

(Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten, Hamburg¹.
Direktor: Obermedizinalrat Prof. Dr. Nocht.)

Die Züchtung von menschlichem Chorioneipithel in vitro. Ein Beitrag zur Lehre vom Chorioneipitheliom.

Von
Ernst A. H. Friedheim,
Institut Pasteur, Paris.

Mit 19 Textabbildungen.

(Eingegangen am 15. Oktober 1928.)

Einleitung.

Seit *Marchand* werden gewisse epitheliale Geschwülste vom primären fetalen Ektoderm einer Placenta oder eines embryonalen Teratoms abgeleitet und als Chorioneipitheliom bezeichnet. Die Begründung dieser Lehre beruht auf weitgehenden morphologischen Analogien, die sich beim Vergleich der histologischen Bilder der Gewächse einerseits, der fetalen Placenta andererseits ergeben. Diese Analogieschlüsse sind so überzeugend, nicht mehr und nicht weniger, wie überhaupt die Erklärung eines verwickelten Vorganges durch einzelne Zustandsbilder zu überzeugen vermag. Zu welch vollständig entgegengesetzten Ansichten aber verschiedene Auslegungen derselben Zustandsbilder führen können, zeigen die älteren Theorien von *v. Recklinghausen*, *H. Albrecht*, *Sternberg* und neuerdings wieder von *Bostroem*, die nicht nur die teratogenen Chorioneipitheliome, sondern auch die syncytialen und epithelialen Bestandteile der Placenta von dem Mesenchym des Trägers, bezüglich der Mutter ableiten. Eine wesentliche Stütze dieser Auffassung ist das noch viele Monate nach einer Geburt zu beobachtende Vorkommen chorialer Zellen, entfernt von der Placenta, in der Tiefe des Myometriums, wo eine Verschleppung durch Blut oder Lymphe nicht wahrscheinlich ist. Die heute vorherrschende Lehre muß zur Erklärung dieser Gebilde eine selbständige Zellbewegung annehmen, wie in der Bezeichnung der „chorialen Wanderzellen“ zum Ausdruck kommt. Die Gegner der *Marchandschen* Lehre betonen das Unbewiesene dieser Hilfsannahme, um die Entstehung dieser chorialen Gebilde aus dem mütterlichen Gewebe zu behaupten.

¹ Herrn Prof. *W. Reichenow*, auf dessen Abteilung die Arbeit ausgeführt wurde, sei auch an dieser Stelle für sein gütiges Entgegenkommen ergebenst gedankt.

An der Lösung dieser Streitfrage ist praktisch die gerichtliche Medizin interessiert, um den Wert des Befundes chorialer Wanderzellen für die nachträgliche Schwangerschaftsdiagnose festzulegen. Bilden doch die chorialen Wanderzellen oft den einzigen morphologisch faßbaren Tatbestand.

Eine Klärung dieser Fragen ist nur von Arbeitsmethoden zu erwarten, die nicht auf Zustandsbildern aufgebaut sind und es schien daher angebracht, die Methoden der Gewebezüchtung auf das Studium des menschlichen Chorioneipithels anzuwenden.

Nach dem mir zugänglichen Schrifttum liegen bisher nur zwei negative und zwei positive Versuche dieser Art vor: *Zondek* und *Wolff* konnten bei der Auspflanzung von 8 Monate alter menschlicher Placenta in der *Kuczinskyschen* Mischung keine Zellvermehrung beobachten. Auch *Neumann* sah bei ähnlichem Material kein Wachstum. Demgegenüber gelang es *Guggisberg* als erstem, aus 3—5 Monate alten Placenten sowohl Fibroblasten- als auch Epithelwachstum in der Kultur zu erzielen. (Nährboden: Menschen-, Kaninchenplasma, rein oder verdünnt mit Agarzusatz. Menschenplasma mit Menschen-Embryonal-extrakt. Beste Ergebnisse in reinem Menschenplasma.) Die Kulturen wurden 8 Tage lang beobachtet. Eine Umsetzung erfolgte nicht. Das Epithelwachstum war konzentrisch mit vielgestaltiger Peripherie. Die ausgewachsenen Epithelien wurden aus morphologischen Gründen von der *Langhansschen* Schicht abgeleitet. Ein Auswachsen des Syncytiums kam nicht zur Beobachtung. Bald darauf konnten aber *Meyer* und *Heims* zeigen, daß bei 5—6 Wochen alten Früchten aus Eileiterschwangerschaften das Syncytium nicht unverändert bleibt, sondern ausspreißen kann. Über Erscheinungen am Mesenchym wird nichts berichtet. Ein Epithelwachstum scheint auf dieselbe Art wie in den *Guggisberg*-schen Präparaten erfolgt zu sein. Über die Herkunft der Zellen, die als epithelial angesprochen werden, glauben die Verfasser keine bindenden Angaben machen zu können. Die Abstammung von den *Langhansschen* Zellen scheint wahrscheinlich. Die Beobachtung erstreckte sich über 5 Tage.

Eigene Versuche.

Für unsere Versuche¹ stand uns ein ähnliches Material zur Verfügung, wie *Meyer* und *Heims*: Das Operationspräparat einer etwa 5 Wochen alten Eileiterschwangerschaft, aus dem ohne Schwierigkeiten eine Anzahl feinster Zotten herauspräpariert werden konnten. Schnittpräparate zeigen, daß es sich um frühfetale Chorionzotten handelt: Ein gefäßloses Zentrum embryonalen Bindegewebes von einer doppel-

¹ Siehe die vorläufige Mitteilung C. r. Soc. Biol. **98**, 123 (1928).

ten Schicht *Langhansscher* Zellen und Syncytien bedeckt (Abb. 1). Dieses Material wurde in Ringer gewaschen und auf die Oberfläche hängender Tropfen eines Gemisches zu gleichen Teilen von Menschenplasma und Hühnerembryonalextrakt ausgepflanzt. Ein Zusatz von Hühnerplasma erwies sich als nicht vorteilhaft. Die Präparate wurden bei $37,5^{\circ}$ belassen.

Nach 24 Stunden sind aus dem Explantate breite, fingerförmige oder noch plumpe, kolbenförmige Gebilde hervorgesprossen, die im lebenden Präparat ein durchsichtiges Protoplasma und darin locker verteilt, eine Menge runder, gleichmäßiger, stark lichtbrechender Körnchen aufweisen (Abb. 2 u. 3). Dieselben

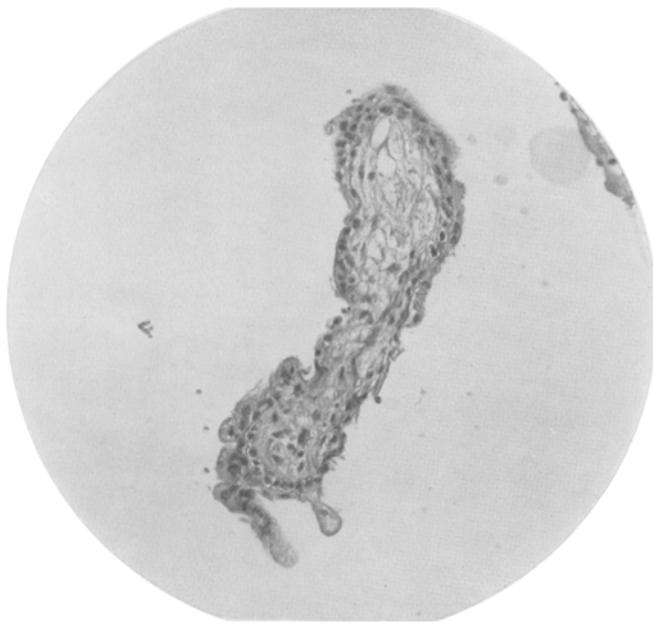


Abb. 1. Histologisches Bild des ausgepflanzten Gewebes. Gefäßlose Chorionzotte mit Langhansscher Zellschicht, Syncytium und Syncytiumknospe. Vergr. 150mal.

Granula finden sich dichtgedrängt an der ganzen Oberfläche der ausgepflanzten Zotten. Diese Ausläufer zeigen ihrerseits feine, sekundäre Protoplasmafortsätze, die entweder kurz mit breiter Grundfläche aufsitzen oder lang ausgezogen sein können und dann öfters mit einer knopfartigen Aufreibung enden, aus der sich allerfeinste tertiäre Protoplasmastrahlen in das Medium verlieren¹. Im fixierten und gefärbten Ganzpräparat (Sublimatalkohol, Hamätoxylin Böhme oder Heidenhain) bestätigt sich die Vermutung, daß es sich um syncytiale Bildungen handelt, die in vergrößertem Maßstabe den kurzen syncytialen Fortsätzen zu entsprechen scheinen, die in Schnittpräparaten an einzelnen Zotten zu beobachten sind. In dem äußerst feinwabigen Zelleib, in dem gröbere Körnelungen nicht mehr zu erkennen sind, liegen bis zu 100 ellipsoide, dunkle, pyknotische Kerne, meist

¹ Diese Pseudopodienform erinnert lebhaft an die Filopodien der Polythalamien, wie sie *M. Schultze* z. B. für *Miliola* beschreibt.

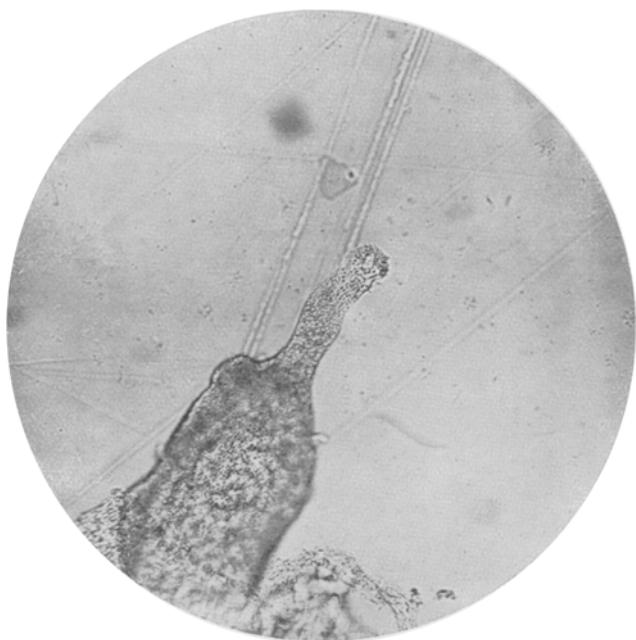


Abb. 2. 24stündige lebende Kultur. Syncytialer Ausläufer. Vergr. 190 mal.

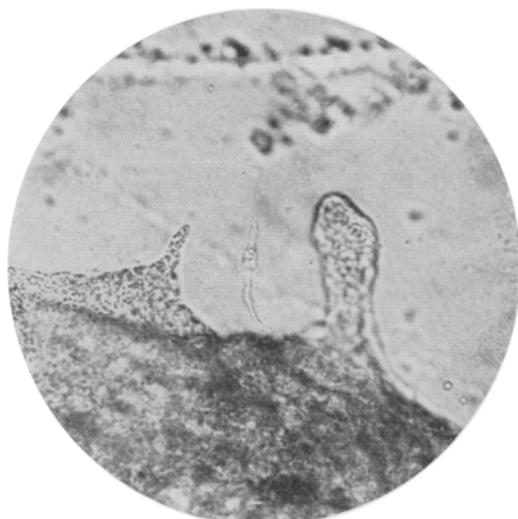


Abb. 3. Wie Abb. 2. Vergr. 330 mal.

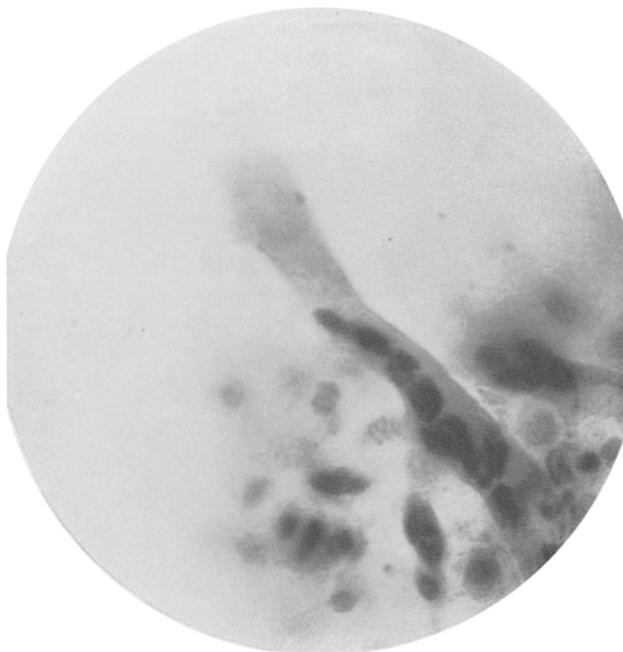


Abb. 4. 24 stündige Kultur. Fixiertes und gefärbtes Ganzpräparat. Syncytialer Ausläufe
Kernfreies Protoplasmagebiet. Vergr. 460 mal.

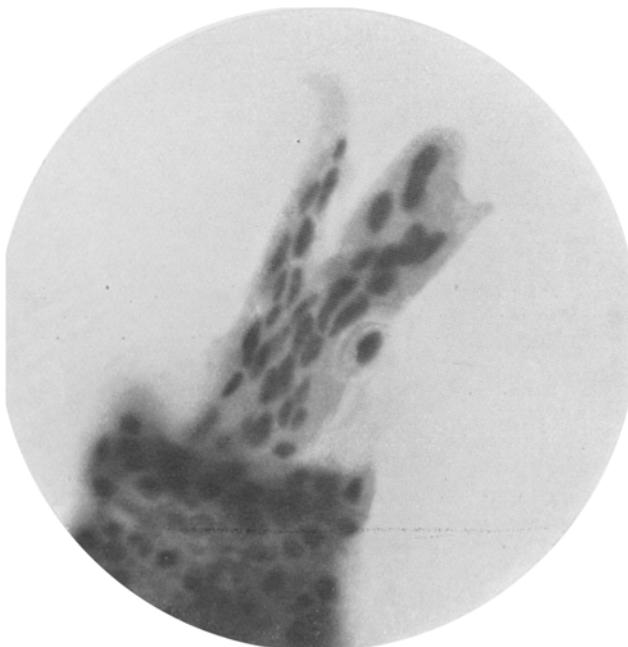


Abb. 5. 24stündige Kultur nach Fixation und Färbung. Totalpräparat. Syncytialer Ausläufer.
Ein Kern grenzt sich mit einem Plasmasaum vom Verband ab. Vergr. 460 mal.

fischzugartig angeordnet, die lange Achse parallel zur größten Ausdehnung des Ausläufers. Die Kerne liegen gedrängt an dessen Grundfläche, spärlicher am Rande, wo größere Protoplasmabezirke ganz kernfrei sein können. Es scheint, als ob das Protoplasma hier in so dünner Schicht ausgestreckt ist, daß die umfangreichen Kerne darin nicht Platz finden (Abb. 4). Im Dauerpräparat sind die sekundären oder gar tertiären Ausläufer bedeutend weniger gut zu erkennen als im frischen Zustand. In einem Präparat erscheint am Rande eines plasmodialen Ausläufers um einen Kern ein schmaler Protoplasmabezirk abgegrenzt, so daß die Möglichkeit in Betracht zu ziehen ist, daß sich einzelne Individuen der pyknotischen Kerne mitsamt der von ihnen beeinflußten Protoplasmasphäre aus dem syncytialen Verbande lösen können, was auch *R. Meyer* in der Placenta für

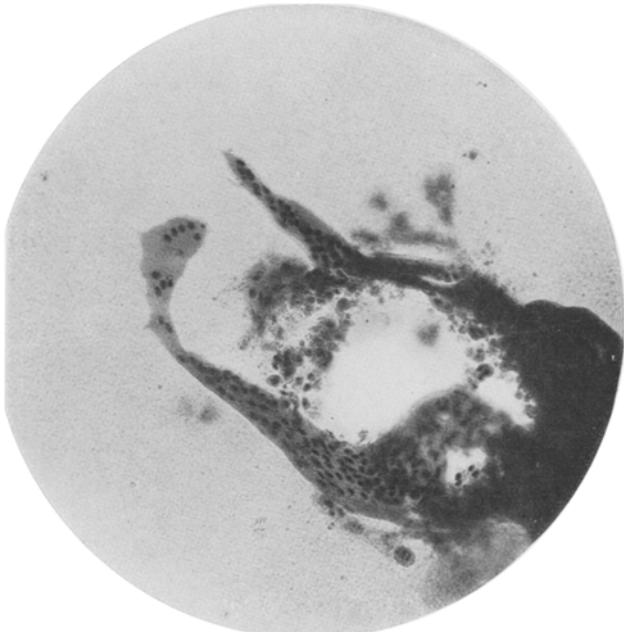


Abb. 6. 48 stündige Kultur. Fixiertes und gefärbtes Totalpräparat. Neben großem Syncytium kleinere syncytiale Schollen. Dazwischen Langhans-Zellen, die das Medium verflüssigt haben. Im Bereich der Syncytien keine Verflüssigung. Vergr. 74 mal.

nicht selten hält (Abb. 5). Isolierte riesenzellartige Gebilde in der Nähe der großen syncytialen Ausläufer, die in wenig feinwabigem Zelleib einen oder mehrere der beschriebenen pyknotischen, dem Syncytium eigenen Kerne enthalten, sprechen vielleicht dafür, daß sich auch größere Schollen wieder selbstständig machen können (Abb. 6). Für diese Gebilde ist aber außerdem eine unmittelbare Abstammung von Langhansschen Zellen in Betracht zu ziehen, wie weiter unten besprochen werden soll. Sicher können kernfreie Protoplasmastücke abgeschnürt werden: An der Peripherie eines 24stündigen Explantates wurde mit starkem Trockensystem ein hyalines, vollständig homogenes Protoplasmagebilde beobachtet, das, an Ort und Stelle sich lebhaft bewegend, so schnell seine Form veränderte, daß mit Zeichnen kaum nachzukommen war. Nach 8 Stunden hatte die Bewegung aufgehört. Auch im fixierten und gefärbten Präparat sind einzelne

Gebilde als kernlose Protoplasmamassen anzusprechen, doch ist hier ein Irrtum nicht auszuschließen (Abb. 7). Damit ist auch für das menschliche Protoplasma die bei Pflanzen und Protisten bekannte Unabhängigkeit gewisser Lebenserscheinungen, die Bewegungsfähigkeit, von der Kernfunktion bestätigt (*Klebs, Verworn, O. und G. Hertwig*).

Gleichzeitig mit diesen Vorgängen am Syncytium ist zu beobachten, wie an der Peripherie des Explantates, selten einzeln, meist gruppenweise, aber immer unabhängig voneinander, große rundliche oder eiförmige Zellen auftreten. Die Peripherie ihres Protoplasma ist von groben, stark lichtbrechenden, zum größten Teil alkoholunlöslichen Körnern erfüllt, die im Zentrum eine rundliche Zone für

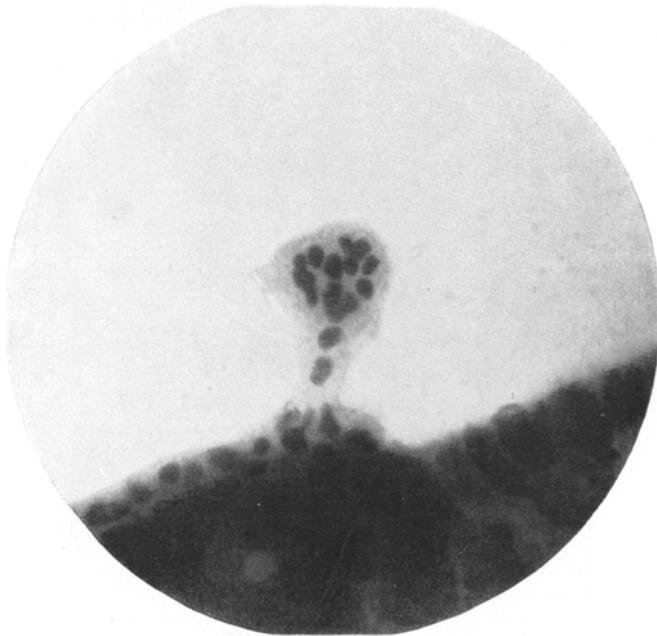


Abb. 7. 24 stündige Kultur. Fixiertes und gefärbtes Totalpräparat. Kernfreier Protoplasmafortsatz nur inlosem Zusammenhange mit kolbenförmigem, syncytialem Ausläufer. Vergr. 460 mal.

den Kern ausgespart lassen. Der Rand ist selten ganz scharf und nur dann, wenn diese Zellen ringsum von ihresgleichen eng umschlossen sind. Grenzen diese Zellen aber nur mit einem Teil an das freie Medium, so werden hier einzelne, verhältnismäßig plumpe Protoplasmabestände ausgestreckt (Abb. 8). Liegt eine solche Zelle freier, so trägt sie, wie einen Strahlenkranz, eine Unmenge feinster, strahlig gerichteter Fortsätze, deren Länge das Doppelte des Zelldurchmessers erreichen kann (Abb. 9). Andere isoliert liegende Zellen zeigen eine ganz unregelmäßig ausgezogene Gestalt mit einzelnen größeren, zentrifugal gerichteten Pseudopodien, die oft am Ende knopfartig aufgetrieben und hier noch in feinste Ausläufer aufgespalten sind. In (alkohol-) fixiertem und gefärbtem Präparat sind die Protoplasmagranula zum größten Teil noch erhalten. Der große bläschenförmige Kern zeigt ein oft recht grobknotiges Chromatinnetz und 1—2 große Nucleolen (Abb. 10). Er unterscheidet sich also deutlich von den nicht halb so großen, pyknotischen Kernen des Syncytiums. Zellen, die mit Sicherheit von dem embryonalen Binde-

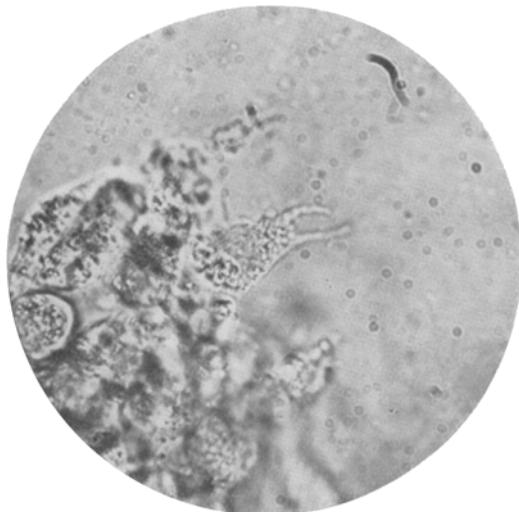


Abb. 8. 48stündige lebende Kultur. Langhans-Zellen mit plumpen Pseudopodien. Vergr. 550 mal.

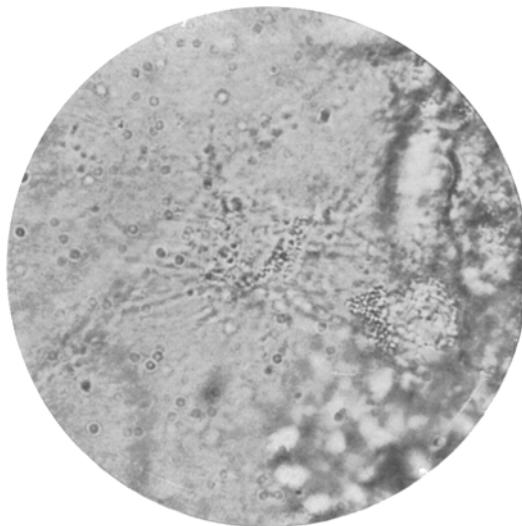


Abb. 9. 48stündige lebende Kultur. Einzelne Langhans-Zelle mit filiformen Pseudopodien. Vergr. 540 mal.

gewebe abzuleiten wären, sind nicht zu beobachten, obwohl einzelne schlanke Zellen mit mehreren spitzen Ausläufern an den Fibroblastentyp erinnern.

Zusammenfassend ist zu sagen: *Nach 24 Stunden sind in den Explantaten menschlicher Chorionzotten drei verschiedene und anscheinend voneinander unabhängige Erscheinungen zu beobachten, die sich an die drei morphologischen Bestandteile des Explantates anschließen*

1. Fibroblastenähnliche Zellen, äußerst spärlich.
2. Typische syncytiale Bildungen.
3. Gruppen isolierter Zellen, die epithelialer Natur zu sein scheinen und die vermutlich von der Langhansschen Schicht ausgehen.

Nach 48 Stunden haben sich die syncytialen Fortsätze in den meisten Präparaten wenig oder gar nicht verändert. Neue syncytiale Bildungen sind nicht entstanden; wenige haben sich weiter in die Länge gezogen, andere ihre sekundären Ausläufer eingeholt. Da die syncytialen Fortsätze nur unmittelbar nach der Auspflanzung gebildet wurden und auch in ihrer Ausdehnung sehr beschränkt sind, ohne jede Neigung zu weiterer Vergrößerung, da sie ferner weder Mitosen noch

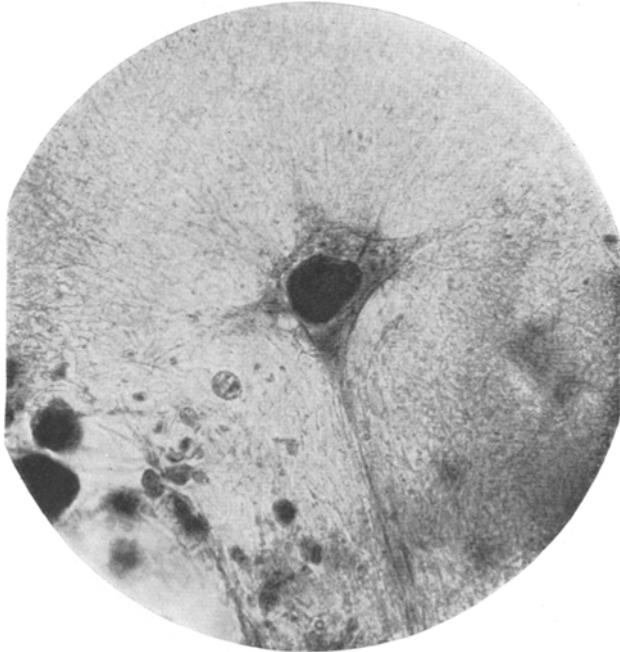


Abb. 10. Wie Abb. 9. Fixiertes und gefärbtes Totalpräparat. Vergr. 660mal.

Amitosen zeigen, so muß geschlossen werden, daß es sich nicht um ein echtes Wachstum, eine Kern- und Plasmavermehrung handelt, sondern um eine Verteilungsverschiebung, ein lokalisiertes Vorfließen des im Explantate mitgebrachten Syncytiums. Diese oberflächliche Ausbreitung von Protoplasma ist ja in Gewebskulturen eine häufig zu beobachtende Erscheinung und kommt gerade an der Peripherie der in Frage stehenden syncytialen Fortsätze, in den kernfreien dünnen Protoplasmazungen, deutlich zur Ansicht. Bekanntlich ist dieses „étalement“ (*Champy*) besonders hübsch in Kulturen von Retinapigmentepithel zu zeigen, wenn durch die Ausbreitung des Protoplasmas die einzelnen Pigmentteile voneinander abgerückt werden. Was *Meyer* und *Heims* in ihren Versuchen als „Ausssprossen“ des Syncytiums beschreiben, ist wohl derselbe Vorgang und von einem eigentlichen Wachstum streng zu scheiden. Auf Grund dieser Beobachtung muß auch *Teacher* widersprochen werden, der annimmt, daß das Syncytium sich selb-

ständig vermehren kann. Die *in vitro* auftretenden syncytialen Fortsätze gleichen durchaus den syncytialen Knospen, die in der Placenta und auch in unserem Material zu finden sind und deren Entstehung wir deshalb auch als passive Oberflächenerscheinung erklären möchten.

In einer Kultur ist zu sehen, wie ein langes, schmales syncytiales Band sich über eine Bucht des Explantates hinüberstreckt, um mit der Gegenseite in Verbindung zu treten (Abb. 11). Es findet sich als *in vitro* die alte Angabe (1870) von *Langhans* bestätigt, daß in dicken Schnitten zu finden ist, wie syncytiale Sprossen von einer Zotte auf die andere übergehen können, um so Verbindungen unter einzelnen Teilen der Placenta fetalis selbst herzustellen (angeführt nach *Grosser*). Solche syncytialen Verbindungen sollen eine Eigentümlichkeit gewisser Affenplacenten sein.



Abb. 11. Langer syncytialer Ausläufer verbindet 2 entfernte Stellen des Explantates.
Vergr. 160 mal.

Fibroblastenähnliche Zellen sind zu dieser Zeit nirgends mehr zu sehen: sie sind wohl von der rasch überhandnehmenden epithelialen (dritten) Zellgruppe überwuchert worden. Diese bildet in einzelnen Präparaten breite, in das Plasmagerinnsel sich vorschiebende Halbinseln, in anderen Kulturen umgibt sie schon in schmalem Gürtel das ganze Explantat. Während die peripheren Zellen, die durch die Nachbarbeziehung Plasmamedium-Zelle gekennzeichnet sind, die gleich zu beschreibende Vielgestaltigkeit aufweisen, kommt bei den Zellen im Innern der Wachstumszone, bei denen die Nachbarbeziehung Zelle-Zelle vorherrscht, der epitheliale Charakter immer mehr zum Ausdruck: Zelle

liegt an Zelle mit scharfer, vieleckiger Grenze. Damit kann durch Ausschluß der übrigen Möglichkeiten die Abstammung dieser Zellen, nicht mehr bloß mutmaßlich, sondern mit Sicherheit auf die Langhanssche Schicht zurückgeführt werden. Das embryonale Bindegewebe kommt nicht in Betracht. Das Syncytium hat seine Tätigkeit mit der Ausbreitung einiger Fortsätze erschöpft. Dort, wo das Auswachsen der fraglichen Epithelien in mehr oder weniger breiten Bändern erfolgt, besteht auch eine auffallende Ähnlichkeit dieser Gebilde mit den Zellsäulen, in denen die Langhansschen Zellen in der Placenta vom Ende der Haftzotten aus in das mütterliche Gewebe vordringen (Abb. 12).

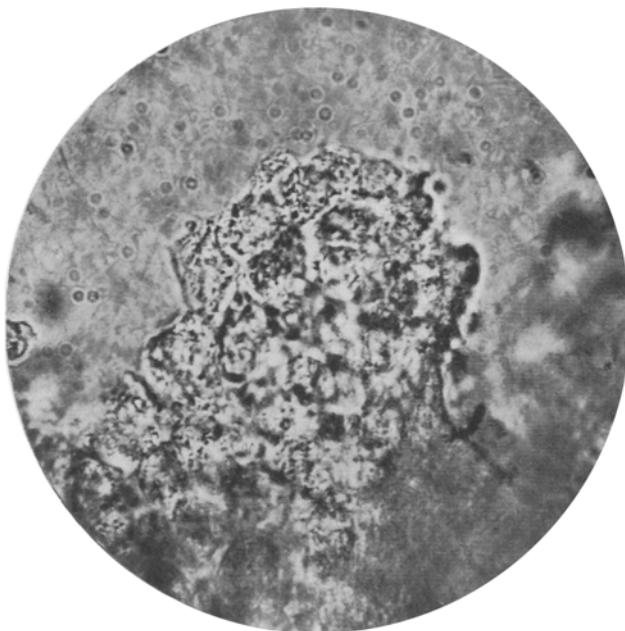


Abb. 12. 48stündige ebene Kultur. „Säule“ von Langhansschen Zellen. Mosaikstruktur.
Vergr. 630 mal.

Am 3. Tage wird diese Analogie in der Form des Wachstums noch deutlicher: An der Peripherie der nun schon recht stattlichen Epitheldecke (Abb. 13), d. h. dort, wo die eigentliche Pionierarbeit geleistet, das Medium erschlossen wird, ist das Zellgefüge aufgelockert. Die einzelnen Zellen zeigen bizarre verzogene Formen. Das Protoplasma lässt deutlich um ein granuliertes Endo- ein hyalines Ektoplasma erkennen, dessen gestreckte spitze Ausläufer frei in das Medium hinausragen, oder mit den Ektoplasmafortsätzen benachbarter Zellen zu einem zierlichen Maschenwerk verschmelzen (Abb. 14). Die Übereinstimmung mit den bekannten histologischen Bildern der Placentation ist schlagend. Man vergleiche eine entsprechende Beschreibung von Graf Spee: „An der Spitze der Haftzotten zeigen sich, ohne Syncytium und ohne Mesenchym Zellsäulen, die nur aus Cytotrophoblast (Langhansschen Zellen) bestehen. Die Struktur des Epithelgefüges ist auf-

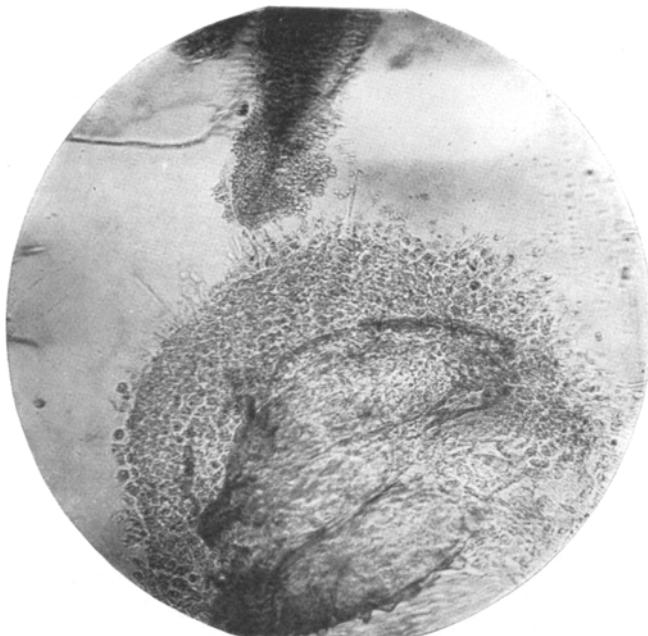


Abb. 13. 3tägige lebende Kultur von Langhanschem Epithel. Zentral Mosaikstruktur, peripher ausgesprochene Polymorphie. Vergr. 56 mal.



Abb. 14. 5tägige lebende Kultur. In der Randzone verschmelzen die ektoplasmatischen Zellfortsätze zu einem feinen Maschenwerk. Daneben auch variköse Fortsätze. Vergr. 235 mal.

gelockert, die Zellen sind von unregelmäßiger Gestalt, sternförmig, nur stellenweise und wie durch Ausläufer miteinander in Verbindung.“

Die weiteren Eigentümlichkeiten der Kulturen werden in diesem Stadium durch das Verhalten des bereits erwähnten hyalinen Ektoplasmas der peripheren Langhans-Zellen bedingt. Dieses glasklare, homogene Ektoplasma zeigt sich nicht nur in der schon geschilderten Form uncharakteristischer spitzer Ausläufer, sondern beansprucht besondere Beachtung durch die Ausbildung eigentümlich variköser, an Myelinbildungen erinnernder, äußerst beweglicher Zellfortsätze (Abb. 15). Schon die schwache Vergrößerung läßt erkennen, wie der Wachstumszone des Explantates strahlenförmig eine große Zahl langer Protoplasmagebilde aufsitzen, die zuerst an Fibroblasten denken lassen. Bei stärkerer Vergrößerung verbleibt aber kein Zweifel, daß es sich um mächtige, ektoplasmatische Fortsätze von Epithelzellen handelt, die sich von den bekannten Ausläufern der Fibroblasten durch ihre Plumpheit, eine polycyclische Begrenzung und ein häufig wie mit der Schere



Abb. 15. 5tägige lebende Kultur. Einzelheiten aus der polymorphen Peripherie. Variköse ektoplasmatische Zellfortsätze. Daneben filiforme Pseudopodie. Vergr. 450 mal.

abgeschnittenes Ende unterscheiden. Nur an der Basis dieser homogenen Gebilde, in der Nähe des Kernes, erscheinen wenige Granula. Bei längerer Betrachtung des lebenden Präparates (auf dem Heiztisch) ist zu beobachten, wie das scharfrandige Ende solcher Ausläufer plötzlich eine bläschenförmige Ausstülpung bildet, daneben innerhalb weniger Minuten andere ektoplasmatische Bläschen aufschießen, so daß schließlich der Eindruck einer Cumuluswolke entsteht. Das ganze Gebilde streckt sich dabei oft zentrifugal in die Länge und verändert fortwährend seine Form. Das Ektoplasma zeigt sich nur in Berührung mit dem Medium. Ganz frei-liegende Zellen sind ringsum von einem mehr oder weniger breiten, polycyclischen Saum ständig sich bewegenden Ektoplasmas eingesäumt. Der zentrale, granulierte, den Kern bergende Zellteil kann als bloßer Anhänger eines vielfach größeren Haufens ektoplasmatischer Bläschen erscheinen (Abb. 16). Die Protoplasmabewegungen wurden mit einer Aufnahme pro Sekunde mikrokinematographiert. Die Analyse des Films läßt schematisch 3 Bewegungsformen erkennen, die ohne scharfe Grenzen ineinander übergehen:

1. Eine ständige, der Ausdehnung nach unbedeutende Formveränderung an dem polycyclischen Ektoplasmasaum. *Carrel* hat eine durchaus gleichartige Bewegung an dem Ektoplasma der Monocyten beschrieben, das er deshalb als „undulierende Membran“ bezeichnet, obwohl es sich hier, bei den Metazoenzellen *in vitro*, um eine ständig entstehende und wieder vergehende Erscheinungsform des Protoplasmas handelt, während die undulierende Membran der Protozoen eine der entsprechenden Entwicklungsstufe eigene, beständige Organelle darstellt.
2. Die charakteristische Bewegungsform ist ein ruckweises Ausstülpen kleinerer und größerer, kugeliger Ektoplasmafortsätze, die lebhaft an die Bruchsackpseudopodien der *Dysenterieamöbe* erinnern.

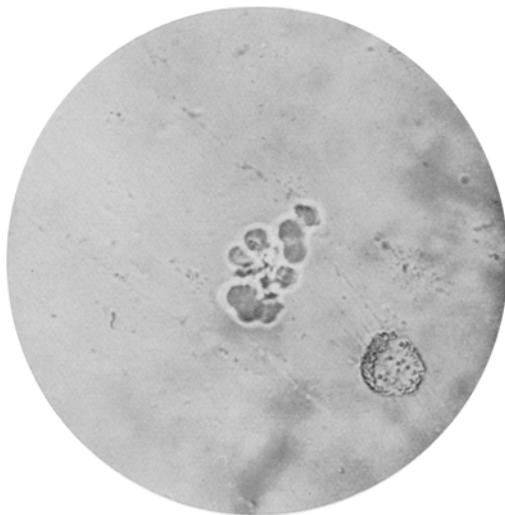


Abb. 16. 5 tägige lebende Kultur. In der Randzone freiliegende Langhans-Zelle. Kleine Innenzone gekörnten Endoplasmas; Kranz von kugeligen ektoplasmatischen „Bruchsackpseudopodien“. Vergr. 420 mal.

Während diese beiden Bewegungsformen in kurzen Beobachtungszeiten ($\frac{1}{2}$ Stunde) zu keiner ständigen, wesentlichen Veränderung des Ortes der Zelle führen, so geschieht dies, wenn ein eben aufgetretenes Bruchsackpseudopodium

3. durch ein langsames, aber gleichmäßiges Nachfließen von Ektoplasma an Ausdehnung gewinnt. Nach Auftreten einer solchen fließenden Bewegung, wodurch innerhalb weniger Sekunden die Form der Zelle verändert, ihr Schwerpunkt verschoben wird, folgt vorübergehend eine bedingte Ruhe. Die kleinen „undulierenden Membranen“ verschwinden bis auf wenige Reste und die vorübergehende Stabilisierung des neuen Zustandes wird durch Granula angezeigt, die in den vor-

geschobenen, bisher rein ektoplasmatischen, homogenen Zellbezirk hinüberfließen (Abb. 17).

Daß das in unseren Versuchen verwendete Menschenplasma sich nicht, wie oft beschrieben, spontan verflüssigte, beruht vielleicht auf individuellen Eigenschaften. Die proteolytischen Eigenschaften des Chorione epithels sollen weiter unten besprochen werden.

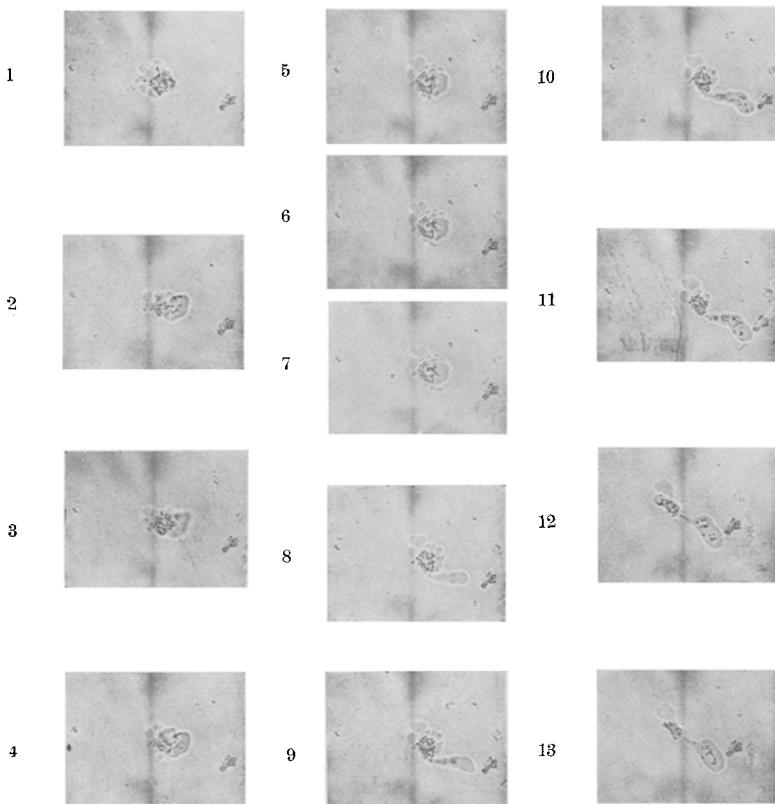


Abb. 17. Auszug aus Film von Zelle der Abb. 16. Bild 1 und 13 liegen 15 Minuten auseinander. Bild 1 bis 4 kleine Bewegungen an dem kugeligen Ektoplasma. Bild 5 bis 8 folgen sich in Abständen von einer Sekunde. Ausstülpen eines großen ektoplasmatischen Fortsatzes. Bild 9 bis 13 nachfließen von Körnchen des Endoplasmas. Der Schwerpunkt der Zelle ist nach rechts verschoben worden.

Am 3. Tage wurden die Kulturen gewaschen und mit frischem Embryonal extrakt beschickt. In einzelnen Präparaten war eine mäßige Verflüssigung aufgetreten. *Neumann* fand das Chorione epithel so stark proteolytisch, daß seine Züchtung dadurch vereitelt wurde.

Am 4. und 5. Tage ist an den Explantaten, außer einer fortgesetzten Vergrößerung der Oberfläche, die ausschließlich durch weitere Wuche-

rung der Langhansschen Zellen zustande kommt, kein neuer Vorgang zu beobachten, so daß das *Verhalten vom 2. bis 5. Tage* folgendermaßen zusammengefaßt werden kann: *Mesenchym und Syncytium treten nicht weiter in Erscheinung und werden von den Langhans-Zellen überwuchert, die in typischer Mosaikstruktur eine ausgedehnte Epitheldecke bilden, deren Peripherie aber durch eine hier vorherrschende Zellpolymorphie wie ausgefranst erscheint. Die peripheren und vor allem die freiliegenden Langhans-Zellen erlangen durch Ausbildung eines hyalinen Ektoplasmas eine lebhafte Beweglichkeit, die wesentlich durch das ruckartige Ausstrecken kugeliger „Bruchsackpseudopodien“ gekennzeichnet ist. Eine mäßige Verflüssigung des Mediums ist nur dem Einfluß der Langhans-Zellen zuzuschreiben.*

Am 5. Tage wurden die Kulturen geteilt und umgesetzt. Die Subkulturen verdoppelten in 3 Tagen ihren Durchmesser, zeigten rein epitheliales Wachstum und die gleiche eigenartige Vielgestaltigkeit, die die Ausgangskulturen kennzeichnete. Das Medium wurde geringfügig verflüssigt. Nach 3 Tagen wurden die Subkulturen mit Embryonalextrakt gewaschen und nach weiteren 2 Tagen umgesetzt. *In dieser Weise wurde noch eine zweite und dritte 5tägige Passage vorgenommen, wobei sich immer wieder bestätigte, daß eine Reinkultur von Langhans-schem Epithel erzielt worden war, das also im ganzen 20 Tage lang gezüchtet worden ist.*

Wie es aber bei nicht ganz vorzüglicher Technik häufig vorkommt, so gingen bei den verschiedenen Passagen einzelne Subkulturen nicht an. Die Ursachen dieser Fehlschläge sind zweierlei:

1. Die ausgeschnittenen Bruchstücke sind zu klein geraten. Wie die Carrel'sche Schule feststellte, vermögen isolierte normale Zellen und selbst kleine Verbände nicht zu wuchern. Zu einem guten Wachstum bedürfen die ausgepflanzten Stückchen einer bestimmten (zahlenmäßig nicht genau festzulegenden) geringfügigsten Ausdehnung.

2. Da in der Gewebskultur die auswachsenden Zellen das Fibrinmaschenwerk des Plasmamediums als mechanische Stütze benutzen und seinen Fäden wie Geleisen folgen, so ist es für das Weiterwachsen umgesetzter Explantate wesentlich, daß die Zellen oder ihre Schnittflächen unmittelbar an das frische Medium grenzen, um den Anschluß an das neue Fibrinmaschenwerk zu finden. Bleiben Teilchen des alten Gerinnsels hängen oder schrumpft infolge der elastischen Eigenschaften des Mediums das ausgeschnittene Kulturstückchen sehr stark, so schiebt sich wie eine Schranke eine Schicht des alten Mediums vor die Zellen, denen so die mechanische Bedingung ihrer Ausbreitung genommen ist.

In den Subkulturen, die auf die eine oder andere Art in ihrer Wucherung gehemmt waren, zeigte sich nun, neben dem Ausstrecken einzelner

epithelialer Zellfortsätze und dem Auswandern einzelner Langhans-Zellen eine bemerkenswerte Erscheinung. Es traten wieder syncytiale Bildungen auf: finger- oder kolbenförmig, oder in groben Schollen, mit leicht opakem Protoplasma und eiförmigen, dunklen, parallel gestellten kleinen Kernen heben sich, in den ersten 24 Stunden nach dem Umsetzen, diese Gebilde vom Rande des Stückchens ab (Abb. 18 und 19). In den nächsten 4 Tagen verändert sich ihre Form höchstens durch Verschiebungen an ihrem kernfreien Protoplasmasaum. Ein Wachstum findet nicht statt und kann auch durch Umsetzen nicht angeregt werden. Nicht nur morphologisch, sondern auch in diesem

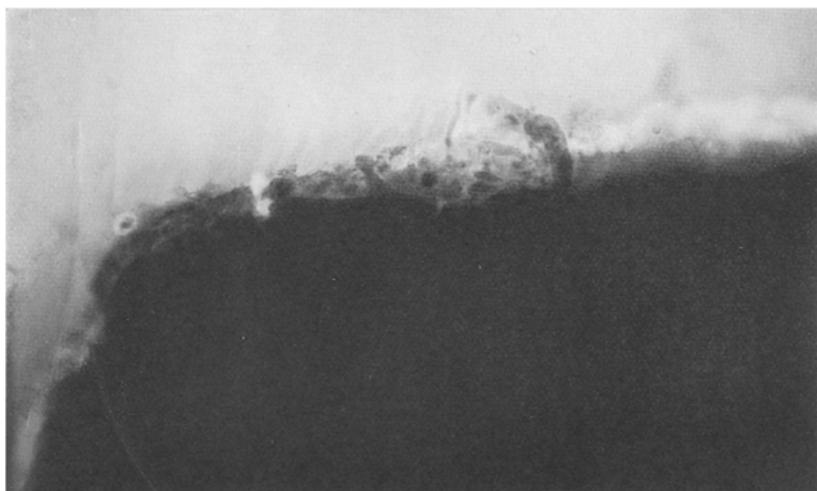


Abb. 18. 18tägige Kultur. 3 Tage nach der dritten Umsetzung fixiert und gefärbt. Die Kultur „geht nicht an“. Auftreten von syncytialen Schollen und Kolben. Vergr. 215 mal.

passiven Verhalten gleichen also diese neugebildeten Syncytien denjenigen, die unmittelbar nach der Auspflanzung ausgebildet wurden, um dann von den Langhansschen Zellen überwuchert zu werden.

Erörterung der Versuchsergebnisse.

Das Zottensyncytium.

Für die Entstehung der neugebildeten Syncytien kommen 2 Möglichkeiten in Betracht. Einmal ist nicht auszuschließen, daß in den umgesetzten Ausschnitten auch der zweiten und dritten Passage noch Zottensyncytium des Ausgangsmaterials vorhanden war, das nun nachträglich gewuchert wäre.

Demgegenüber ist aber zu betonen: Das ausgepflanzte Zottensyncytium hat nie ein echtes Wachstum gezeigt, sondern nur ein beschränkt

tes Vorfließen in das Medium. Die so entstandenen Fortsätze sind nur unmittelbar nach der Auspflanzung, bei bester Berührung mit dem frischen Medium aufgetreten und haben sich selbst unter diesen besten Lebensbedingungen nicht weiter vergrößert. Es wäre daher ganz unverständlich, wie nach langer Latenz dasselbe Syncytium wieder in Erscheinung treten sollte.

Es bleibt daher nur die zweite Möglichkeit übrig: *Unter den Bedingungen der „mißlungenen“ Subkulturen sind aus den Langhansschen Zellen selbst neue Syncytien hervorgegangen.* (Im folgenden soll dieses



Abb. 19. Siehe bei Abb. 18. Die große syncytische Scholle links oben bei der Präparation vom Explantat abgerissen.

neue Syncytium mit B bezeichnet werden, die innerhalb der ersten 24 Stunden der Auspflanzung aufgetretenen syncytialen Fortsätze mit A.)

Darf in dieser Beobachtung ein direkter Beweis dafür gesehen werden, für die immer noch umstrittene Annahme, daß das Zottensyncytium tatsächlich eine Bildung der Langhans-Zellen ist?

Nein, sicher nicht ohne weiteres, denn die Bedeutung der Syncytien ist bekanntlich keineswegs eindeutig. Wenn schon im Organismus Syncytien, Symplasmen (z. B. mehrkernige Riesenzellen) eine morphologische Konvergenz darstellen, die die verschiedensten Ursachen, die

verschiedensten Entstehungsweisen haben können, so ist das Auftreten von Konvergentien geradezu eines der wichtigsten Merkmale der Morphologie *in vitro*, so daß bei morphologischen Analogieschlüssen größte Vorsicht geboten ist. Es muß daher untersucht werden, ob auch von anderen Gesichtspunkten aus, das *in vitro* aus den Langhans-Zellen hervorgegangene Syncytium der Zottendeckschicht entspricht.

Suchen wir *physiologische Merkmale*, so kann *in vitro* die Proteolyse beurteilt und mit folgender Einschränkung mit der Histolyse im Organismus verglichen werden¹. Vermag eine Zellart *in vitro* nicht einmal das tote Plasmagerinnsel aufzuspalten, so darf wohl angenommen werden, daß sie noch viel weniger im Organismus lebende Zellen angreifen könne. Fehlt Proteolyse *in vitro*, so fehlt wohl auch Histolyse im Organismus. Wie bereits erwähnt, wurde das Medium in den Kulturen verflüssigt. In den Präparaten von den ersten 24 Stunden der Auspflanzung, in denen ausgedehnte syncytiale Massen neben auswachsenden Langhans-Zellen liegen, ist deutlich zu sehen, wie die Verflüssigungszone auf das Gebiet der Langhans-Zellen beschränkt ist, während das Syncytium überall an festes Medium grenzt. In den Subkulturen verhält sich das Syncytium B genau so. *Das in vitro aus den Langhans-Zellen hervorgegangene Syncytium ist also in gleicher Weise wie das Zottensyncytium durch das Fehlen proteolytischer Eigenschaften ausgezeichnet.* In der Tat steht heute, entgegen der älteren Ansicht von Bonnet (1903) fest, daß dem Zottensyncytium, dem Syncytium zweiter Generation, keine gewebsauflösende Leistung zukommt, im Gegensatz zu dem primären Syncytium, das in den ersten Stadien der Eieinnistung aus dem Trophoblasten hervorgeht und mit seiner starken Cytolyse das Ei in die mütterliche Schleimhaut eingräbt. Während dieses Implantationssyncytium aber rasch degeneriert, stülpt der Trophoblast, zur eigentlichen Placentation übergehend, solide Epithelzapfen aus, die sich später über einem mesenchymalen Grundstock auf die beiden Deckschichten des Zotteneipithels verringern, von denen die äußere das hier in Frage stehende Syncytium zweiter Generation ist². Seine Leistungen sind wohl Aufsaugung, vielleicht Absonderung und Gerinnungshemmung. Zur Ausübung der Cytolyse hat das Zottensyncytium auch gar keine Gelegenheit, denn dort, wo die Zottenoberfläche mit dem mütterlichen Gewebe in Berührung kommt, an der Spitze der Haftzotten, da fehlt es ja. Das Eindringen und die partielle Auflösung

¹ Dabei bleibt es gleichgültig, ob die Proteolyse durch aktive Bildung eines Fermentes erfolgt, oder durch Aktivierung im Plasma vorhandener Profermente durch Zerfallsprodukte zugrunde gegangener Zellen.

² Über morphologische Unterschiede zwischen Einpflanzungs- und Zottensyncytium siehe Grosser. Dieser Forscher leitet die chorialen Wanderzellen von Resten des Implantationssyncytiums ab, ebenso die Chorioneipitheliome. Siehe auch Paul, Schlaginhauser.

des mütterlichen Gewebes erfolgt durch die lebhaft wuchernden Langhans-Zellen, die ihr proteolytisches Vermögen ja auch *in vitro* zum Ausdruck gebracht haben.

Vergleichen wir die Umstände, unter denen *in vitro* aus den Langhans-Zellen ein Syncytium hervorgegangen ist mit den eigentümlichen Ernährungs- und Wachstumsbedingungen, die *den Standort der Zottendecksschicht* kennzeichnen. In den „mißlungenen“ Subkulturen finden die sehr aktiven, aber schlecht ausgeschnittenen Verbände von Langhans-Zellen reichliche Mengen aller benötigten Nährstoffe: Frisches Plasma, frischen Embryonalextrakt, Sauerstoff. Die allgemeinen Lebensbedingungen sind also durchaus günstig. Zum Auswachsen aus dem geschrumpften alten Gerinnsel, zum Übergreifen auf das neue Fibrinmaschenwerk *fehlen nur die mechanischen Bedingungen*¹, und die Wachstumsenergie der Langhans-Zellen erschöpft sich in der Bildung von Syncytien.

In der Placenta liegt das Syncytium den Langhans-Zellen dort auf, wo die Zottenoberfläche frei an die hämorrhagische Flüssigkeit der intervillösen Räume grenzt. Obwohl hier vorzügliche Ernährungsbedingungen herrschen, zeigt die Langhanssche Schicht nur eine sehr geringe Wucherung. Die wenigen Mitosen, die hier zu finden sind, erlauben der Epitheldecke eben nur mit der sich vergrößernden Zottenoberfläche Schritt zu halten. Die Langhans-Zellen sind aber unfähig, in die umgebende Flüssigkeit hinaus zu wuchern, Zellsäulen in die Bluträume vorzutreiben. Nun ist die Unfähigkeit, sich in einem flüssigen Medium zu vermehren, die Abhängigkeit des Zellebens von einem mechanischen Gerüst, die *Loeb* „Stereotropismus“ nannte, eine grundlegende Eigenschaft, die allen Gewebszellen *in vitro* zukommt. *Lewis* und *Lewis* zeigten, daß selbst aus embryonalem Herz und Darm bei der Auspflanzung in flüssiges Medium syncytiale Gebilde entstehen durch amitotische Kern-, ohne nachfolgende Protoplasmateilung. Obwohl aus unseren Präparaten keine entsprechenden unmittelbaren Beobachtungen vorliegen, wird dadurch wahrscheinlich gemacht, daß die Syncytienbildung aus Langhans-Zellen auf dieselbe Art erfolgt ist. Bevor der Satz vom Stereotropismus aber zur Erklärung des vorliegenden Falles angeführt werden darf, muß untersucht werden, inwieweit die Verhältnisse *in vitro* und im Organismus vergleichbar sind. Da ergibt sich nun, daß die Übereinstimmung nirgends so vollkommen ist als gerade in dem vorliegenden Falle: Die frühfetalen, noch nicht gefäßführenden Zotten stellen den einzigartigen Fall dar, daß ein typisches Gewebe seine Nährstoffe ausschließlich von der Peripherie her bezieht und ausschließlich durch peripher gerichtetes Wachstum sich vergrößert.

¹ Bei den gut ausgeschnittenen, nicht geschrumpften, aber zu kleinen Stückchen fehlen andere Einflüsse, die weiter unten besprochen werden sollen.

sernd, in das ernährende, fremde Medium vordringt . . . und eben-dieselben eigenartigen Verhältnisse kennzeichnen die Gewebskulturen.

Es kann also gesagt werden, daß auch in der Placenta das Zottensyncytium dort entsteht, wo den Langhans-Zellen eine mechanische Bedingung zur Wucherung fehlt. Die Bedingungen, die *in vitro* bei der Entstehung von Syncytien aus Reinkulturen von Langhans-Zellen maßgebend sind, finden sich also auch in der Placenta am Standorte des Zottensyncytiums wieder. Da außerdem das *in vitro* aus Langhans-Zellen entstandene Syncytium auch morphologisch und in seinem passiven fermentativen Verhalten dem Zottensyncytium entspricht, so darf wohl in der Tat in unseren Versuchen ein direkter Beweis für die Abstammung des Zottensyncytiums von der Langhansschen Zellschicht gesehen werden. Als auslösende Ursache für die Entstehung des Zottensyncytiums ergibt sich aus der vergleichenden Betrachtung der Vorgänge *in vitro* und im Organismus, die Einwirkung des mütterlichen Blutes in seiner Eigenschaft als flüssiges Medium auf die Langhans-Zellen. Damit findet sich, etwas ausgebaut, eine Ansicht unterstützt, die schon 1899 von *Peters* ausgesprochen und 1925 von *R. Meyer* wieder vertreten worden ist.

Grosser wendet sich gegen diese Lehre, weil Syncytien auch mitten in Trophoblastmassen (Zellsäulen- und Inseln) und auch im mütterlichen Gewebe, d. h. abseits von der Berührung mit dem Blut zu finden sind. „Das Syncytium ist ein Entwicklungs- kein Degenerationsprodukt“.

Diesem Einwand kann mit einem Hinweis auf die so mannigfaltigen Entstehungsmöglichkeiten der Syncytien begegnet werden, worauf *Grosser* ja selbst auch hinweist. Es können aus demselben Ausgangsmaterial auf verschiedenen Wegen dieselben syncytialen Formen entstehen. Nach *L. Loeb* sind ganz allgemein die Bedingungen für die Entstehung von Syncytien und Plasmodien dann gegeben, wenn Zellen mit starker Wachstumsenergie sich unter abnormen und ungünstigen Verhältnissen befinden, deren Grad natürlich von Bedeutung ist und die ihrer Art nach folgendermaßen bestimmt sind:

1. Mechanische Bedingungen.
 2. Ernährungsbedingungen. Die wichtige Rolle, die eine vermindeerte Sauerstoffspannung für die Syncytienbildung spielt, ist von *Loeb* und *Fleischer*, neuerdings wieder von *Barta* hervorgehoben worden.
 3. Andere, noch nicht näher bekannte Bedingungen, die besonders zur Erklärung der syncytialen chorialen Wanderzellen anzunehmen sind. (Auf diesen Punkt soll weiter unter noch eingegangen werden.)
- Es sei daran erinnert, daß ja auch in unseren Subkulturen unter zwei ganz verschiedenen Bedingungen aus den Langhans-Zellen Syncytien hervorgegangen sind: Nicht nur beim Fehlen mechanischer Be-

dingungen, sondern auch in den zu klein geratenen Stückchen, bei denen ganz andere Einflüsse mitspielen (s. weiter unten). Ebenso sind in der Placenta verschiedene Entstehungsbedingungen vorhanden. Wir halten daran fest, daß an der Zottenoberfläche die schlechten mechanischen Bedingungen, die durch das mütterliche Blut gegeben, maßgebend sind. Im Inneren der Zellsäulen und Inseln verursachen wohl mangelhafte Konzentrationen an Sauerstoff und Nährstoffen die Syncytienbildung, Verhältnisse, die ja auch im Inneren von Carcinenomen zu Syncytien führen können.

Zur Entstehung von Syncytien gehört also gleichsam ein Plus und ein Minus, eine starke Vermehrungsenergie bei noch stärkeren Vermehrungswiderständen. (Vgl. die vielkernigen Riesenzellen, die bei gestörter Regeneration auftreten können in Alveolarepithelien, Drüsenzellen von Leber und Niere, Endothelien von Blutgefäßen und serösen Räumen, Muskel- und Fettzellen, bösartigen, leicht zerfallenden Geschwülsten — *Rössle*.)

Nur durch einseitige Bewertung der Minusfaktoren konnte die von *Grosser* mit Recht bekämpfte Auffassung des Zottensyncytiums als Degenerationsprodukt entstehen. Durch vollständiges Übersehen der Minusfaktoren erklärt sich die gegenteilige, aber ebenso unrichtige Ansicht, „daß üppige Ernährungsbedingungen die allgemeinen Grundbedingungen für das Zustandekommen von Syncytien sind“ (*Bonnet* 1903). Es kann auch *Guggisberg* nicht beigestimmt werden, wenn er aus der Beobachtung, daß das Zottensyncytium *in vitro* nicht auswächst, den Schluß zieht, daß es ein Degenerationsprodukt der Langhans-Zellen sei. Die mangelnde Wucherungsfähigkeit könnte ebensogut, wie z. B. bei den Ganglienzellen, für eine hohe Differenzierung zeugen. *Vielkernigkeit wird dort gesehen, wo ein Mißverhältnis besteht zwischen der Funktionsfähigkeit der einkernigen „Standardform“ der Zelle und der zu leistenden Funktion*. Die Vielkernigkeit ist ein Ausdruck dieses Widerstreits, ohne daß damit über seinen Ausgang etwas ausgesagt wäre. D. h., es ist nicht ohne weiteres ersichtlich, ob die Vielkernigkeit, wie bei den Osteoclasten, wirklich eine sich den Umständen anpassende Leistungssteigerung bedeutet, oder, wie bei gewissen Langhansschen Riesenzellen, ein Versagen der Protoplasmateilung unter bakteriotoxischen Einflüssen.

Choriale Wanderzellen und Chorionepithelium.

Die Langhans-Zellen haben *in vitro* eine sehr lebhafte und eigenartige Beweglichkeit gezeigt. Beweglichkeit, als eine der ursprünglichsten Eigenschaften des lebenden Protoplasmas, kommt auch den meisten Metazoenzellen unter den Bedingungen der Auspflanzung zu. „Es gehört eben herzlich wenig zur Erlangung amöboider Beweglichkeit,

manchmal vielleicht nicht mehr als ein kleines Stückchen flüssiger Oberfläche“, denn der Solzustand ist die Voraussetzung, daß Oberflächen- spannungsunterschiede, diese wichtigen Triebkräfte der Protoplasma- bewegung, zur Auswirkung kommen. Schon während der ersten Ent- wicklung verschiebt sich der Zustand der Zellen immer mehr vom Sol- zum Gelzustand. Je weniger die Zellen differenziert sind, um so flüssiger und um so beweglicher sind sie auch (*I. Spek*). Die große Beweglich- keit der embryonalen Langhansschen Zellen *in vitro* ist also durchaus kein Kuriosum. Noch weniger das Auftreten des beschriebenen hya- linen Ektoplasmas, da ja heute die meisten Cytologen die Lehre ver- treten, daß wenigstens zeitweise jedes Protoplasma optisch (auch ultra- mikroskopisch) homogen sein kann (*Wilson, G. Hertwig* u. a.). Die *Form der Bewegung* ist eine Resultante aus dem strukturellen Zustand des Protoplasmas und der Beschaffenheit des umgebenden Mediums. Vor allem können durch Veränderungen der Menge und Art der Ionen experimentell den verschiedensten Protoplasmen Bewegungsformen aufgezwungen werden, die ihnen in ihrer natürlichen Umwelt ganz fremd sind. Wenn aber verschiedene Zellen unter den gleichen, heute doch recht gut bekannten, Bedingungen der Auspflanzung im Plasma-Embryo- nalextrakt-Gerinnsel verschiedene Bewegungsformen zeigen, so muß dieser Unterschied auf einer wichtigen Verschiedenheit ihres Proto- plasmabaues beruhen, der vielleicht hinreicht, um die Zellart zu kenn- zeichnen. So beschreiben *Carrel* und *Ebeling*, wie die Lymphocyten kleine, stumpfe Pseudopodien ausschicken und sich wie kleine Würmer bewegen, die vielgestaltigkernigen Leukocyten lange Ausläufer aus- stoßen, sich wie Amöben bewegen, Monocyt aber wie Octopus mit einer unaufhörlich um den ganzen Rand undulierenden, sehr dünnen Membran (siehe die Zusammenstellung bei *A. Fischer*). Fibroblasten fließen mit Hilfe ihrer Pseudopodien langsam geradlinig vorwärts — und für die Langhansschen Zellen ist die ruckartige Bewegungsform mittels Bruchsackpseudopodien aus hyalinem Ektoplasma kennzeich- nend. Eine ähnliche Bewegungsform scheint *Tschassownikow* an Epi- thelzellen bei der Züchtung von Kaninchenthymus beobachtet zu haben. Dieser Forscher beschreibt die Bildung von „Protoplasma- perlen“ mit einer selbständigen, ihrem Mechanismus nach nicht klar- gestellten Bewegung. Nach den Zeichnungen zu schließen, handelt es sich um Gebilde und Vorgänge, die den hier analysierten ektoplasma- tischen Bruchsackpseudopodien entsprechen. *Champy* gibt an (per- sönliche Mitteilung), eine entsprechende Bewegung am Keimepithel ausgepflanzter Eierstöcke und an den Sertoli-Zellen bei der Züchtung von Kaninchenhoden gesehen zu haben. Diese Bewegungsform ist also bisher nur an Epithelien festgestellt worden. *Oppel* hat eine andere Bewegungsform als epithelspezifisch beschrieben: Eine aktive Massen-

bewegung, während der die Zellen sich innerhalb des Verbandes gegeneinander verschieben, wobei die Formveränderung der einzelnen Zelle keine Veränderung der Oberflächengröße bedingt, so daß die Einheit des Gewebes gewahrt bleibt. Diese „Epithelbewegung“, bei der es im allgemeinen nicht zu Pseudopodienbildung kommt, wird in grundsätzlichen Gegensatz gestellt zu der meist mit Pseudopodienbildung einhergehenden „Leukocytenbewegung“. Die oben beschriebene Bewegungsform der Langhans-Zellen ist also eine „Leukocytenbewegung“ im Sinne von *Oppel*. Schon *Klebs* beobachtete bei der Regeneration von Plattenepithel, wie einzelne Zellen vom Mutterboden abgelöst als „epitheliale Wanderzellen“ auf Grund von Pseudopodienbildung eine außerordentliche Beweglichkeit zeigen. Neuerdings macht *Levi* in seinem Lehrbuch darauf aufmerksam, wie die Epithelzellen der Randzone einer Kultur in weichem Gerinnsel vielgestaltig werden, sich vom Verband loslösen und selbständig wandern. „Epitheltyp“ und „Leukocytentyp“ der Bewegung sind also nicht schroffe Gegensätze. Innerhalb des Verbandes schiebt sich die Epithelzelle unauffällig nach dem „Epitheltyp“ vor. Freiliegend bewegt sie sich lebhaft mit Pseudopodien nach dem „Leukocytentyp“, und zwar wie die wenigen bis jetzt vorliegenden Beobachtungen schließen lassen, nach einem ganz bestimmten „Leukocytentyp“, der die isolierte Zelle auch dann noch genotypisch als Epithelzelle stempelt, wenn die anderen Merkmale, wie Neigung zur Bildung mosaikartiger Verbände, zum Überkleiden freier Oberflächen, versagen.

Damit erhebt sich die dem Versuch zugängliche Frage nach dem feineren Mechanismus dieser Bewegung, der ihr zugrunde liegenden Struktur und Leistung des Protoplasmas und damit vielleicht die Aussicht, auf diesem Wege zu einer physikalisch-chemischen Kennzeichnung der Epithelnatur zu kommen. Es sei noch folgende Andeutung zu diesem Ausblick gestattet: Das myelinartige Aussehen der langen, lebhaft beweglichen epithelialen Zellfortsätze ist vielleicht ein Hinweis dafür, daß diese epitheliale Beweglichkeit ebenso auf Quellungsvorgängen beruht, wie die echte Myelinbildung. Es sei ferner daran erinnert, daß *Carrel* die Annahme aufstellte, daß es die hyaline undulierende Membran der Monocyten ist, die den Zusammenschluß dieser Zellen zu einem Gewebe verhindert. Es ist denkbar und bleibt zu untersuchen, ob nicht eine ähnliche Eigenschaft des ja in vielen Beziehungen monocytenartigen (Langhansschen) Epithelprotoplasmas dafür verantwortlich ist, daß die Epithelzellen sich zwar einander zum Verband anfügen können, aber nicht durch wesentliche Ausläufer miteinander in Verbindung treten. Der unmittelbare Nachweis einer selbständigen, lebhaften Beweglichkeit der Langhansschen Zellen ist aber vor allem deswegen wichtig, weil er beweist, daß das Vorkommen chorialer Ge-

bilde in der Tiefe des Myometriums sehr wohl durch eine aktive Abwanderung von den fetalen Zotten zu erklären ist, der Ausdruck „choriale Wanderzellen“ also zu Recht besteht.

Damit fällt ein wesentlicher Einwand der Gegner der *Marchand*-schen Lehre vom Chorioneipitheliom, denen nunmehr die ganze Beweislast zufällt, wenn sie die Chorioneipithelien vom mütterlichen Gewebe ableiten wollen.

R. Meyer betont zwar, daß die Annahme einer aktiven Bewegung zur Deutung der chorialen Wanderzellen überflüssig sei, da in sorgfältig hergestellten Schnittreihen stets eine ununterbrochene Zellreihe mindestens bis zur Schleimhaut, häufig bis zu den Chorionzotten nachzuweisen sei. Der hier beigebrachte direkte Nachweis einer außergewöhnlichen Beweglichkeit der Langhansschen Zellen befreit zum mindesten diejenigen Forscher, die die Befunde von *R. Meyer* nicht bestätigen können, von dem Vorwurf mangelhafter histologischer Technik.

Es bleibt noch zu erklären, warum die Langhans-Zellen als choriale Wanderzellen vorwiegend syncytiale Formen annehmen, denn dafür, daß syncytiale Bruchstücke der Zottendeckschicht so weitgehend wandern können, fehlen alle Anhaltspunkte. *R. Meyer* glaubt, daß eine Ernährungsstörung in dem dichten Gewebe der Muskulatur verantwortlich zu machen ist. So schlecht kann die Ernährung hier aber nicht sein, da die chorialen Wanderzellen jahrzehntelang am Leben bleiben können. *Loeb* nimmt, wie erwähnt, für die Entstehung dieser besonderen Art von Syncytien eine eigene Gruppe noch unbekannter Einflüsse an. Erinnern wir uns daran, daß nicht nur in geschrumpften, *mechanisch* behinderten Subkulturen aus Langhans-Zellen die Bildung von Syncytien erfolgte, sondern auch dann, wenn das umgesetzte Stück einfach zu klein war, so ist zu erwägen, ob nicht ähnliche Einflüsse einer ungenügenden Masse aktiven Gewebes bei vereinzelten, weit vorgedrungenen Langhans-Zellen in der Uterusmuskulatur eine mitotische Vermehrung verhindern und die Umwandlung in Syncytien begünstigen könnten. Welcher Art die hier wirkenden Umstände sein könnten, soll im folgenden im Licht der Erfahrungen und Theorien der Gewebezüchtung erörtert werden:

Von den Bedingungen stofflicher und anderer Art, die die Zellen zur Erhaltung ihres Lebens und fortgesetzter Vermehrung brauchen, sind zweierlei Gruppen hervorzuheben: Eine 1. Gruppe von Stoffen, mit dem Sammelwort „Trophe“ bezeichnet, dient als Nahrung. Sie ist art- und gewebsunspezifisch und in weitgehender Annäherung als höhere Eiweißbauprodukte gewisser Molekülgröße bestimmbar. Der Prototyp dieser Stoffe ist der Embryonalextrakt und die Proteosen von *Fischer* und *Demuth*. Diese Trophe ermöglichen unbegrenzt Assimilation, Wachstum und Teilung der Zellen, wenn gleichzeitig eine 2. Gruppe von Bedingungen, die *A. Fischer* „Desmone“ nennt, gegeben sind. Die Wirkung der Desmone erhellt aus dem Grundversuch: Einzelne Zellen oder kleine

Zellverbände, deren Ausdehnung unter einer bestimmten Grenze bleibt, können sich in einem einwandfreien Medium, das, wie Vergleiche zeigen, eine hinreichende Menge von Trephonen enthält, nicht vermehren. Es genügt aber, eine kleine Menge gleichartiger Zellen mit der 1. Gruppe in Berührung zu bringen, um starke Zellteilung und Wachstum des an sich zu kleinen Stückes auszulösen. Ob hier Stoffe wirken, die nur intraplasmatisch ausgetauscht werden können, oder ob es sich um einen eigentümlichen Fall von Massenwirkung handelt, sei dahingestellt. Von größter Bedeutung ist aber die Entdeckung der *Carrelschen Schule*, daß normale Gewebszellen nur gewebsgleiche, Zellen bösartiger Gewächse aber auch gewebsfremde Desmone verwerten können, solange sie nur tierspezifisch sind.

In Analogie an die Vorgänge *in vitro*, ist auch im Organismus in Betracht zu ziehen, daß die einzelnen auswandernden Langhans-Zellen, je weiter sie sich vor der Placenta entfernen, um so mehr der gewebspezifischen Desmone entbehren, sich also in der gleichen Notlage befinden, wie die zu klein geratenen Kulturausschnitte. Der Mangel an gewebsspezifischen Desmonen verhindert eine Wucherung, stellt der den Langhans-Zellen eigenen Wachstumskraft gegenüber einen „Minusfaktor“ dar, so daß die nun auftretende Syncytienbildung durchaus dem allgemeinen Schema nach *Loeb* entspricht. Wir können also die Gruppe unbekannter Einflüsse, die *Loeb* eigens für den besonderen Fall der Syncytienbildung chorialer Wanderzellen verlangt, dahin genauer bestimmen, daß es sich um das Fehlen gewebsspezifischer Desmone handelt. Wenn über das Wesen der Desmone auch nichts näher bekannt ist, so führt die hier gegebene Deutung doch an Stelle einer ganz formlosen Unbekannten einen Begriff ein, der eine experimentelle Grundlage besitzt, und der sich als Arbeitsannahme bewährt hat. Das für die chorialen Wanderzellen Gesagte gilt auch für die in Leber, Lunge usw. verschleppten Chorioneithelien. Alle placentafernen Inseln von Chorioneithel werden durch den Mangel chorioneithel-spezifischer Desmone an der weiteren Wucherung verhindert und nehmen eine syncytiale Form an. Für das Absterben dieser Gebilde ist kein besonderer Grund vorhanden, da sie die an ihrem Standort vorhandenen mütterlichen Nährstoffe, Trephone, verwerten können, die ja nur art-, aber nicht gewebsspezifisch zu sein brauchen.

Auf Grund dieser Auffassung erklärt sich einerseits das evtl. jahrzehntelange Überleben, und andererseits das überwiegend gutartige Verhalten der ausgewanderten oder verschleppten Chorioneithelien. Dabei ist die Annahme von cytolytischen Antikörpern, Abwehrfermenten, deren regelmäßiges Vorkommen übrigens nicht erwiesen ist und die wohl nur ein Begleitsymptom der Zotteneinwanderung darstellen, überflüssig. Ein Wiederaufleben der Wucherung ist nur dann möglich, wenn die isolierten Chorioneithelien die Fähigkeit erlangen, die ihnen unspezifischen Desmone des sie umgebenden Gewebes zu verwerten. Das ist aber, nach der Lehre der Gewebezüchtung, ein charakteristischer

Mechanismus des bösartigen Wachstums. Diese theoretische Ableitung deckt sich mit den klinischen und pathologischen Erfahrungen: Die von chorialen Wanderzellen oder Zottenembolien ausgehenden Wucherungen sind nie gutartig, sondern nehmen stets die Form des bösartigen Chorioneipthelioms an. Warum aber in gewissen Fällen, früher oder später bösartiges Wachstum einsetzt, warum dann, mit dem Symbol der hier angewendeten Theorie gesprochen, die ortsfremden Chorioneipthelien plötzlich gewebsfremde Desmone verwerten, das bleibt ebenso im Dunkel wie das Agens, das in embryonalen Zellversprengungen im Sinne *Cohnheims* bösartiges Wachstum auslöst.

Aus diesen Überlegungen ergeben sich auch neue Gesichtspunkte gegen die Abstammung der ortsfremden Chorioneipthelien und der Zottendeckschicht aus den mütterlichen Geweben: Sollten die Chorioneipthelien wirklich aus dem mütterlichen Mesenchym stammen, wie *Bostroem* annimmt, so fänden die chorialen Wanderzellen sowie die bisher als verschleppt betrachteten Zottenteile an ihrem Standort, der ja nach *Bostroem* gleichzeitig der Ort ihrer Entstehung wäre, genügend gewebspezifische Desmone vor, und es wäre im Lichte der neuen Ergebnisse der experimentellen Zellforschung, die heute nicht mehr vernachlässigt werden dürfen, kein Grund, daß diese Gebilde sich nicht jedesmal unbegrenzt vermehren sollten.

Zusammenfassung.

1. Das *Zottensyncytium* zeigt kein echtes Wachstum, sondern nur unmittelbar nach der Auspflanzung ein Vorfließen. Abgeschnürte Massen kernlosen menschlichen Protoplasmas können stundenlang überlebend lebhafte Beweglichkeit aufweisen.
2. Das *embryonale Bindegewebe* tritt gar nicht in Erscheinung.
3. Die *Langhansschen Zellen* zeigen eine außerordentlich starke Wucherung und bilden üppige Kulturen, die von Anfang an epitheliale Reinkulturen sind. Der epitheliale Charakter ist nur im Innern der Wachstumszone deutlich, wo Zelle an Zelle liegt.
4. Aus Reinkulturen Langhansscher Zellen können syncytiale Kolben und Schollen hervorgehen, die morphologisch dem *Zottensyncytium* unter denselben Bedingungen gleichen.
5. Alle beobachteten syncytialen Gebilde zeigen keine Verflüssigung des Mediums und keine Beweglichkeit.
6. Die Langhans-Zellen verflüssigen das Medium im mäßigen Ausmaße.

Ergebnisse.

7. Der direkte Nachweis einer außerordentlichen Beweglichkeit der Langhansschen Zellen stützt die Annahme, daß die chorialen

Wanderzellen auf eine selbständige Wanderung Langhansscher Zellen zurückzuführen sind.

8. Der direkte Nachweis, daß aus Reinkulturen Langhansscher Zellen unter dem Einfluß besonderer ungünstiger mechanischer Wachstumsbedingungen, die auch in der Placenta an der Zottenoberfläche vorherrschen, Syncytien entstehen, die morphologisch und auch funktionell in dem Fehlen proteolytischer Eigenschaften dem Zottensyncytium gleichen, stützt die Annahme, daß das Zottensyncytium eine Bildung der Langhans-Zellen ist, also fetaler Natur.

9. Das Fehlen regelrechter Zellvermehrung aus kleinen isolierten Verbänden Langhansscher Zellen und die Entstehung von Syncytien erklärt, daß bei den chorialen Wanderzellen und verschleppten Chorioneiptheliien die syncytiale Form vorherrscht.

10. Im Beginn der embryonalen Entwicklung überwiegt die Wachstumsenergie des Epithels über die des Mesenchyms.

11. Die chorialen Wanderzellen und verschleppten Chorioneiptheliien wuchern an ihrem Standort nicht weiter, weil ihnen gewebsspezifische Desmone fehlen, sie erhalten sich aber jahrelang am Leben, weil sie genügend unspezifische Nährstoffe, Trophe, zur Verfügung haben.

Literaturverzeichnis.

- Albrecht, H.*, Verh. dtsch. path. Ges. **1908**, 12. Tag. — *Barta*, Arch. exper. Zellforschg **2**, 6 (1925). — *Bonnet*, Mschr. Geburtsh. **18** (1903). — *Bostroem*, Beitr. path. Anat. **76**, 293 (1927). — *Carrel*, zit. bei *Fischer*. — *Fischer, A.*, Gewebezüchtung. München 1927. — *Grosser*, Z. Anat. **66**, 179 (1922) — Frühentwicklung, Eihautbildung und Placentation. München 1927. — *Guggisberg*, Zbl. Gynäk. **1926**, 143. — *Hertwig, G.*, Strahlenther. **11** (1920). — *Hertwig, R.*, Die funktionelle Bedeutung der Zellstrukturen. In Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie, Bd. I: Allgemeine Physiologie. — *Klebs*, Biol. Zbl. **7** (1887) — Arch. f. exper. Path. **3**, 125. — *Levi, G.*, Tratto di Istologia, Torino 1927. — *Lewis* und *Lewis*, Anat. Rec. **25** (1923). — *Loeb, L.*, Washington University Studies, Sci. ser. **21**, 247 (1920). — *Loeb* und *Fleischer*, Biochem. Z. **36**, 97 (1911). — *Marchand*, Z. Geburtsh. **39**, 172 (1898) — Mschr. Geburtsh. **1**, 419 u. 513 (1895). — *Meyer, R.*, Z. Geburtsh. **58**, (1906); **59** (1907). — *Meyer* und *Heims*, Zbl. Gynäk. **1926**, 2688. — *Mitsuda*, Virchows Arch. **242**, 310 (1923). — *Neumann*, Ber. Gynäk. **1925**, 83. — *Oppel, A.*, Arch. Entw.mechan. **35**, 371 (1912) — Anat. Anz. **45**, 173. — *Paul*, Virchows Arch. **257** (1925). — *Peters*, Über die Einbettung des menschlichen Eies. Leipzig-Wien 1899. — *v. Recklinghausen*, Verh. dtsch. path. Ges. **1902**, 5. Tag. — *Risel*, Erg. Path. **10**, 1928 (1907). — *Rössle*, im Lehrbuch der pathologischen Anatomie von Aschoff. — *Schlaginhauf, F.*, Zbl. Path. **31**, 89 (1920). — *Schultze*, Das Protoplasma der Rizopodien und Pflanzenzellen. Leipzig 1863. — *Graf Spee*, Anatomie und Physiologie der Schwangerschaft im Handbuch der Geburtshilfe **1924**. — *Spek*, Die Protoplasmabewegung usw. Im Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie **8**. — *Sternberg*, Z. f. Heilk. **26** (1905). — *Teacher*, J. Obstetr. **31**, Nr 2 (1924). — *Tschassownikov*, Arch. exper. Zellforschg **1927**, 250. — *Verworrn*, Pflügers Arch. **51** (1891). — *Wilson*, The Cell **1925**. — *Wolff* und *Zondek*, Zbl. Gynäk. **1924**, 2193.