

(Aus der Klinik für Hautkrankheiten des Finsenschen medicin. Lichtinstituts in Kopenhagen — Direktor: Dr. *Axel Reyn* — und aus dem Universitätsinstitut für allgemeine Pathologie in Kopenhagen. — Direktor: Prof. Dr. *Oluf Thomsen*.)

Über die Zahl der Chromosomen in Carcinomzellen beim Menschen.

Von

K. A. Heiberg und Tage Kemp.

Mit 11 Textabbildungen.

(Eingegangen am 10. April 1929.)

Schon viele Jahre hat man sich mit der Frage des Verhaltens der Chromosomen in Krebszellen und damit beschäftigt, welche Bedeutung man Abweichungen von der Norm bei diesem Verhalten beilegen könnte. Besonders *Hansemann* (1890, 1891, 1893, 1897) hat die Abnormitäten genauer beschrieben, die bei den Kernteilungsvorgängen in Krebszellen auftreten, und hat das Vorkommen pluripolarer und asymmetrischer Mitosen und auch wechselnde Chromosomzahlen nachgewiesen. Später wurde von verschiedenen Seiten nachgewiesen, daß diese Störungen in den Kernteilungen wahrscheinlich für Krebszellen nichts Typisches wären, sondern sich unter verschiedenen Verhältnissen auch bei anderen Zellen finden dürften und Anzeichen überstürzten Wachstums seien.

Farmer, Moore und Walker (1904) beobachteten u. a. Zellen mit haploider Chromosomenzahl in Krebsgewebe, und zogen daraus den Schluß, daß in den Krebszellen Reduktionsteilungen vor sich gehen entsprechend den heterotypen Reduktionsteilungen, wie man sie in den Geschlechtszellen sieht; diese Untersuchungen sind von anderen nicht bestätigt worden, doch hat *Jacobj* (1927) in einer vorläufigen Mitteilung kürzlich die Bedeutung des Nachweises heterotypischer Mitosen in Krebszellen hervorgehoben.

Boveri veröffentlichte 1914 seine viel erörterte Theorie, daß eine normale Zelle dadurch zu einer bösartigen wird, daß auf eine oder die andere Weise eine Verschiebung in ihrem Chromosomgehalt vor sich geht; es ist auf morphologischem Wege bisher nicht gelungen, die Richtigkeit dieser Theorie zu beweisen, wenn auch, wie erwähnt, nachgewiesen ist, daß in Krebsen Zellen mit stark wechselnder Chromosomenzahl vorkommen können. Ferner hat *Heiberg* (1908, 1921) durch syste-

matische Messungen nachgewiesen, daß die Kerne in Krebsgewebe wahrscheinlich bedeutend größer als in entsprechendem normalen Gewebe sind, was *Nomikos* (1910) und *Borst* (1910, 1924) bestätigten, aber man findet manchmal doch auch in Krebszellen eine durchschnittlich geringere Kerngröße als in normalen Zellen.

Teutschlaender und *Schuster* (1926), in deren Arbeit sich eine vollständige Schrifttumübersicht¹ findet, haben die Histopathogenese des experimentellen Teerkrebses untersucht, und glauben *Boveris* Theorie widerlegt zu haben, aber die Bedeutung ihrer Untersuchungen wird dadurch abgeschwächt, daß sie damit rechnen, daß die normale diploide Chromosomzahl bei der Maus 12 ist, während durch die neuesten Untersuchungen doch mit Sicherheit nachgewiesen ist, daß sie 40 ist oder jedenfalls sehr nahe bei dieser Zahl liegt.

Winge (1927) hat eingehende cytologische Untersuchungen der Mitosen in bösartigen Pflanzengeschwülsten an der Zuckerrübe *Beta vulgaris* vorgenommen, die teils von selbst entstanden, teils experimentell durch Verimpfung des *Bac. tumefaciens* hervorgerufen waren. Dabei fand er, daß in weit den meisten Zellen bei dieser Geschwulst tetraploide Chromosombesetzung vorkam, bei einigen Zellen diploide, und bei einem anderen Teil von ihnen hexa- oder octoploide oder noch höhere Zahlen; dagegen fanden sich keine Zellen mit haploider, tri- oder pentaploider Anzahl. Es ist von großer Bedeutung, daß *Winge*, der sich ja eingehend mit der Chromosomenforschung und genetischen Fragen in bezug auf die neuzeitliche Zellforschung beschäftigt hat, diese Untersuchungen aufgenommen hat, wenn man natürlich auch nicht ohne eine gewisse Zurückhaltung zwischen Pflanzenkrebs und Krebs bei höherstehenden Tieren und dem Menschen Vergleiche ziehen kann; man darf mit großer Aufmerksamkeit der Mitteilung über die Fortsetzung der Untersuchungen (Mäusecarcinom) entgegensehen, die *Winge* in seiner ersten Veröffentlichung ankündigt.

Im folgenden berichten wir über das Ergebnis von Untersuchungen von Mitosen in einem Menschenkrebs, der unter zahlreichen während vieler Jahre untersuchten Carcinomen, besonders der Haut, ausgewählt wurde, weil in ihm ungewöhnlich viele verhältnismäßig große und deutliche Mitosen vorkamen. Wenn die Mitteilung gerade jetzt erscheint, so hängt das damit zusammen, daß die Zahl der Chromosomen und der Verlauf der Mitosen in den somatischen Zellen des Menschen kürzlich von *Kemp* (1929) bei Zellen von mehreren verschiedenen Organen, allerdings ausschließlich Bindegewebszellen, untersucht worden ist; denn man muß natürlich eine genaue Kenntnis der Kernteilungsvorgänge

¹ Man findet ein Schrifttum über diesen Gegenstand auch in einer neuen Arbeit von *K. H. Bauer* (1928).

in normalen Zellen haben, bevor man ihn in pathologisch veränderten Zellen untersucht.

Das untersuchte Geschwulstgewebe stammte von einem schnell wachsenden, bereits inoperablen Wangencarcinom eines 60jährigen Mannes, der 4 Monate später an der Erkrankung starb. Bei der Biopsie wurde vor irgendwelcher Behandlung ein Stück des Geschwulstgewebes entfernt, das sofort fixiert wurde, und an diesem Stück wurde die Untersuchung vorgenommen. Die Geschwulst war ein nichtverhornter, stachelzelliger Krebs, mit breiten und kräftigen, regelmäßig verteilten Epithelzellsträngen (s. Abb. 1). Man fand überall im Epithel zahlreiche Mitosen, häufig lagen sie ganz dicht nebeneinander, und an mehreren Stellen beobachtete man bei mittelstarker Vergrößerung in jedem Gesichtsfeld ca. 10 Mitosen; an anderen Stellen der Geschwulst waren jedoch bedeutend weniger Mitosen. Im Bindegewebsstroma fanden sich keine Mitosen; alle untersuchten Mitosen kamen somit in den Epithelzellen vor.

Bei einer vorläufigen Durchsicht der Präparate zeigte es sich, daß sich eine ganze Menge von Mitosen zur näheren Untersuchung nicht eigneten; entweder sah man die Kernteilungsfiguren nicht in der besten Stellung, oder sie befanden sich in einer Teilungsphase, wo die Zählung unmöglich war; und in einem Teil der Präparate waren die Chromosomen zusammengeklumpt und anscheinend untereinander verschmolzen, so daß die deutliche Unterscheidung der einzelnen Chromosomen unmöglich war, oder die Kernteilungsfigur war vom Mikrotommesser getroffen, so daß man nur einen Teil derselben im Schnitt sah. Aber bei einem nicht ganz geringen Teil der Mitosen waren die einzelnen Chromosomen recht deutlich und lagen ziemlich scharf voneinander getrennt und ein ganz Teil dieser Mitosen wurde näher untersucht, indem sie bei starker Vergrößerung ($2160\times$) mit Abbés Zeichenapparat und dem Papier neben dem Mikroskop auf dem Tisch gezeichnet wurden, so daß die Zeichnung ca. 4500fach vergrößerte. Einzelne Mitosen wurden nebenbei photographiert, soweit es möglich war, ein einigermaßen deutliches Bild dadurch zu bekommen. Bei dieser Untersuchung kam man zu folgendem Ergebnis:

1. Bei einigen Mitosen kann man 47 oder 48 Chromosomen zählen; in ganz vereinzelt Fällen liegen diese deutlich in einer Äquatorialebene angeordnet, und das ganze Bild ähnelt ganz dem, das man in normalem menschlichen Gewebe findet; auf Abb. 2 und 3 ist eine solche Äquato-

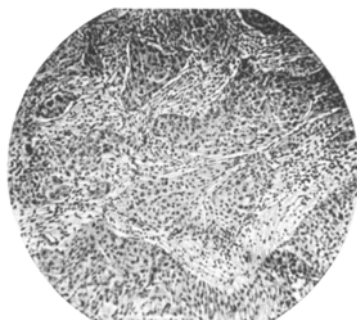


Abb. 1. Übersichtsbild der untersuchten Geschwulst.

rialfläche abgebildet, und man sieht, daß sie einigen Äquatorialebenen von menschlichen Organen ganz ähnelt, wie sie sich in *Kemps* Abhandlung (1929) (z. B. Abb. 11—14 der beregten Abhandlung) abgebildet finden, sowohl bezüglich der Zahl der Chromosomen, ihrer gegenseitigen Lagerung und der Form und Größe der einzelnen Chromosomen.



Abb. 2.

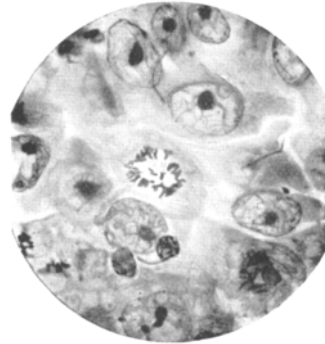


Abb. 3.

Abb. 2. Mitose mit 47 Chromosomen von anscheinend normaler Größe, Form und Lagerung. — Gezeichnet mit Abbés Zeichenapparat, Zeiss Apochromat. Vergrößerung 120mal, Binokular 18mal; das Papier neben dem Mikroskop auf dem Tisch. Alle folgenden Zeichnungen wurden ebenso ausgeführt.

Abb. 3. Mikrophotographie derselben Mitose wie auf Abb. 2. Vergrößerung etwa 550mal (mit Zeiss Phoku genommen).



Abb. 4. Mitose mit 47 Chromosomen in unregelmäßiger Lagerung.



Abb. 5. Mitose mit 95 Chromosomen, anscheinend in der Äquatorialebene gelagert.

In anderen Mitosen, die verschieden häufiger vorkamen, fand sich dieselbe Chromosomenzahl, aber in weit unregelmäßigerer Lagerung (Abb. 4).

2. In zahlreichen Mitosen fand sich eine bedeutend größere Chromosomenzahl; die meisten von ihnen waren so undeutlich, daß sich ihre Anzahl nicht mit Sicherheit bestimmen ließ; in einigen der deutlichsten wurden 94—96 Chromosomen, also tetraploide gezählt, in ganz wenigen fand sich eine Lagerung und Form der einzelnen Chromosomen (s. Abb. 5), die stark an die erinnerte, die man in den diploiden Kern-

flächen des auf Abb. 3 abgebildeten Typs beobachtet. Aber in weit den meisten Fällen war die Lagerung anscheinend ganz unregelmäßig und die Chromosomen klein und kurz. Dieser Mitosetyp war der häufigst vorkommende, und oft fand man, wie erwähnt, 94—96 Chromosomen bei ihm, während man in anderen Fällen nur sagen konnte, daß er 90—100 Chromosomen enthielt. Auf Abb. 6 sieht man die Zeichnung einer solchen Mitose; Abb. 7 ist eine Photographie, wo man mehrere Mitosen dieses Typs nebeneinander sieht, aber sie sind zu groß, als daß man auch nur annähernd alle Chromosomen auf das Photogramm herauf bekäme.

3. In einzelnen Mitosen ließen sich mit Sicherheit weit über 100 Chromosomen zählen, und diese Kernteilungsfiguren waren auch sehr groß, der größte Durchmesser war ca. $28\ \mu$, während der größte Durchmesser der diploiden Mitosen 12 bis $14\ \mu$ war; möglicherweise handelte es



Abb. 6. Mitose mit 94 Chromosomen, unregelmäßig gelagert.

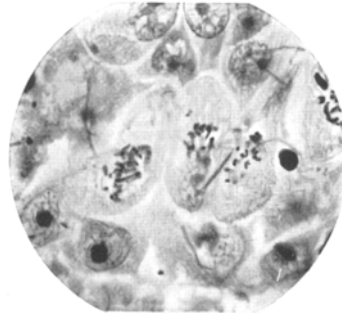


Abb. 7. Mikrophotographie mit mehreren Mitosen; darunter auch die auf Abb. 6 abgebildete. Etwa 550mal vergrößert.

sich um hexaploide Mitosen, aber hierüber kann man sich nicht mit Bestimmtheit äußern. Auf Abb. 8 sieht man eine solche Mitose abgebildet.

4. In einigen Zellen waren die Kerne und die Kernteilungsfiguren bedeutend kleiner als die übrigen, und in einzelnen von ihnen wurden 23 Chromosomen gezählt (Abb. 9, 10 und 11), also eine haploide Chromosombesetzung.

5. In einigen Zellen fanden sich ganz andere Chromosomzahlen als die oben angeführten, aber die Kernteilungsfiguren waren bei keiner dieser Zellen besonders deutlich, und in keinem Falle konnte man mit Sicherheit sagen, daß eine Mitose mit einer Chromosomzahl vorlag, die von den oben erwähnten haploiden, diploiden und tetraploiden abwich. Damit haben wir die Beobachtungen besprochen, die bei dem erwähnten Carcinom gemacht worden sind; da es sich nur um einen ein-

zelen Fall handelt, wollen wir hier keine Erklärung versuchen, wie man die verschiedenen von der Norm abweichenden von uns beobachteten Kernteilungsbilder auffassen muß. Wir wollen nur einige wenige Bemerkungen an die angestellten Beobachtungen anknüpfen.

Wie aus dem Obigen hervorgeht, scheint in bezug auf die Anzahl der Chromosomen in dem untersuchten Carcinom ein gewisses System



Abb. 8. Große Mitose; auf der Zeichnung finden sich 103 Chromosomen, aber man hatte den Eindruck, daß sie in Wirklichkeit noch mehr enthielt.



Abb. 9. Mitose mit 23 Chromosomen.

vorzuliegen, insofern bei den beschriebenen Mitosen vorzugsweise verschiedene Multipla der haploiden Chromosomzahl vorkamen; aber man kann sehr schwer ausschließen, daß nicht auch Mitosen mit ganz anderen Zahlen vorkommen, denn, wie jeder weiß, der sich mit der Zählung von Chromosomen in Säugetier- und Menschenzellen beschäftigt hat, ist es nur bei einem kleineren

Teil der in diesem Gewebe vorkommenden Mitosen überhaupt möglich, eine Zählung vorzunehmen. Bei den meisten in Teilung befindlichen Zellen liegen die Chromosomen nicht derart, daß man die einzelnen mit Sicherheit voneinander unterscheiden kann, und es ist nicht unmöglich, auszuschließen, daß eine anscheinende oder tatsächliche Fragmentation oder Verschmelzung einiger Chromosomen vorliegt. Besonders bei den sehr großen Mitosen, wo, wie erwähnt, weit

über 100 Chromosomen vorhanden sein können, ist die Sache etwas schwierig; man hat manchmal fast den Eindruck, daß, wie *Borst* das nennt, „staubförmig aufgelöste Chromosomen“ vorliegen. Die Sache wird des weiteren dadurch verwickelt, daß die einzelnen Chromosomen besonders in den großen Mitosen oft eine ganz andere Form als in den normalen Zellen haben, indem sie namentlich kurz und plump werden.

Wir erwähnten, daß sich in einigen wenigen Zellen haploide Chromosomzahlen fanden; doch muß hierzu bemerkt werden, daß es in Schnittpreparaten, um die es sich ja hier handelt, immer, selbst wenn man Reihenschnitte benutzt, schwer auszuschließen ist, daß nicht einige Chromosomen bei der Herstellung des Schnitts verloren gegangen sind, namentlich wenn es sich nur um recht wenige Fälle handelt; in diesem Zusammenhang können wir jetzt erwähnen, daß einer von uns auch in im ganzen fixierten Gewebekulturpräparaten von Mäusecarcinom haploide Zellen gesehen hat (*Kemp*; die betreffende Mitteilung soll anderwärts veröffentlicht werden), und



Abb. 10. Mitose mit 23 Chromosomen.

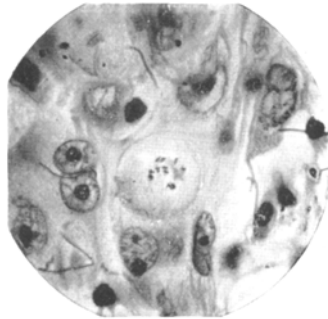


Abb. 11. Dieselbe Mitose wie auf Abb. 10. Mikrophotographie. Etwa 550 fache Vergrößerung.

in solchen Präparaten ist es nach der Art und Weise, wie sie hergestellt sind, ausgeschlossen, daß Chromosomen bei der Präparation verlorengehen. Wir haben solche Chromosomformen wie Tetraeder und ringförmige Chromosomen, die für die heterotypische Reduktionsteilung charakteristisch sind, nicht gefunden. Auch wurde keine paarweise Lagerung der kleinen Mitosen beobachtet, wie man sie zu finden erwarten könnte, wenn sie durch Reduktionsteilungen entstanden wären.

Zum Schluß wollen wir nochmals bemerken, daß wir uns auf Grund der hier gemachten Beobachtungen über die ursächliche Bedeutung der gefundenen Mitoseabnormitäten nicht aussprechen können; unsere Mitteilung ist rein beschreibender Natur.

Zusammenfassung.

Es wurde eine Untersuchung der Mitosen in einem Menschencarcinom vorgenommen, das unter vielen ausgesucht worden war, weil es

ungewöhnlich zahlreiche und deutliche Kernteilungsfiguren enthielt. Die untersuchten Mitosen wurden mit dem jetzt wohlbekannten Bild der Mitosen in normalen somatischen Menschenzellen verglichen.

Dabei fanden sich in Epithelzellen des Carcinoms:

1. Einige diploide Mitosen, wovon einzelne ganz den Mitosen in normalem Gewebe ähnelten, während die meisten etwas unregelmäßigere Lagerung der Chromosomen zeigten.
2. Zahlreiche tetraploide Mitosen sowie einige mit noch höherer Chromosomzahl.
3. Einzelne haploide Mitosen.

Schrifttum.

Bauer, K. H., Mutationstheorie der Geschwulstentstehung. Berlin: 1928. — *Borst, M.*, Sitzgsber. physik.-med. Ges. Würzburg **1910** — Allgemeine Pathologie der malignen Geschwülste. Leipzig: 1924. — *Boveri, Th.*, Zur Frage der Entstehung maligner Tumoren. Jena: 1914. — *Farmer, J. B., J. E. S. Moore* und *C. E. Walker*, Proc. roy. Soc. Med. **22** — Biol. Zbl. **24** (1904). — *Hansemann, D.*, Virchows Arch. **119** (1890); **123** (1891) — Studien über die Spezifität usw. Berlin: 1893 — Die mikroskopische Diagnose der bösartigen Geschwülste. Berlin: 1897. — *Heiberg, K. A.*, Nord. med. Ark. (schwed.) **2** (1908) — Virchows Arch. **234** (1921). — *Jacobj, W.*, Anat. Anz. **63**, Erg.-H. (1927). — *Kemp, T.*, Z. mikrosk.-anat. Forschg **16** (1929). — *Nomikos*, Vgl. Untersuchungen über die Kerngröße, insbesondere bei Carcinom. Inaug.-Diss. Würzburg 1910. — *Teutschlaender* und *H. Schuster*, Z. Krebsforschg **23** (1926). — *Winge, Ö.*, Z. Zellforschg **6** (1927).