine normalen Beziehungen zum interstitiellen Bindegewebe werden vollständig aufgehoben.

Es ist wohl wahr, daß in Gewebskulturen überhaupt, sobald sich die Zellen von den regulatorischen Einflüssen des Organismus als Ganzen befreien, atypische, anarchistische Entwicklung einsetzt und vollentwickelte Zellen, die sich nie geteilt hätten, falls sie im Körper geblieben wären, mitotische Teilungen und histiotypisches Wachstum offenbaren.

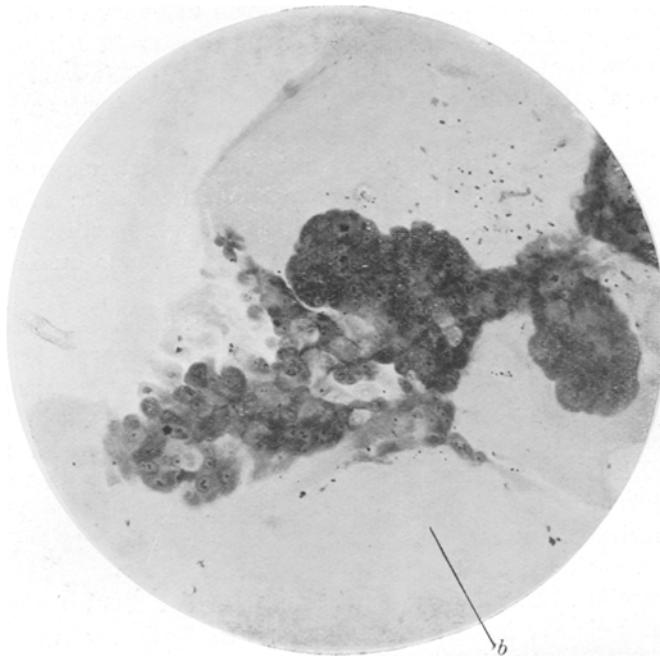


Abb. 27. Ruhende Drüse; Kultur von 6 Tagen (1 Transplantation). Hypertrophisches wucherndes Epithel eines eröffneten Ganges, umgeben von nekrotischem Bindegewebe (b). Mikrophotographie. Vergr. 200.

Im Spezialfall des Epithels tritt bekanntlich als Regel Bildung von ins Nährmedium vordringenden Membranen oder Zellschichten zutage. Je nach dem Wechsel der äußeren Daseinsbedingungen können diese Epithelschichten nachträglich verschiedene weitere Verwandlungen durchmachen und sich eventuell in einzelne polymorphe Zellen auflösen [*Chlopin*¹¹].

In meinem Falle geschieht indessen mehr als gewöhnliches, anarchistisches, histiotypisches Wachstum — die Zellen zeigen nicht nur Wucherung und Veränderung von Form und Lage, sondern sie erleiden zweifellos auch tiefe Veränderungen ihrer inneren biologischen Eigenschaften

— sie zeigen übermäßige Schwankungen ihres Umfanges und zum Teil außerordentliche Hypertrophie. Was jedoch das Wichtigste ist, weil es anatomisch das hauptsächlichste Merkmal der krebsartigen Verwandlung vorstellt, ist das infiltrative Wachstum. Die Epithelzellen zerstreuen sich nicht nur im neugebildeten peripheren Bindegewebssauum, in Form von kompakten Zellnestern mit Hornperlen, sondern sie dringen in das darunterliegende, alte, dichte Bindegewebe des Explantats selbst ein und bilden hier ebenfalls typische carcinomähnliche Zellnester, so daß Bilder entstehen, die dem gewöhnlichen Plattenepithelkrebs sehr ähnlich aussehen.

Der beschriebene Vorgang *in vitro* braucht nicht immer die letzten Entwicklungsstadien zu erreichen. Oft findet man in Kulturen das Epithel der Gänge in einem Zustande vor, welcher sehr wohl mit den sogenannten „präcarcinomatösen“ Veränderungen verglichen werden kann.

Das Gangepithel der Mamma scheint allen Veränderungen des umgebenden Mediums gegenüber sehr empfindlich zu sein; es reagiert prompt auf verschiedene Reize in mehr oder weniger spezifischer Weise. Die krebsähnliche Verwandlung in Gewebskulturen muß die Folge der Wirkung dreier Faktoren sein.

Der erste Faktor ist die mechanische Prozedur des Herausschneidens des Gewebsstückchens; er mag zum Teil, beim Durchtrennen der Gänge, als unmittelbarer traumatischer Reiz auf das Epithel einwirken; zum Teil läuft er vielleicht auf die Ausschließung der normalen regelnden und hemmenden Einflüsse von seiten der umgebenden Teile im Körper hinaus. Die Verwandlungen des Epithels beginnen, wie wir gesehen haben, stets an den offenen Enden der Gänge (Abb. 1 und 5) und breiten sich allmählich weiter ins Innere der Gänge aus, bis sie in einigen Fällen schließlich auch auf die Alveolen übergreifen.

Der zweite Faktor ist der unmittelbar auf das Epithel ausgeübte chemische Reiz der im Knochenmarkextrakt enthaltenen Substanzen. Selbstverständlich ist die Wirkung des Extraktes nicht spezifisch. Ähnliche Erscheinungen konnte ich manchmal auch in Kulturen finden, die mit anderen Medien, z. B. mit einer Mischung von Plasma und Embryonalextrakt angelegt wurden. Indessen entwickelten sie sich in solchen Fällen doch nur in späteren Stadien und waren außerdem schwächer ausgeprägt. Es ist schwierig, zu entscheiden, wie sich das Milchdrüsengewebe bei verlängerter Kultivierung außerhalb des Körpers unter dem Einfluß verschiedener Gewebeextrakte verhalten würde. Während der uns jetzt interessierenden Stadien bewirkte das Knochenmarkextrakt stets eine stärkere Wucherung als das Embryonalextrakt, besonders im Epithel. Jedenfalls gibt das aus Blutplasma und Knochenmarkextrakt bestehende Medium, was die krebsähnliche Verwandlung betrifft, stets positive Resultate; seine Wirkung schwankt in den verschiedenen

Kulturreihen nur dem Grade nach. In Fällen, wo Mischungen verschiedener Gewebsextrakte, z. B. Corpus-luteum-Extrakt mit Markextrakt verwendet wurden, schien der Einfluß des letzteren stets vorzuherrschen.

Es ist wichtig, daß die krebsähnlichen Verwandlungen des Epithels und vor allem sein infiltratives Wachstum in meinen Gewebskulturen nicht durch den Organismus fremde Substanzen hervorgerufen wurden, wie es z. B. bei experimentellem Teercarcinom oder in *Fibigers* Versuchen mit durch Infektion mit Parasiten verursachtem Krebs der Fall ist, sondern durch eine Mischung von dem normalen Organismus selbst entnommenen Substanzen.

Der dritte Faktor sind die Eigenschaften der Milchdrüse selbst vor der Explantation. Wie oben bereits erwähnt, spielt vor allem der jeweilige funktionelle Zustand, in dem sich das Organ zur Zeit der Explantation befindet, eine wichtige Rolle. Andererseits müssen aber auch vererbte individuelle und Rassenbesonderheiten des betreffenden Tieres mitspielen. Die Fähigkeit für Hypertrophie, plötzlich einsetzende starke Wucherung, Verhornung und Perlenbildung scheint beim Kaninchen mehr oder weniger allen epidermalen Derivaten überhaupt eigen zu sein. So sah ich z. B. ähnliche Vorgänge sich manchmal auch in Kulturen der Haut älterer Kaninchenembryonen abspielen. Doch wechselt die Leichtigkeit, mit welcher diese verborgene Fähigkeit ausgelöst wird, ganz bedeutend.

Die, wenn man sie so nennen darf, carcinomatösen Veränderungen des Epithels in den Explantaten der Mamma nehmen ihren Ausgang keineswegs von einer einzigen Zelle und nicht einmal von einem bestimmten Bezirk eines Ganges. Sie tauchen stets polyzentrisch auf und entstehen gleichzeitig an verschiedenen Stellen, obzwar sie durchaus nicht notwendigerweise in allen Gängen einer gegebenen Kultur vorhanden zu sein brauchen. Dies entspricht genau den Ergebnissen von *Yamagiva* und *Marayama*¹⁵⁾, die vor kurzem beim Kaninchen durch Einspritzungen von Teer und Lanolin ins Gewebe Mamma-carcinom hervorzurufen suchten.

Alle Zellen im Epithel der Ausführungsgänge sind gleicherweise fähig, unter dem Einfluß von bestimmten äußeren Reizen carcinomähnliche Verwandlung zu erleiden. Es erscheint überflüssig, das Vorhandensein von besonderen embryonalen Keimen vorauszusetzen.

Es konnten keine bestimmten Beziehungen zwischen dem interstitiellen Bindegewebe und dem Epithel festgestellt werden. Manchmal kann, wie wir gesehen haben, hypertrophisches, wucherndes, krebsähnliches Epithel in vollständig nekrotischem Bindegewebe ohne eine Spur von Zellen eingebettet gefunden werden (Abb. 12 und 27 b). In anderen Fällen, wo das Bindegewebe tot erschien, blieb das Epithel am Leben, verhielt sich aber vollkommen passiv und kleidete cystische Höhlen von

verschiedener Form und Größe aus. In den meisten Fällen, wo reichliche krebsähnliche Wucherung des Epithels stattfand, offenbarte auch das Bindegewebe hervorragende Lebenskraft (Abb. 7). Es gelingt nicht, im Bindegewebe Veränderungen festzustellen, die wenigstens zum Teil für das infiltrative Wachstum des Epithels verantwortlich gemacht werden könnten. Die kausalen Faktoren, von welcher Art sie auch sein mögen, scheinen folglich unmittelbar auf das Epithel einzuwirken.

Wenn die in dieser Abhandlung beschriebenen Erscheinungen wirklich mit echtem Krebs verglichen werden können, muß ihre Deutung zugunsten der sogenannten Reiztheorie des Carcinoms ausfallen.

Die Frage, ob die veränderten Epithelzellen, die das infiltrative Wachstum in Gewebskulturen zeigen, tatsächlich in irreversibler Weise verändert sind und echte Krebszellen vorstellen, die keinen fortgesetzten Reiz mehr brauchen, um ihre neuen Eigenschaften beizubehalten, schrankenlos weiter zu wuchern und andere Gewebe zu infiltrieren, könnte nur durch Experimente mit Rückverpflanzung der Kulturen in lebende Tiere beantwortet werden.

Reinkulturen solcher Zellen — vorausgesetzt, daß solche gelingen — und ihr Weiterzüchten in lebendem und wucherndem Zustande außerhalb des Körpers während einer unbeschränkten Zeitperiode würden dazu nicht genügen. Wir wissen ja, daß schon normale, dem Embryo oder sogar dem erwachsenen Organismus entnommene Zellen sehr wohl befähigt sind, außerhalb des Organismus unbeschränkt lange zu leben, und dabei eine scheinbar unbegrenzte Wachstums- und Vermehrungsenergie entfalten. Sie brauchen dabei keineswegs die Eigenschaften bösartiger Gewächszellen zu erwerben.

Experimente mit Reimplantation der krebsähnlichen Gewebskulturen in Tiere könnten aber die Frage auch nur im Falle eines positiven Ergebnisses, nicht im Falle eines negativen erledigen. Die Verimpfung spontan entstandener Gewächse bei Tieren auf andere Tiere derselben Art ist ja bekanntlich keineswegs immer erfolgreich. Wenn also die Reimplantation einer krebsähnlichen Kultur kein echtes malignes Blastom erzeugen sollte, so könnte dies eventuell bloß von der Immunität des betreffenden Tieres, von der Unzulänglichkeit seiner Gewebe zum Gedeihen des Implantates abhängen. Es ist wohl allgemein anerkannt, daß der Krebs nicht bloß als lokale krankhafte Erscheinung, sondern als Teilsymptom einer allgemeinen krankhaften Veränderung des Organismus anzusehen ist.

Literaturverzeichnis.

- ¹⁾ Maximow, A., Arch. f. mikroskop. Anat. **96**, 494. 1922. — ²⁾ Maximow, A., Arch. f. mikroskop. Anat. **97**, 283. 1923. — ³⁾ Maximow, A., Arch. f. mikroskop. Anat. **97**, 314. 1923. — ⁴⁾ Maximow, A., Journ. of infect. dis. **34**, 549. 1924. —

- ⁵⁾ *Maximow, A.*, Contributions to Embryology, Carnegie Inst., **16**, 47. 1925. — ⁶⁾ *Maximow, A.*, Zeitschr. f. wiss. Mikroskopie **26**, 177. 1909. — ⁷⁾ *Maximow, A.*, Arch. russes d'Anat., d'Histol. et d'Embryol. **1**, 105. 1916. — ⁸⁾ *Drew, A. H.*, Report on the investigations of the Imp. Cancer Research Fund **8**, 47. 1823. — ⁹⁾ *Peyron, A.*, Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. **90**, 1275. 1923. — ¹⁰⁾ *Chlopin, N.*, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **243**, 373. 1923. — ¹¹⁾ *Chlopin, N.*, Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **252**, 748. 1924. — ¹²⁾ *Mjassojedoff, S.*, Arch. f. mikroskop. Anat. u. Entwicklungsmech. **104**, 1. 1925. — ¹³⁾ *Goodrich, H. E.*, Biol. bull. of the marine biol. laborat. **46**, 252. 1924. — ¹⁴⁾ *Da Fano, C.*, Report on the investigations of the Imp. Cancer Research Fund **7**, 67. 1921. — ¹⁵⁾ *Yamagiva, K.*, and *K. Marayama*, Journ. of Cancer Research **8**, 119. 1924.
-