

(Aus dem Sasaki-Laboratorium zu Tokio.)

Experimentelle Erzeugung des Lebercarcinoms durch Fütterung mit o-Amidoazotoluol*.

Von

Takaoki Sasaki und Tomizo Yoshida.

Mit 24 Abbildungen im Text.

(Eingegangen am 8. Dezember 1934.)

Einleitung.

Am 5. 4. 34 hat *Sasaki* auf der 9. Generalversammlung der Japanischen medizinischen Gesellschaft einen zusammenfassenden Vortrag über die chemische Morphopathologie gehalten. Unter chemischer Morphopathologie versteht *Sasaki* dasjenige Arbeitsgebiet, das das pathologische Geschehen — hervorgerufen durch eine chemisch genau gekennzeichnete Substanz — morphologisch darzustellen und vom chemischen Gesichtspunkt aus weiter zu ordnen sucht. Freilich spielt die experimentelle Untersuchung mit Versuchstieren dabei eine wesentliche Rolle. Allerdings könnte man auch Vergiftungsfälle und sonstige pathologische Beobachtungen bei Menschen unter diesen Gesichtspunkt fassen und noch weitere Aussichten eröffnen. So fallen z. B. die mit verschiedenen Substanzen aus Steinkohlenteer ausgeführten Versuche^{1, 2}, irgendein carcinogenes Agens ausfindig zu machen, zu denen die bahnbrechende Arbeit von *Yamagiwa* und *Ichikawa*⁶ die Anregung gab, meist unter den Begriff der chemischen Morphopathologie. Bei diesem Arbeitsgebiet steht die Organbezüglichkeit (Organotropie im weiteren Sinne) der betreffenden Substanz wohl an erster Stelle. In der Tat hat *I. Wake*⁴ im hiesigen Laboratorium experimentell histopathologisch festgestellt, daß 3-Aminohydrocarbostyryl als ein eigenartiges „amyostatisches“ Gift³ durch die Einverleibung einer geeigneten Dosis bei Kaninchen vorwiegend Pallidum und *S. nigra* angreift. *Yoshida*⁷ hat schon in dieser Zeitschrift mitgeteilt, daß o-Amidoazotoluol bei subcutaner Einspritzung eine augenfällige Thyreotropie zeigt, und zwar Epithelmetaplasie der Schilddrüse bei Meerschweinchen hervorruft.

Dem zuerst von *Nietzki* (1877) dargestellten o-Amidoazotoluol (o-Toluol-azo-o-Toluidin), der Hauptkomponente des Biebricher Scharlachs, kommt bekanntlich eine epithelisierende Wirkung zu, während sein diacetyliertes, entgiftetes Derivat jetzt arzneiliche Verwendung findet.

* Diese Arbeit ist gleichzeitig II. Mitteilung von „Beiträge zur Kenntnis der chemischen Morphopathologie“ aus unserem Laboratorium. I. Mitt. (Versuche mit 3-Aminohydrocarbostyryl) im Druck. Jap. J. med. Sci., Path. 2, Nr 3 (National research council of Japan).

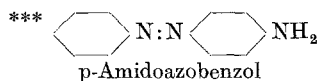
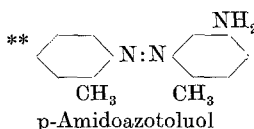
Wird dieses o-Amidoazotoluol dem Tierkörper einverleibt, so fragt sich: Welche Organotropie wird sich zeigen, und was für morphologische Veränderungen wird seine einerseits mehr oder weniger vernichtende, andererseits epithelisierende Wirkung hervorrufen? Das Studium dieser Wirkungen mit besonderer Berücksichtigung der Organbezüglichkeit mag hinsichtlich der pathologischen Histologie von Interesse sein. Unter dieser Fragestellung haben wir die experimentelle Untersuchung mit o-Amidoazotoluol begonnen.

Zuerst wurde den Tieren die Olivenöllösung der Substanz einverleibt. Der subcutane Injektionsversuch ergab ein merkwürdiges Resultat. Die Substanz zeigte eine deutliche Thyreo- und Hepatotropie^{8, 9}. Außerdem kamen in der Versuchsreihe mit Ratten einige Hautcarcinomfälle vor. Die Mitteilung der Injektionsversuche wird demnächst in der japanischen Zeitschrift für Krebsforschung Gann (jap.) erfolgen.

Dieses Ergebnis hat uns nun veranlaßt, die Substanz an kleinen Versuchstieren in geeigneter Versuchsweise, vor allem per os, noch längere Zeit einwirken zu lassen. Vorläufig unternahmen wir den Fütterungsversuch an der Ratte, die sich unter verschiedenen Tieren als zu diesem Versuch am besten geeignet erwiesen hatte. Und nach Experimenten von 11 Monaten Dauer konnten wir an ihr die Entwicklung eines typischen Leberzellenkrebses, Hepatoms*, feststellen¹⁰. Unter 26 Fällen entwickelte sich das Hepatom ausnahmslos bei den 4 Fällen, die über 9 Monate überlebt hatten. Wir unternahmen von neuem mit zahlreichen Tieren weitere Experimente, um den Entwicklungsprozeß dieses Hepatoms noch genauer zu verfolgen. Das Ergebnis wird im folgenden mitgeteilt. Vergleichende Fütterungsversuche mit p-Amidoazotoluol (o-Toluol-azo-p-Toluidin)** — an 20 weißen Ratten; bis zum 476. Tage — und p-Amidoazobenzol*** — an 16 weißen Ratten; bis zum 449. Tage — wurden genau in gleicher Weise wie bei denen mit o-Amidoazotoluol, und zwar parallel mit den Versuchen mit letzterem durchgeführt. Durch die zwei genannten Substanzen wurde jedoch im Gegensatz zu o-Amidoazotoluol keine faßbare Organbezüglichkeit, und zwar keine erkennbare Veränderung der Leber, abgesehen von einigen leichten regressiven Veränderungen, hervorgerufen, wobei die betreffenden Tiere infolge der allgemeinen Schwäche schließlich zugrunde gingen. In Anbetracht der chemischen Konstitution dieser drei Substanzen ist das Ergebnis dieser

* Im folgenden ist nach der in Japan gebräuchlichen Bezeichnung mit Hepatom jedesmal der Leberzellenkrebs, mit Cholangiom das von Gallengangsepithelien abzuleitende Carcinom gemeint [vgl. Yamagiwa dieses Archiv 206, 437 (1911)].

Rössle.

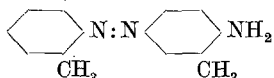


vergleichenden Untersuchungen von gewissem Interesse. Nebenbei sei erwähnt, daß Diazoamidobenzol im Gegensatz zu o-Amidoazotoluol bei gleicher Applikationsweise an kleinen Versuchstieren keine bemerkbare Veränderung der Leber, sondern merkwürdigerweise fast regelmäßig eine so auffallende papillomatöse Wucherung am Vormagen hervorruft, daß man an *Fibigers* Spiropterakrebs erinnert wird (bearbeitet von *I. Otsuka* und vorläufig von *Sasaki* in seinem Vortrag mitgeteilt). Weitere experimentelle Untersuchungen mit verschiedenen chemischen Substanzen sind im hiesigen Laboratorium im Gang.

Versuche mit o-Amidoazotoluol.

Versuchsordnung.

Substanz. o-Amidoazotoluol (o-Toluol-azo-o-Toluidin)



Versuchstier. Die weiße Ratte (*Rattus norvegicus* var. *albus Fitzinger*).

Art und Weise der Einverleibung. 1 g Substanz wird in 19 g Olivenöl warm aufgelöst (5%ige Lösung). 2 g dieser Lösung werden mit 98 g unpoliertem Reis (Genmai) vermischt. 1 g Reisfuttermischung enthält also 1 mg Substanz. Die Reiskörner werden vorher grob zerbrochen, um das Vermischen mit der Öllösung zu erleichtern.

Das Versuchstier wird ausschließlich mit dem in dieser Weise hergestellten Reisfuttermischung ernährt, unter täglichen Beigaben von Grünfutter in genügender Menge. Die täglich einverleibte Substanz wird durch Wägen des Futterrestes berechnet.

Aufstellen der Versuchsreihen.

A. 1. und 2. Versuchsreihe.

Bei diesem Versuch beabsichtigten wir vor allem, den Werdegang des Hepatoms stufenweise zu verfolgen. Da das Hepatom beim vorhergehenden Versuch sich am 270. Tage sicher entwickelt hatte, beschlossen wir beim diesmaligen Versuch, die Leberveränderung bis zum 300. Tage stufenweise zu verfolgen und töteten die Tiere (jedesmal 3 Tiere) je nach 15 Versuchstagen (1. Versuchsreihe).

Parallel mit dieser stufenweisen Beobachtung der Zustandsbilder der Leberveränderung stellten wir auch eine andere Versuchsreihe auf, bei der an Stelle des Abtötens der Tiere zu den entsprechenden Zeiten mit der weiteren Zufuhr des Reisfuttermischung der Substanz aufgehört wurde, um zu beobachten, welche Veränderungen — gegenüber der 1. Versuchsreihe betrachtet — die Leber durch das stufenweise Aussetzen der Substanzzufuhr schließlich erfahren würde (2. Versuchsreihe).

Um diese 2 Versuchsreihen auszuführen, stellten wir die Tiere wie folgt auf:

Für 300 weiße Ratten wurde Fütterung der Substanz angesetzt und durchgeführt. Von dieser Tierreihe wurden an jedem 15. Versuchstage 6 Tiere nach Belieben entnommen; 3 davon wurden für die 1. Versuchsreihe getötet, während die anderen 3 Tiere für die 2. Versuchsreihe verwendet wurden.

Tatsächlich aber begann die 2. Versuchsreihe, der Unterbrechungsversuch der Fütterung, erst am 60. Tage. Also wurden in den ersten je 15 bis zum 45. Tage nur 3 Tiere entnommen und alle für die 1. Versuchsreihe abgetötet. Außerdem wurden für die 1. Versuchsreihe 3 Tiere am ersten 7. Tage abgetötet, um eine gewisse früheste Veränderung zu beobachten.

Die 1. Versuchsreihe besteht also im ganzen aus 63 Tieren (Nr. 1—63) in 21 Gruppen (jedesmal 3 Tiere am 7., 15., 30., 45. bis 300. Tage abgetötet), während die 2. Versuchsreihe 51 Tiere (Nr. 64—114) 17 Gruppen umfaßt (bei denen jedesmal 3 Tiere am 60., 75., 90., 105. bis 300. Tage mit der weiteren Zufuhr der Substanz ausgesetzt und weiterhin gewöhnlich gefüttert wurden).

Bei der 2. Versuchsreihe wurden die Tiere nach dem Aufhören der weiteren Einverleibung der Substanz ganz wie gewöhnlich ernährt und gepflegt, um möglichst lange am Leben gehalten zu werden. Sie wurden in der Regel nach langem Überleben im Zustande der sterbenden Schwäche abgetötet. Bei einigen Tiergruppen wurde aber gelegentlich eins von 3 Tieren in munterem Zustande getötet und die Leberveränderung untersucht.

Nun sind noch 186 Tiere (Nr. 115—300) nach Entnahme der 114 (63 + 51) aus 300 Tieren für die zwei genannten Hauptreihen Nr. 1 und 2 übrig. Wir fassen diese Tiere als Ersatzreihe zusammen. Die große Mehrzahl dieser 186 Tiere sind natürlich im Verlauf des Versuchs gestorben. Alle diese vor Beendigung des Versuchs gestorbenen Tiere wurden auch histologisch untersucht und konnten als Ergänzung zur 1. Versuchsreihe dienen, da sie bei Vergleich mit den absichtlich getöteten Fällen auch entsprechende Veränderungen zeigten, indem die genügend lang überlebten Tiere immer die Carcinombildung der Leber zeigten.

B. 3. Versuchsreihe (Nr. 301—360).

An 60 weißen Ratten wurde ein anderer Versuch angestellt, bei dem die Beziehung zwischen der Carcinombildung und der Einverleibungsdosis beobachtet wurde. Die Einverleibungsdosis wurde bei diesem Versuch wie folgt vorgeschrieben:

a) 2 g 7,5%iger Lösung werden mit 98 g Reiskörner in ganz der gleichen Weise wie oben erwähnt vermischt. Das bereitete Reisfuttermisch enthält also in 1 g 1,5 mg Substanz.

b) Das gleiche Gemisch, das bei den obigen Versuchsreihen gebraucht wurde, also in 1 g 1 mg Substanz.

c) 2,5%ige Lösung wird in gleicher Weise vermischt. Dieses Reisfuttermisch enthält in 1 g 0,5 mg Substanz.

Alle Tiere wurden anfangs mit c gefüttert. In zwei Monaten starben die Hälfte der Tiere. (Vielleicht war die Sterblichkeit so hoch, weil die Tiere sehr jung waren. Das erwachsene Tier geht in der Regel an dieser Dosis nicht zugrunde.) Dann wurden die übrig gebliebenen 30 Tiere in zwei Gruppen eingeteilt. Bei der einen Gruppe (17 Tiere) wurde die Dosis auf b, und nach weiteren 2 Monaten auf a gesteigert. Die Fütterung mit a wurde bis zum Ende fortgesetzt. Die andere Gruppe (13 Tiere) wurde dauernd mit c gefüttert.

Kontrolle mit 40 Tieren (Nr. 361—400).

Als Kontrolle dienten 40 Tiere. Bei 20 unter diesen 40 Fällen wurde Befahrung mit *Cysticercus fasciolaris* gefunden. Spontane Lebergeschwulst wurde bei keinem Falle gefunden.

1. Versuchsreihe.

Stufenweise Beobachtung der Entwicklung des experimentellen Lebercarcinoms.

Bei Durchsicht der Ergebnisse dieser Versuchsreihe fällt vor allem auf, daß das Lebergewicht bei den meisten Fällen deutlich zugenommen hat. Das Lebergewicht pro 10 g Körpergewicht beträgt bei den Kontrolltieren durchschnittlich 0,4—0,5 g. Bei den Versuchsfällen dagegen überschreitet das Lebergewicht diesen Kontrollwert schon am 7. Tage, und

zwar ist der Wert 0,61—0,73 g. Nachher ist dieses Gewicht fast bei allen Versuchsfällen größer als 0,5 g und erreicht bisweilen 0,8—0,9 g, gar nicht zu sprechen von dem außerordentlich großen Gewicht der carcinomtragenden Fälle.

Histologische Befunde.

A. Schrittweise Veränderungen des Leberparenchyms; stufenweise Verfolgung der Hepatomentwicklung. Am 7. Tage. Im Vergleich mit den Kontrolltieren ist keine nennenswerte Veränderung zu finden.

Am 15. Tage. Bei allen 3 Fällen sind die Mitosen vermehrt, besonders in der Peripherie der Acini. Zugleich kommt die beginnende Wucherung der Leberzellen zum Vorschein, die immer den periportalen Feldern dicht anliegend zu treffen ist (Abb. 1). Die Zellen dieser Herde sind auffallend dunkel, da das Cytoplasma deutlichen

Hämatoxylinfarbton zeigt. Keine sonstigen Veränderungen, d. h. weder Degenerations- noch Entzündungszeichen sind zu sehen.

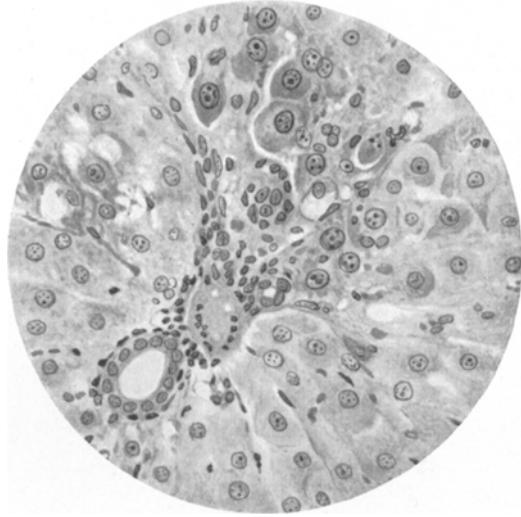


Abb. 1 (Nr. 6; 15 Tage). Beginnende Leberzellenhyperplasie. (Formalinfixierung; Hämalaun-Eosinfärbung. Ebenso bei allen nachfolgenden Abbildungen.)

Am 30. Tage. Die hyperplastischen Herde der Leberzellen sind auffallend ausgebreitet (Abb. 2).

Am 45. Tage. Stellenweise kommt Hypertrophie der hyperplastischen Zellen vor, gelegentlich in Begleitung von reichlichen Mitosenfiguren (Abb. 3).

Am 60. und 75. Tage. Nur die zentrale Zone des Acinus ist von dem hyperplastischen Vorgang verschont. Die Zellbalken dieses zentralen Bezirkes sind mehr oder weniger schmal geworden und die Blutcapillaren erweitert. In den anderen Teilen liegen die Leberzellen dicht aneinander, und die Zellordnung ist durch die lebhaft Hyperplasie deutlich zerstört. Die zentralen und peripheren Teile des Acinus stellen somit ein deutliches Kontrastbild dar. Auch das Verhalten der Faserstruktur ist wohl zu beachten. In dem zentralen Teil sind die radiär angeordneten Zellbalken durch ein feines Gitterfasernetz in typischer Weise umspinnen; im peripheren zellreichen Teil sind die Gitterfasern relativ vermindert; spärliche

Faserstückchen verlaufen unregelmäßig zwischen den dicht anliegenden Leberzellen. Das weist deutlich auf die alleinige überstürzte Hyperplasie der Leberzellen ohne Begleitung des Stützgewebes hin.

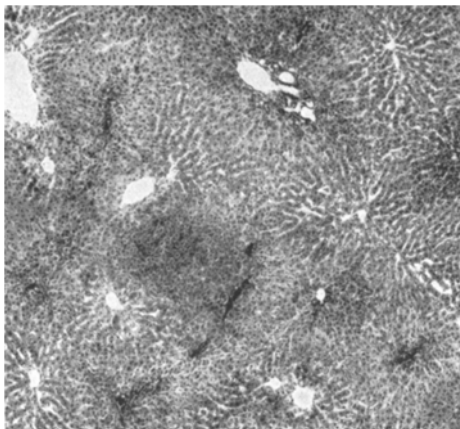


Abb. 2 (Nr. 9; 32 Tage). Diffuse Hyperplasie der Leberzellen. Die hyperplastischen Zellen auffallend dunkel (Basophilie des Cytoplasmas).

Der Zelleib der hyperplastischen Zellen zeigt bald deutlichen Hämatoxylinfarbton, bald nicht, und dieser Farbton nimmt in der Regel umgekehrt mit der Zunahme der Zellgröße (Hypertrophie) stufenweise ab. Stellenweise tritt die deutliche Verschiedenheit der Kerngröße in Begleitung von reichlichen Mitosenfiguren hervor. An diesen Stellen ist das Cytoplasma im allgemeinen hell und vakuolisiert, so daß ein heller Herd dadurch entsteht.

Am 90. Tage. Ausgedehnte Hyperplasie, und nur sehr kleine Bezirke um die Zentralvenen bleiben verschont. In den Zellsträngen der hyper-

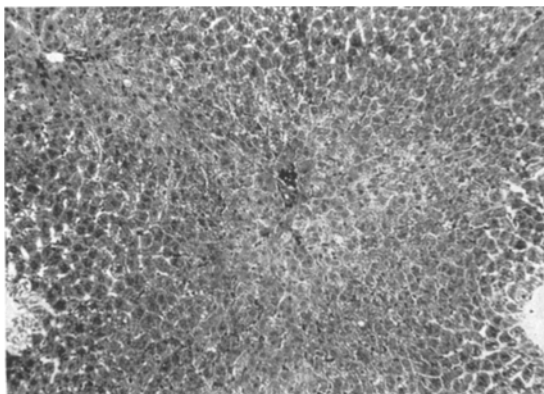


Abb. 3 (Nr. 10; 45 Tage). Im Zentrum des Bildes kleines periportales Feld. Unten rechts und links Zentralvenen. Auffallende Hyperplasie der Leberzellen in dem peripheren Teil des Acinus; Zentralteil verschont. Die hyperplastischen Zellen hypertrophisch und aufgebläht.

plastischen Herde finden sich gelegentlich einige außerordentlich hypertrophische Zellen eingeschaltet, die bisweilen auch Gruppen bilden. Auffallenderweise kommen daneben hier und da große, schon makroskopisch erkennbare Herde zum Vorschein (Abb. 4). Diese sind im Übersichtsbilde gut umgrenzte Herde und lassen bei der genaueren Untersuchung stellenweise einen Übergang zu den umgebenden Zellsträngen erkennen.

Die Zellen dieser Herde sind groß und hell und manchmal alveolär angeordnet; einige nehmen auch tubuläre Form an und lassen das spalt- oder sternförmige drüsige Lumen erkennen, ein Gebilde, das

an die sog. „Hepatomrosette“ erinnert. Die Herde sind dicht mit Zellen angefüllt, die Blutcapillaren kommen kaum zutage. An der Grenzzone sind die umgebenden Zellbalken platt und bogenförmig gedrückt.

Wir möchten diesen knotigen Herd vorläufig „parenchymatöses Leberadenom“ benennen und diesen Namen auf den knotigen oder circumscribten hyperplastischen Herd beschränkt anwenden.

Am 105. Tage. Überall auffallend reichliche Mitosenfiguren. Die hyperplastischen Zellen finden sich stellenweise auffallend dicht angeordnet vor, und die Zellpolymorphie tritt dabei besonders deutlich zutage. Nicht selten finden sich 2—3fach so große Kerne wie normal, mitunter bohnenförmig umgestaltete Kerne. Die Kerne sind im allgemeinen scharf konturiert und reich an Chromatin. Hier und da parenchymatöse Adenome aus großen hellen Zellen.

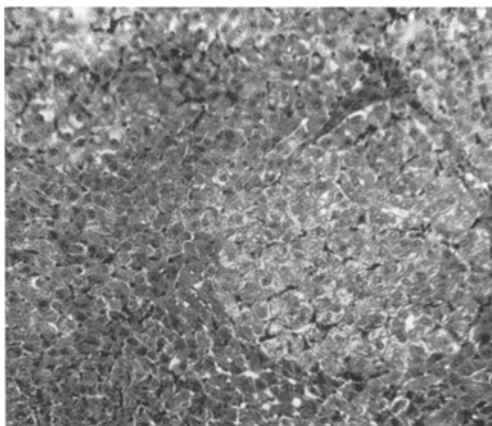


Abb. 4 (Nr. 19; 92 Tage). Das parenchymatöse Leberadenom. Die Adenomzellen zeigen hier und da die drüsige Anordnung. Unten: Das umgebende Lebergewebe (deutlich hyperplastisch) verdrängt. Oben: Allmählicher Übergang in den Herd der nicht scharf begrenzten Hyperplasie (mit Hypertrophie).

Am 120. Tage. Merkwürdig ist in den hyperplastischen Herden, daß bei einigen Zellgruppen die Zellgrenzen außerordentlich scharf hervortreten, so daß einzelne Zellen polygonal gestaltet sind und die strangartige Ordnung ganz verloren geht. Daß die Zellgröße dieser Zellen meist zugenommen hat und das Cytoplasma noch deutlichen Hämatoxylinfarbton zeigt, ist augenfällig (Abb. 5). Die Zellen ordnen sich bisweilen alveolär und haben Endothelüberzug.

Am 135—150. Tage. In den diffusen hyperplastischen Herden fallen an einigen Stellen besondere Bezirke auf, in denen ausgeprägte Kernpolymorphie, mit reichlichen Mitosen vermengt, zu sehen ist. Riesenerne und umgestaltete Kerne kommen zugleich vereinzelt vor. Die Kerne sind scharf konturiert und reich an Chromatin, das Cytoplasma (mit Hämatoxylinfarbton) ist deutlich vakuolisiert.

Diese stellenweise herdförmig auftretenden Veränderungen weisen deutlich darauf hin, daß in dem diffusen hyperplastischen Herde hier und da einige Zellgruppen sich finden, die eine besonders starke Wucherungstendenz zeigen und sozusagen die Wucherungszentren bilden. An diesen Stellen wird auch die Entstehung des typischen Adenoms beobachtet.

Die Adenomzellen waren vorher fast immer groß und hell, aber in diesem Stadium erscheinen andersartige Adenome, welche entweder aus kleineren Zellen oder aus mittelgroßen dunklen Zellen bestehen. Daneben wird herdförmige Verfettung der hyperplastischen Herde deutlich sichtbar.

Am 165.—180. Tage. Von diesem Stadium liegt ein Schnittpräparat vor, in dem alle bisher geschilderten Veränderungen nebeneinander liegend und in stark ausgeprägtem Maß zu sehen sind; bald finden sich die kleinen dunklen Zellen dicht angehäuft vor, bald die hypertrophischen

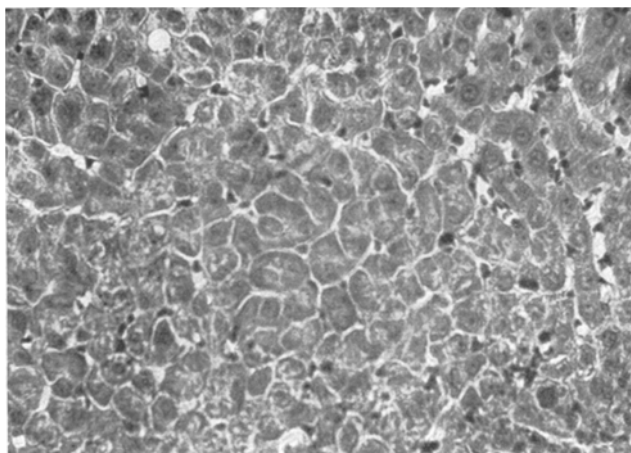


Abb. 5 (Nr. 27; 122 Tage). Im zentralen Teil des Bildes die Zellgrenzen außerordentlich scharf. Die Zellen hypertrophisch und mosaikartig angeordnet.

Zellen mehr locker angeordnet, und die Zellgrenzen treten stellenweise außerordentlich scharf hervor. Zahlreiche Mitosen sind überall zu sehen. Auffallend große Zellen liegen dazwischen. Einige Adenome lassen die Kernpyknose oder die Kernschattenfiguren erkennen, indem kleinere in lebhaft wuchernde Zellen sich dazwischen vorfinden. Das histologische Bild dieses Adenoms zeigt also ein buntes Aussehen. Einige Adenome sind dem fast totalen Untergang nahe. Die in degenerative Veränderungen geratenen Adenomzellen sind meist die großen hellen Zellen.

Am 195. Tage. Ganz ähnliche Veränderungen wie die vorigen, nur daß die Zellpolymorphie noch deutlicher zutage tritt. Die zahlreichen Adenome zeigen mannigfaltige Bilder. Bei einigen Adenomen weisen die hypertrophischen Zellen meistens regressive Veränderungen auf, während die kleineren dunklen Zellen mit scharf konturierten chromatinreichen Kernen versehen sind und augenscheinlich sich in lebhafter Wucherung befinden. Bei anderen Adenomen nehmen die wuchernden

Zellen gegenüber den untergehenden Zellen überhand, um schließlich infiltrativ in die Umgebung vorzudringen.

Bei einem unter 3 Fällen dieses Stadiums sind schon typische Hepatome entwickelt. Zwei Knoten davon finden sich nebeneinander liegend im Lobus caudatus (Abb. 6). Diese Tumoren sind verhältnismäßig gut begrenzt und lassen in ihrem histologischen Aufbau eine deutliche Dreischichtung erkennen. Von außen nach innen gesehen: ein atrophisches

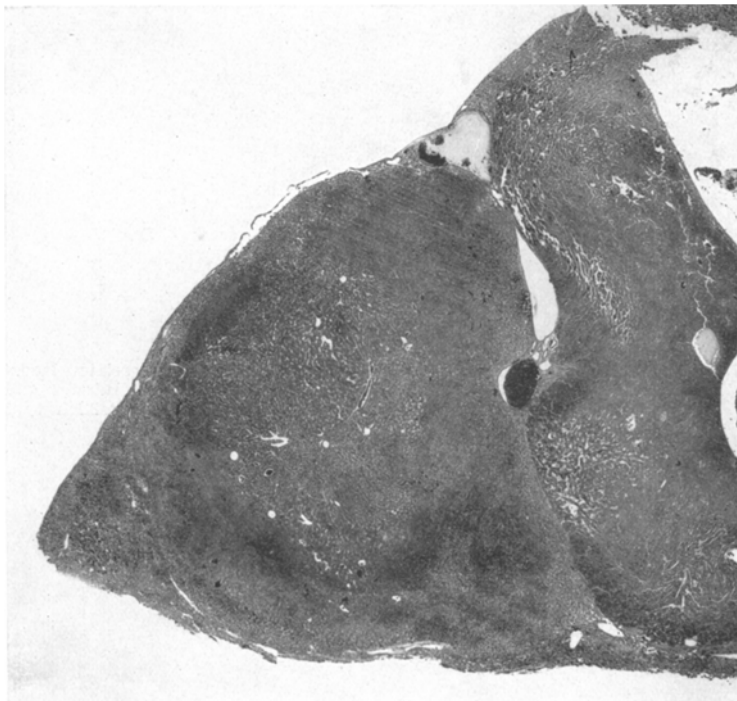


Abb. 6 (Nr. 42; 196 Tage). Zwei beginnende Hepatomknoten im Lobus caudatus.

destruiertes Adenomgewebe, dann eine dichte Schicht von unversehrten dunklen Adenomzellen und schließlich im zentralen Teile das typische Hepatomgewebe, in dem die Zellen in der Form vielfach gewundener Zellstränge von verschiedener Breite angeordnet sind (Abb. 7). Sie haben den typischen Endothelüberzug. Die Blutcapillaren bilden durch die Windungen und Verdickungen des Parenchyms unregelmäßige Bluträume, also das charakteristische Stroma des Hepatoms. Auffallende Polymorphie der Hepatomzellen mit reichlichen Riesenzellen und Mitosenfiguren ist bei der stärkeren Vergrößerung des in der rechten Hälfte der Abb. 6 gezeigten Tumors zu sehen. Dieser Tumor wächst in die Blutbahn ein (Abb. 8).

Am 210.—240. Tage. Die Zellen in den diffusen hyperplastischen Herden haben stellenweise eine eigentümliche Ordnung. Sie zeigen eine

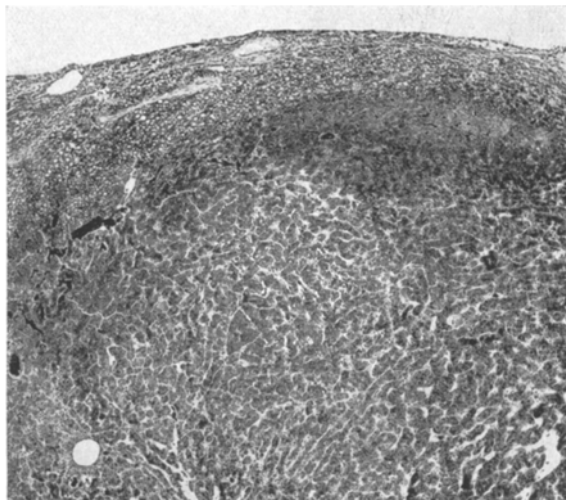


Abb. 7 (Nr. 42; 196 Tage). Randpartie eines Knotens des in Abb. 6 gezeigten Hepatoms. Von oben nach unten gesehen: Dünne Schicht des Lebergewebes, destruiertes Adenomgewebe (deutlich vakuolisiert), zellreiche Schicht (des Adenoms), schließlich typisches Hepatomgewebe.

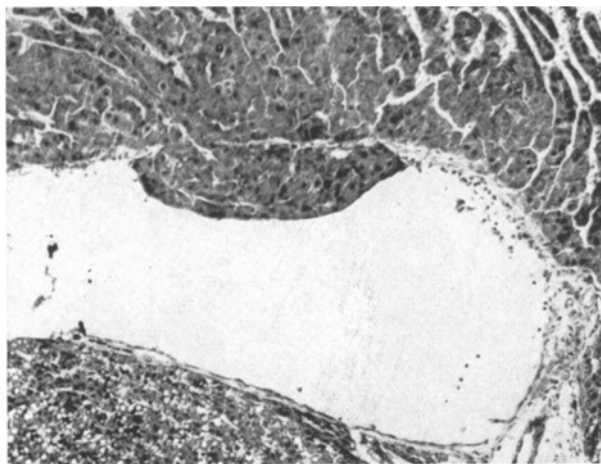


Abb. 8 (Nr. 42; 196 Tage). Wachstum in die Blutbahn des in Abb. 6 gezeigten Hepatoms.

deutliche trabeculäre Anordnung von stellenweise verschiedener Dicke und die Blutcapillaren sind verschieden stark erweitert. Ein dem Hepatom äußerst ähnliches histologisches Bild ist damit hergestellt. Dazu kann man noch bisweilen die Rosettenbilder in diesen Teilen feststellen.

Gelegentlich treten an diesen Stellen einige auffallend hypertrophische Zellen auf. An einer anderen Stelle bilden die so gearteten Zellen einen deutlichen knotigen Herd, der schon makroskopisch erkennbar ist und histologisch ein Hepatom darstellt. Wieder an einer anderen Stelle derselben Leber ist ein größerer Hepatomknoten von gleichartigen Zellen gebildet.

Am 240. Tage kann man bei 2 unter 3 Fällen das typische Hepatom feststellen.

Bemerkenswert ist, daß in diesem Stadium die diffusen hyperplastischen Herde stellenweise in ihrer Zellordnung und in dem Verhalten von Parenchym und dem Blutcapillarennetz sich dem Hepatombilde weitgehend nähern. Die Adenomknoten, welche auf diesem Boden entstehen, sind in ihrem histologischen Aufbau von dem typischen Hepatom schwer zu unterscheiden. Im vorigen Stadium war zu beobachten, daß die Hepatomentwicklung durch die carcinomatöse Entartung des Adenoms zustande kam. In diesem Stadium aber zeigt manch ein Adenom schon von Anfang an das Hepatombild. Es besteht also zwischen der als parenchymatöses Leberadenom bezeichneten Veränderung und dem fertigen Hepatom ein Übergang, d. h. diese Adenome können je nach ihrem Entwicklungsstadium von verschiedenem Charakter sein, um schließlich ganz fließend in das Hepatom, eine maligne Neubildung, überzugehen.

Am 255.—300. Tage. Bei diesen 4 Gruppen sind die schon makroskopisch augenfälligen Hepatome ausnahmslos bei allen Fällen entwickelt. Bei 2 Fällen sind Hepatom und Cholangiom kombiniert.

Kurz zusammengefaßt. 1. Am 15. Versuchstage wird eine deutliche Hyperplasie der Leberzellen bemerkt, ohne daß ein vorangehender Untergang des Gewebes sich feststellen läßt. Diese Hyperplasie wird nicht von anderen Veränderungen wie Entzündung oder Vermehrung der Bindegewebelemente begleitet. Sie ist also als eine primäre und von Anfang an einseitige Wucherung der Leberzellen anzusehen.

2. Diese diffuse Hyperplasie schreitet mit den Versuchstagen immer weiter fort und führt durch die schubweise Entstehung immer neuer Zellen zu einem bunten Leberbild, indem Leberzellen verschiedener Phasen der blastomatösen Entartung unregelmäßig gemischt sind. Außerdem zeigen sich darin einige zur weiteren dysplastischen Wucherung besonders disponierte Zellen. Sie bilden durch ihre überragende Wachstumstendenz einen circumscripten, knotigen — also selbständig wachsenden Herd (parenchymatöses Leberadenom). Dieses Adenom ist schon makroskopisch als weißer Fleck wahrnehmbar.

3. Die noch weitergehende Wucherung dieser selbständig gewordenen Zellen (Adenomzellen) führt schließlich zur typischen Hepatombildung, worunter wir eine bösartige Leberzellengeschwulst verstehen.

4. Das experimentelle Hepatom entwickelt sich nur durch die immer fortschreitende Wucherung der Leberzellen. Es gibt keine erkennbaren

andersartigen, vorangehenden oder begleitenden Veränderungen, welche mit der carcinomatösen Entartung in wesentlichem Zusammenhang zu stehen scheinen. Das experimentelle Hepatom kommt ganz schrittweise zustande. Bei dieser Versuchsreihe wurde das früheste Hepatom am 195. Tage bemerkt, und zwischen dem 255.—300. Versuchstage entwickelte sich das typische Hepatom ausnahmslos bei allen Fällen.

B. Veränderung der Gallengänge. Am 30. Tage tritt eine leichte Hyperplasie der Gallengangsepithelien derart in Erscheinung, daß 2—3reihige Epithelien, von Gitterfaservermehrung begleitet, stellenweise in das

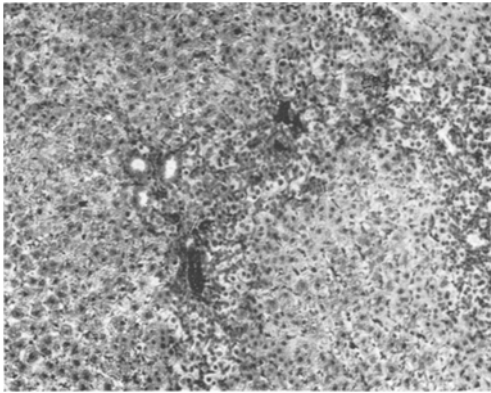


Abb. 9 (Nr. 12; 45 Tage). Hyperplasie der Gallengangszellen. Links: Typische tubuläre Gebilde.

Parenchym vordringen. Sie können auch bisweilen heterotopisch deutliche tubuläre Gebilde formen (Abb. 9). Ein Fall vom 180. Tage (Nr. 38) läßt einen deutlichen hyperplastischen Herd erkennen, dessen Epithelien abnorm hochzylindrisch und mehrschichtig geworden sind. Sie wuchern papillär in das mehr oder weniger erweiterte Lumen hinein, oder auch sprossenartig in die Umgebung.

Die Hyperplasie der Gallengangsepithelien geht aber nicht immer Hand in Hand mit dem Versuchstage, und sogar am 280. Tage kann die Gallengangsveränderung, in deutlichem Gegensatz zur konstanten und immer fortschreitenden Wucherung der Leberzellen, fast vollständig fehlen. Es ergibt sich also kein erkennbarer Zusammenhang zwischen beiden hyperplastischen Prozessen.

Die atypische bzw. blastomatöse Wucherung der Gallengangsepithelien wird sehr häufig entweder im Hepatomgewebe oder an dem Hepatom direkt anliegenden Stellen bemerkt. Und da die typischen Cholangiome nicht nur selten, sondern fast immer mit dem ausgebildeten Hepatom kombiniert gefunden werden, ist es schwer zu entscheiden, ob die von Anfang an vorhandene Gallengangswucherung sich selbständig zum Gallengangskrebs entwickeln kann.

Nach alledem ist es also das Hepatom, das sich bei diesem Versuch regelmäßig entwickelt. Das Cholangiom wird nur gelegentlich, neben dem Hepatom, beobachtet. Der Entwicklungsgang des Cholangioms läßt sich nicht wie der des Hepatoms stufenweise verfolgen*.

* Bei dem Vorversuch der Fütterung an Ratten beobachteten wir bei einer Ratte eine deutliche Bindegewebswucherung und bei einigen anderen Tieren Gallen-

2. Versuchsreihe — Unterbrechungsversuch.

Das Ergebnis dieser Versuchsreihe ist folgendes:

Das erste Hepatom findet sich beim Tier Nr. 72 vor. Das Tier war 92 Tage lang mit der Substanz gefüttert und hat nach dem Aussetzen der Fütterung 357 Tage überlebt. Es zeigt ein erbsengroßes Knötchen von typischem Hepatomcharakter.

Bei der Tiergruppe mit 135tägiger Fütterung (Nr. 79—81) sind bei 2 Fällen typische große Hepatome (großes Lebergewicht) entwickelt. Diese Tiere haben 291 bzw. 338 Tage nach dem Aussetzen der Fütterung überlebt. Das Tier Nr. 79, das früher (am 90. Tage nach Aussetzen der Fütterung) absichtlich getötet wurde, zeigt noch keine Hepatomentwicklung.

Auch in anderen nachfolgenden Gruppen ist das gleiche Verhalten zu beobachten, d. h. deutliche Carcinome treten erst bei langem Überleben nach dem Aussetzen der Einverleibung der Substanz (bisweilen gegen 10 Monate) auf.

Bei den Fällen von über 225tägiger Fütterung ist das Carcinom zu jeder Zeit nach dem Aussetzen der Fütterung zu finden. Dies stimmt mit den Ergebnissen der 1. Versuchsreihe gut überein. Das Hepatom begann bei der 1. Versuchsreihe nach 195tägiger Fütterung aufzutreten.

Nach alledem ist es eine merkwürdige Tatsache, daß das Hepatom bei diesem Unterbrechungsversuch, mit der 1. Versuchsreihe verglichen, nach deutlich kürzerer Fütterungsdauer entstand. Demnach kann man wohl sagen, daß, wenn die Fütterung bis zu einem gewissen Stadium der hyperplastischen Vorgänge fortgesetzt wird, das Hepatom sich allmählich aus sich selbst entwickelt, auch wenn die Fütterung aufhört. Die Grenze der nötigen Fütterungsdauer liegt bei etwa 4 Monaten.

In der 1. Versuchsreihe wurde die Zellpolymorphie bei etwa 4 bis 5 Monaten auffallend deutlich und das Adenom immer reichlicher. Das Adenom in diesem Stadium war aber hinsichtlich der histologischen Befunde nicht ohne weiteres für bösartig zu halten. Aber aus den eben genannten Ergebnissen der 2. Versuchsreihe ist zu ersehen, daß das typische Carcinom aus der Veränderung dieses Stadiums sich bei langer Zeitdauer unter normalen Lebensbedingungen allmählich entwickelt.

gangswucherung, die auch von Bindegewebswucherung begleitet wurde. Diese anscheinend primäre Bindegewebswucherung war uns zuerst bemerkenswerter als die des Parenchyms, das beginnende Hyperplasie zeigte. Sie erinnerte an das Anfangsstadium der annulären Lebercirrhose. Wir berichteten über diese Befunde vorläufig bei der Japanischen Pathologischen Gesellschaft [Trans. jap. path. Soc. 22, 937 (1932)]. Aber durch die nachfolgenden Versuche wurde klargelegt, daß diese auffallende Bindegewebswucherung nicht regelmäßig ist. Sie gehört vielmehr zu den seltenen Befunden. Bei dem diesmaligen systematischen Versuch wurde keine Lebercirrhose hervorgerufen. Starke Bindegewebswucherung der Leber (nicht typische Cirrhose) wurde nur bei einem Fall (Nr. 82) unter 88 Lebercarcinomfällen gefunden.

Was für eine Veränderung bei diesem Fall für die weitere carcinomatöse Entartung verantwortlich zu machen ist, ist offenbar nicht ohne weiteres zu entscheiden. Es ist das parenchymatöse Leberadenom dieses Stadiums, welches in dieser Beziehung vor allem in Betracht kommt, da bei der Durchsicht der Fälle der betreffenden Versuchsreihe klargestellt werden konnte, daß nur das parenchymatöse Adenom lange nach dem Aussetzen der Fütterung sich in lebhaft wucherndem Zustand befindet. Man darf also für dieses Adenom wenigstens eine ihm innewohnende Fähigkeit

zum autonomen Weiterwachstum annehmen, die auch unter normalen Lebensbedingungen schließlich zur typischen Hepatombildung führt.

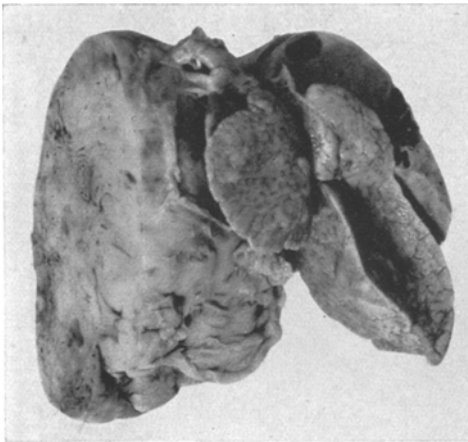


Abb. 10 (Nr. 105; Fütterung 256 Tage, nach dem Aussetzen 118 Tage). Großer Tumor aus dem Lobus sinister (vorwiegend Hepatom), etwa $\frac{1}{8}$ des Tumors abgeschnitten. Auch in anderen Lappen mehrere verschieden große Hepatomknoten.

Die Diagnose des Hepatoms wurde bei diesem Versuch immer dadurch sichergestellt, daß die in Frage kommenden Gebilde einen schon makroskopisch augenfälligen Knoten besaßen und einen deutlich zerstörenden Einfluß auf die Umgebung ausübten, also durch die alleraugenscheinlichsten malignen Kennzeichen. Man kann aber offenbar keine scharfe Grenze zwischen dem

Hepatom und dem erwähnten Adenom ziehen. Vielmehr scheint man das Adenom in das Hepatom in weiterem Sinne einrechnen zu können. In der Adenombildung kann man somit einen ersten Schritt zur blastomatösen Entartung erkennen.

Schon die äußerliche Beobachtung der Tiere bei diesem Experiment stimmt einigermaßen zu dem genannten Werdegang des Hepatoms. Die Tiere sind beim Aussetzen der Substanzfütterung (selbst zwischen dem 135. und 210. Tage) äußerlich fast unverändert und sehr munter. Das Körpergewicht nimmt nicht ab, vielmehr allmählich zu. Dann leben sie in gewöhnlicher Weise fort und zeigen ein munteres Wesen. Das Körpergewicht nimmt zu. Nach einigen Monaten (bisweilen 7—8 Monate) zeigt sich die Bauchauftreibung. Ein deutlicher Tumor wird in der Lebergegend fühlbar. Der Tumor wächst nach und nach aus, manchmal überraschend schnell. Die Tiere werden schließlich schwach.

Die Hepatome bei diesem Unterbrechungsversuch erreichen mitunter eine enorme Größe. Das größte Lebergewicht beträgt 38 g (Abb. 10),

und es gibt unter unseren Versuchstieren 8 carcinomtragende Fälle von Lebergewichten über 20 g. Bei 2 Fällen (Nr. 101 und 102) wurde Metastasenbildung in den Lungen und Lymphdrüsen festgestellt (s. Abb. 24).

Das Cholangiom ist bei 5 Fällen unter 29 Hepatomfällen dieser Versuchsreihe gleichzeitig vorhanden. Die Hyperplasie der Gallengänge geht bei den Fällen mit Fütterung von 60—90 Tagen ganz spurlos zurück. Bei längerer Fütterung aber bleibt das hyperplastische Bild lange bestehen. Bei der Hepatombildung zeigen die Gallengänge verschieden starke Wucherungsveränderungen, um schließlich das Nebeneinander von typischem Cholangiom vom Hepatom ganz ähnlich wie die vorige Versuchsreihe zu zeigen.

Bei einem Fall von 120tägiger Fütterung (Nr. 78) hat sich ein großes Cysticercussarkom (Spindelzellensarkom, teils polymorphzellig) in 263 Tagen nach dem Aussetzen der Fütterung gebildet. Die hyperplastischen Veränderungen des Lebergewebes bei diesem Fall sind fast vollständig zurückgegangen. Dies ist der einzige Fall von Cysticercussarkombildung unter 360 Fällen. Manche andere Fälle waren auch mit *Cysticercus fasciolaris* befallen, aber bei keinem Fall kam das Sarkom vor.

Ersatzreihe.

Diese Reihe besteht aus den nach Entnahme für die 1. und 2. Versuchsreihe übrig gebliebenen Tiere (vgl. die Beschreibung der Versuchsanordnung).

In bezug auf die Carcinombildung dieser Versuchsreihe kann man etwa am 200. Versuchstage eine Grenze ziehen und sie in zwei Gruppen einteilen. Bei der ersten (Nr. 115—273, also 159 Fälle von 3—187 Versuchstagen) findet man keine Carcinombildung, während in der zweiten Gruppe (Nr. 274—300; 27 Fälle von 201—346 Versuchstagen) 25 unter 27 Fällen die typische Carcinombildung zeigen. Diese Verhältnisse stimmen mit den Ergebnissen der 1. Versuchsreihe gut überein. Es gibt 2 Fälle, welche nach 200 Tagen noch kein Carcinom zeigen (Nr. 276 und Nr. 284). Es handelt sich dabei wohl um eine individuelle Verspätung der Carcinomentwicklung, da die charakteristische Adenombildung auch bei ihnen beobachtet werden konnte.

Das Ergebnis der mikroskopischen Beobachtung aller Fälle dieser Reihe stimmt überhaupt ganz mit den Befunden aller Stadien der 1. Versuchsreihe überein.

3. Versuchsreihe.

In dieser Versuchsreihe wurde die Beziehung zwischen der Einverleibungsdosis und der Carcinomentwicklung untersucht, indem die Tiere, wie schon erwähnt, in zwei Gruppen eingeteilt und je nach der Gruppe mit verschiedener Dosis gefüttert wurden.

Die Hälfte aller Tiere (Nr. 301—330), die innerhalb von zwei Monaten Fütterung gestorben waren, zeigte keine nennenswerte Veränderung.

Bei der immer mit kleiner Dosis gefütterten Gruppe (Nr. 331—343, 13 Tiere) war die Carcinombildung deutlich verzögert; das erste Hepatom kam erst am 405. Tage zum Vorschein (Nr. 339). Die Zeitdauer bis zur Carcinombildung war also doppelt so lange wie bei der 1. Versuchsreihe, in umgekehrtem Verhältnis zur Dosis. Bei der mit steigender Dosis gefütterten Gruppe (Nr. 344—360, 17 Tiere) dagegen ging die Carcinombildung in der gleichen Zeit wie bei der 1. Versuchsreihe vor sich. (Nur Nr. 356 zeigt am 365. Tage noch keine typische Carcinombildung, sondern nur deutliche Hyperplasie der Leberzellen. Dieser Fall ist die einzige Ausnahme unter allen 360 Versuchsfällen). Die Zeitdauer der Carcinombildung wurde also durch eine Vermehrung der Dosis nicht verkürzt, aber durch Verkleinerung der Dosis wurde sie auffallend verlängert.

Die beiden Fälle mit kleinerer bzw. größerer Fütterungsdosis zeigen nicht nur in bezug auf die Zeitdauer der Carcinomentwicklung den erwähnten Unterschied, sondern auch hinsichtlich der histologischen Befunde der Leberveränderung vor der Carcinombildung ist ein augenfälliger Unterschied zu beobachten.

Bei den Fällen mit größerer Dosis ist die Wucherung der Gallengangsepithelien ausgeprägter. Die Entwicklung des Cholangioms tritt demgemäß häufiger auf. Das Hepatom ist bei 15 unter diesen 17 mit steigender Dosis gefütterten Fällen entwickelt, und bei 6 von ihnen ist das Cholangiom kombiniert.

Ganz im Gegensatz dazu lassen die Fälle mit kleinerer Fütterungsdosis fast vollständig die Gallengangshyperplasie vermissen, nur wird bei 3 schon hepatomtragenden Fällen (Nr. 341, 342 und 343) das Hepatom von mehr oder weniger deutlicher Gallengangswucherung begleitet. Es kommt aber kein typisches Cholangiom vor.

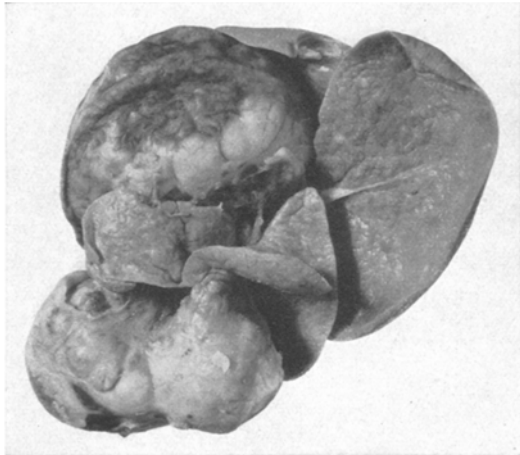
Die Hyperplasie der Gallengangsepithelien scheint somit erst durch Einverleibung von mehr als einer gewissen Dosis der Substanz hervorgerufen zu werden.

Bei einer kleineren Dosis ist auch die Leberzellenhyperplasie schwächer. Sie kommt nur in geringer Ausdehnung in der Acinusperipherie vor, und zwar zeitlich verspätet. Selbst bei den Fällen mit über 200tägiger Fütterung ist die Balkenordnung nicht deutlich zerstört. Der Acinusaufbau ist gut erhalten. Das Lebergewicht nimmt nicht zu. Hervorzuheben ist aber, daß bei diesen Fällen im fast unversehrten Lebergewebe auffallend hypertrophische Zellen hier und da herdförmig hervortreten. Sie können schon eine atypische Ordnung, sogar typische Rosettenbildung zeigen. Die Struktur dieses kleinen Herdes erinnert schon lebhaft an das Hepatombgewebe. Daß ein solches atypisches Bild in dem fast normalen Gewebe, wo weder starke Hyperplasie noch ein Umbau des Gewebes wahrzunehmen ist, ganz plötzlich entsteht, ist bemerkenswert.

Die Hepatombildung bei dieser kleineren Dosis wurde diesmal nicht stufenweise systematisch verfolgt. Aber die genannten Befunde deuten vielleicht darauf hin, daß der Werdegang des experimentellen Hepatoms mit einer geeigneten Dosis noch eingehender analysiert werden könnte, indem die Veränderungen der Leberzellen sehr langsam vor sich gehen und die Veränderung seitens des Gallenganges fast völlig ausgeschlossen wird.

Beschreibung der histologischen Befunde des experimentellen Lebercarcinoms.

In den oben geschilderten 4 Versuchsreihen wurde typisches Lebercarcinom als Ganzes bei 88 Fällen erzeugt. Das Carcinom war in der Regel multizentrisch entwickelt. Diese Carcinome sind meistens Hepatome. Bei 21 Fällen unter 88 ist das Cholangiom entwickelt. Das Cholangiom ist aber fast immer neben-sächlich dem Hepatom zugesellt. Nur bei 4 Fällen (Nr. 278, 279, 282 und 296) wurden nur Cholangiome ohne deutliche Hepatombildung gefunden.



Einige Beispiele der makroskopischen Bilder dieser experimentellen Lebercarcinome sind in Abb. 10—12 gezeigt.

Abb. 11 (Nr. 113; Fütterung 302 Tage, nach dem Aussetzen 92 Tage). Hepatom: Große Tumoren aus Lobus dextra (oben) und Processus papillaris (unten).

Die Oberfläche des Hepatoms ist glatt. Selbst der größte Knoten durchbricht die Leberkapsel nicht. Es findet also keine Verwachsung mit der Umgebung statt. Die Konsistenz ist fast der der Leber gleich, manchmal weicher. Das Hepatom neigt zu starker Blutung. Die Cholangiomknoten sind dagegen höckerig mit derber Konsistenz und verwachsen häufig mit der Umgebung (besonders mit dem Zwerchfell).

1. Beschreibung der typischen Hepatomfälle. Unter dem typischen Hepatom gibt es zwei Arten: Die eine besteht aus Zellen von fast gleicher Größe wie die normalen Leberzellen (Abb. 13), die andere aus weit größeren Zellen (Abb. 14).

Die Hepatomzellen zeigen wie die Leberzellen eine Balkenanordnung, aber ihre Breite ist verschieden und unregelmäßig. Dieses Parenchym hat einen typischen Endothelüberzug. Es bildet dadurch scharf abgekapselte

Zellnester, welche sich vielfach schlängeln und miteinander anastomosieren. Die Maschen dieses Netzwerkes des Parenchyms sind mit Blut

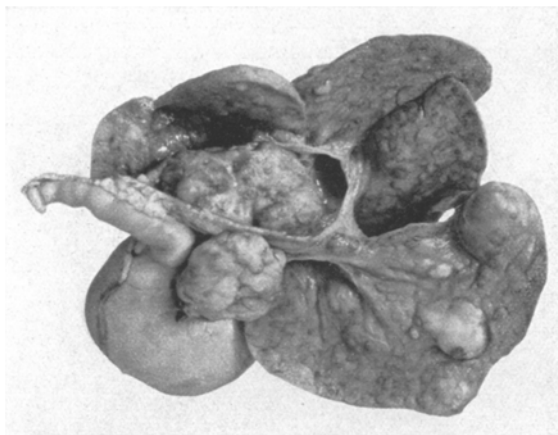


Abb. 12 (Nr. 99; Fütterung 225 Tage, nach dem Aussetzen 76 Tage). Einwachsen des Hepatoms in den Ductus choledochus. Die Gallenwege stark erweitert. Multiple Hepatome hauptsächlich im Processus papillaris und Lobus sinistra. Links unten: Magen mit dem Anfangsteil des Duodenums.

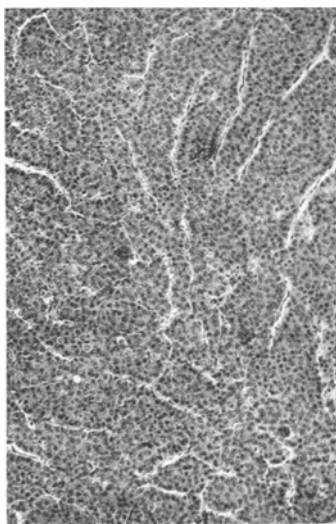


Abb. 13 (Nr. 350; 303 Tage). Typisches Hepatom (aus kleinen Zellen).

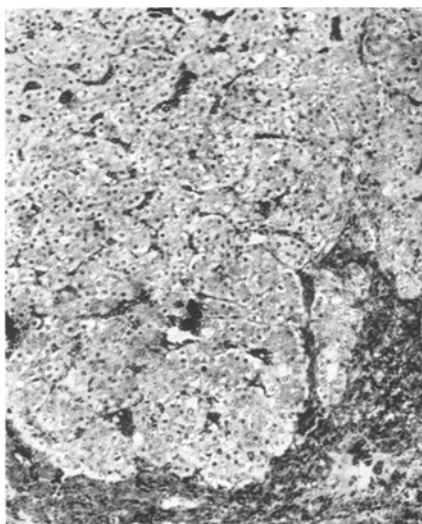


Abb. 14 (Nr. 295; 293 Tage). Randpartie eines typischen Hepatoms (aus großen Zellen).

gefüllt. Somit wird das Stroma des Hepatoms durch die unregelmäßigen Bluträume gebildet (Abb. 15). Diese Beziehung zwischen dem Parenchym

und Stroma des Hepatoms entspricht also genau der der Zellbalken und Blutcapillaren des normalen Lebergewebes.



Abb. 15 (Nr. 90; Fütterung 182 Tage, nach dem Aussetzen 286 Tage). Hepatom. Die Bluträume als Stroma. Im Parenchym Zellpolymorphie, hier und da Riesenkerne.

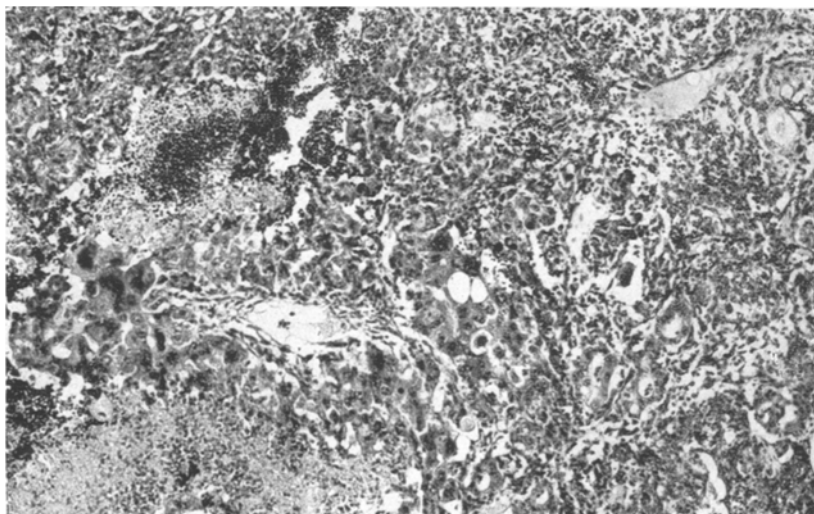


Abb. 16 (Nr. 349; 281 Tage). Atypisches Hepatom. Augenfällige Polymorphie und Unordnung der Zellen. Das Stroma nicht deutlich. Ausgedehnte Blutung und Nekrose.

2. *Beschreibung der atypischen Hepatomfälle.* Wird die zellige Wucherung des Hepatoms lebhaft, so wird das eigentliche Stroma des Hepatoms

vermißt. Sowohl die Zellordnung wie auch die Zellform werden unregelmäßig. Diese eigenartige Wucherung geht gleichzeitig mit einem degenerativen Prozeß einher. Ein äußerst atypisches Hepatombild wird dadurch hervorgerufen (Abb. 16). Bei weit ausgewachsenen Hepatomen wird manchmal der Blutraum als Stroma immer enger und undeutlicher. Der Endothelüberzug kollagenisiert sich mehr oder weniger deutlich, um schließlich sich bindegewebig umzuwandeln. Dadurch entsteht ein dem Carcinoma simplex ähnliches Bild.

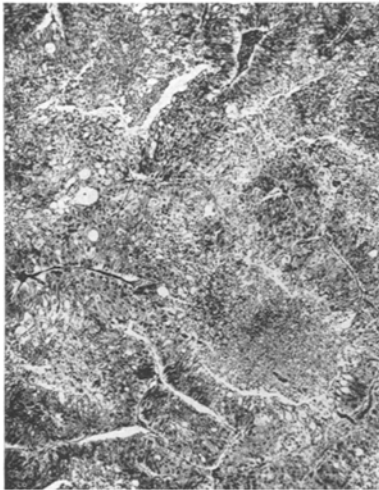


Abb. 17 (Nr. 101; Fütterung 241 Tage, nach dem Aussetzen 147 Tage). Hepatom. Nekrose des Parenchyms im zentralen Teil der Zellnester.

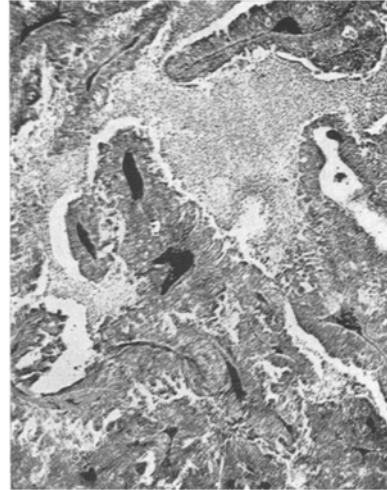


Abb. 18 (Nr. 110; Fütterung 285 Tage, nach dem Aussetzen 23 Tage). Hepatom. Unregelmäßige Hohlräume durch Nekrose. Die Hepatomzellen zylindrisch (umgestaltet).

Das Hepatom neigt allgemein zu Nekrose, die manchmal im Zentrum der Zellnester einsetzt (Abb. 17). Wenn diese Nekrose einen hohen Grad erreicht und es im zentralen Teil zum Ausfall des Gewebes kommt, so bildet sich dort ein großer Hohlraum. Es wird dadurch eine scheinbare Umkehrung des Verhältnisses von Parenchym und Stroma hervorgerufen, indem der Blutraum im zentralen Teil des Parenchyms sitzt. Dabei zeigen die Hepatomzellen bisweilen die Form von mehrschichtigen Zylinderepithelien. Dieses Bild erweckt den Anschein, als ob es sich nicht um ein Hepatom, sondern vielmehr um ein zylindro-celluläres Adenocarcinom, eine Form des Cholangioms, handelt (Abb. 18). Besonders verwickelt wird das Bild, wenn die Wandzellen der Hohlräume papillomatös in die Lichtungen hinein wuchern.

3. *Die Zellpolymorphie.* Die Hepatomzellen sind meistens polymorph. Es finden sich reichlich Riesenzellen, deren Kerne deutlich umgestaltet

sind. Die Zellpolymorphie tritt öfters im typischen Hepatomgewebe auf (Abb. 19). Die atypischen Kerne zeigen mitunter monströse Gestalt (Abb. 20). Sie zeigen direkte Teilung.

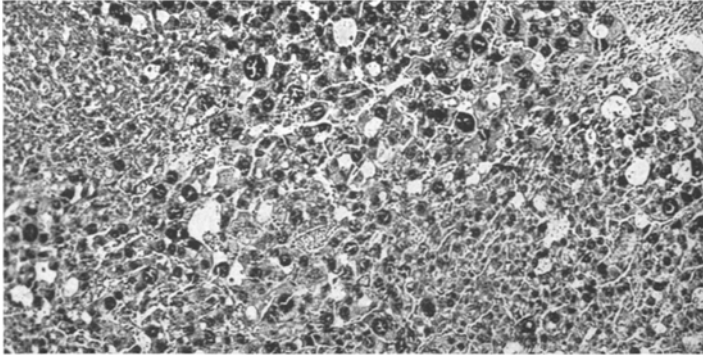


Abb. 19 (Nr. 342; 477 Tage). Hepatom. Ungleichheit der Zell- und Kerngröße.

4. *Das sog. Rosettenbild.* Daß im Hepatomgewebe eigentümliche Gebilde, die sog. Rosetten, entstehen, hat schon *K. Yamagiwa*⁵ hervor-gehoben. Auch bei dem experimentellen Hepatom kommt dies sehr häufig

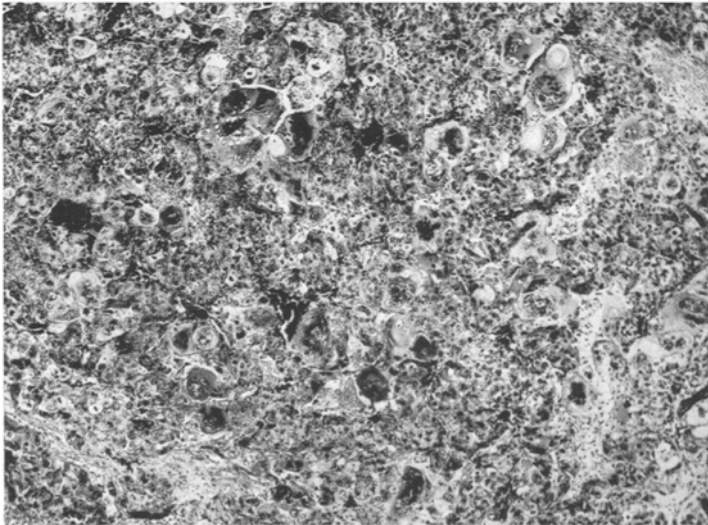


Abb. 20 (Nr. 456; Fütterung 138 Tage, nach dem Aussetzen 338 Tage). Hepatom. Monströse Kerne.

vor (Abb. 21). Es gehört zwar zu den seltenen Fällen, daß das typische Hepatom die Rosetten vermissen läßt, aber im weit ausgewachsenen, atypischen Hepatom werden diese Gebilde in der Regel nicht gefunden.

Die Rosettenbildung kann auch schon im Stadium der diffusen Hyperplasie wie auch in den parenchymatösen Leberadenomen beobachtet werden. In den verdickten Zellbalken dieser hyperplastischen Herde werden immer hier und da runde oder ovale Lumen gefunden. Die inneren Ränder der Zellen sind aber gegen diese Öffnungen nicht scharf abgegrenzt, sondern verwaschen. Diese Gebilde zeigen somit nicht eine typische Gang- oder Drüsenform, sondern eine stellenweise blasenförmige Erweiterung oder Ausbuchtung der verdickten Leberzellbalken. Ganz ähnliche Gebilde wie die Rosetten werden im Hepatomgewebe beobachtet.

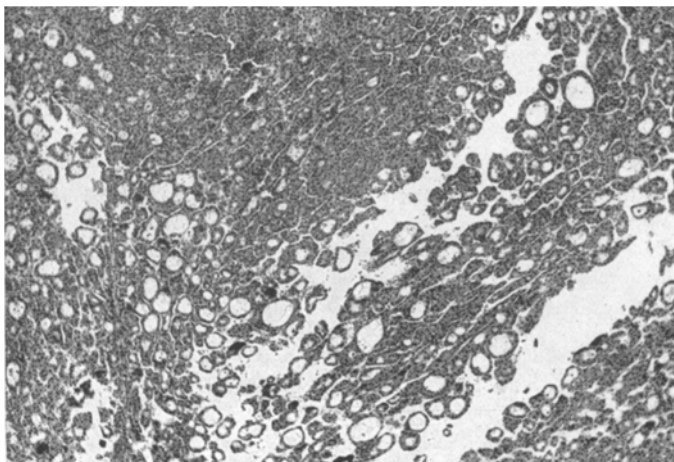


Abb. 21 (Nr. 56; 270 Tage). Ein rosettenreiches Hepatom.

Aber die Lumenweite der Rosette ist im ausgebildeten Hepatom sehr verschieden, vielleicht dank der lebhaften Vermehrungsfähigkeit der Hepatomzellen und der Sekretretention.

Die Lichtungen sind tatsächlich immer mit der blassen Sekretkoagula ausgefüllt, manchmal unter Beimengung von amorpher gallenfarbiger Masse oder abgestobenen Zellen. Auch Blutungen sind in der cystig erweiterten Rosette häufig zu sehen.

Bemerkenswert ist auch, daß das Schnittbild der Rosette immer rundlich ist. Die lange tubuläre Form wurde, in Übereinstimmung mit *Yamagawas* Beobachtung, nicht angetroffen. Die typische ringförmige Rosette ist mit Endothelien überzogen und allseitig durch den Blutraum umgrenzt, ganz wie die dichten Hepatomzellnester. Aus diesen Befunden geht wohl hervor, daß die Rosettenbildung des Hepatoms durch stellenweise blasenförmige Ausbuchtung der Hepatomzellnester entsteht, ein Vorgang, der dem Mechanismus bei den hyperplasierenden Leberzellbalken genau entsprechen würde.

Im Schnittbild ist aber die Rosette als ein Bauelement des Hepatoms anzusehen, vielleicht im gleichen Sinne wie die Krebsalveolen im allgemeinen. An der Grenze des wachsenden Hepatoms dringen diese Geschwülste häufig in der Form von Rosetten infiltrativ oder destruktiv in das umgebende Lebergewebe vor. Die großen erweiterten Rosetten zeigen mitunter als cystige Gebilde ein eigentümliches Wachstum. Die Wandzellen wuchern unregelmäßig papillös in die Lichtung hinein, wodurch ein höchst eigentümliches Bild entsteht.

5. *Beschreibung der Cholangiomfälle.* Hinsichtlich des histologischen Aufbaues zeigen die Cholangiome untereinander keine deutlichen Abweichungen. Es zeigt sich immer das Bild des Zylinder- (bisweilen

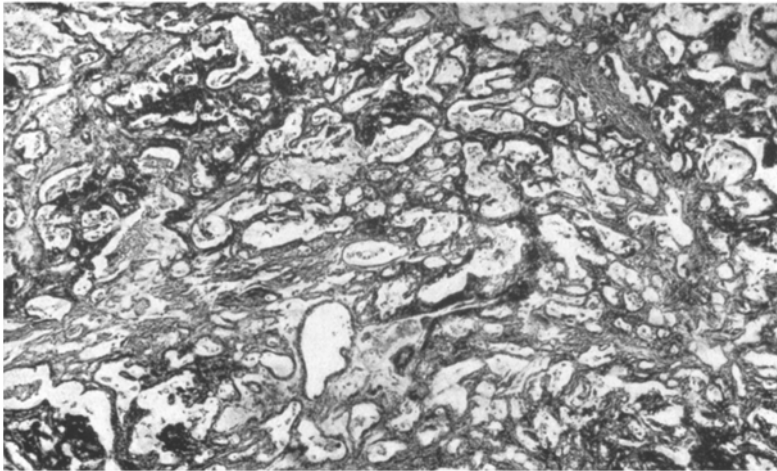


Abb. 22 (Nr. 349; 281 Tage). Typisches Cholangiom.

Kubus-)epithelkrebses (Abb. 22). Das bindegewebige Stroma ist verschieden stark entwickelt. In der 3. Versuchsreihe wurde ein Fall von typischem Adenocarcinoid beobachtet (Nr. 354). Wir möchten die Entstehung dieses Carcinoms auf die metaplastische Umwandlung der Cholangiomzellen in die Cancroidzellen zurückführen, da wir vorher die metaplastische Epidermisierung der Follikelepithelien der Meerschweinchenschilddrüse durch dieselbe Substanz beobachtet hatten⁷.

6. *Die Mischform.* Kommt die blastomatöse Wucherung des Gallengangs im Hepatomgewebe nicht in circumscripiter Form, sondern in der Form von Durchmischung mit dem Hepatomgewebe zustande, so wird sozusagen eine Mischform hervorgerufen (Abb. 23). Im Hepatomteil dieser in Abb. 23 angeführten Mischform wurde histologisch reichlich Glykogen nachgewiesen, während der Cholangiomteil ganz frei davon war. Wenn der Hepatomteil einer Mischform reich an Rosetten ist, können die Wandzellen der zahlreichen darin befindlichen drüsigen

Lumina einmal hepatocellulär, ein andermal cholangiocellulär sein. Dadurch entsteht ein eigentümliches buntes Bild. Das Zusammenfließen von drüsigen Gebilden beider Arten läßt sich dabei beobachten.

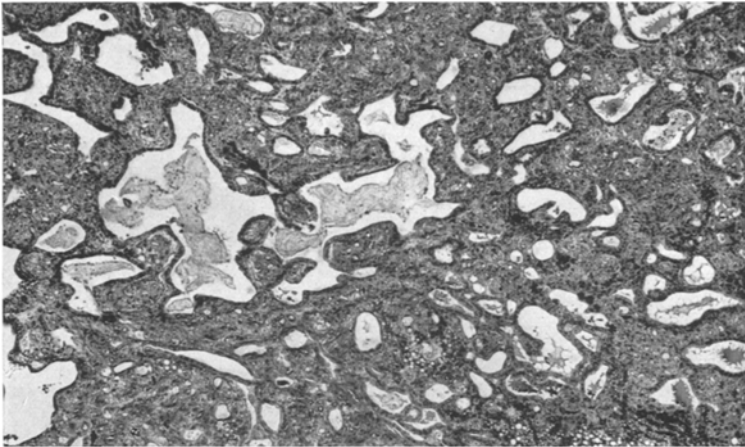


Abb. 23 (Nr. 49; 240 Tage). Mischform. Die meisten sich im Hepatomgewebe befindenden Lichtungen cholangiocellulär.

Da die typischen drüsigen Lichtungen des Cholangiomteils der Mischform aus kubischen oder niedrig kubischen Gallengangszellen bestehen und deutlich membranös umgrenzt sind, unterscheiden sie sich leicht von den Hepatomrosetten. Aber bei einer Mischform wurde eine noch weitergehende Wucherung dieses cholangiocellulären Teiles beobachtet. Eine Form Cholangiom wurde im Hepatomgewebe stellenweise gebildet. Dabei war merkwürdig, daß dieser cholangiocelluläre Carcinomteil nicht mehr das Bild des Adenocarcinoms zeigte. Vielmehr ähnelte das Bild deutlich dem umgebenden Hepatom.

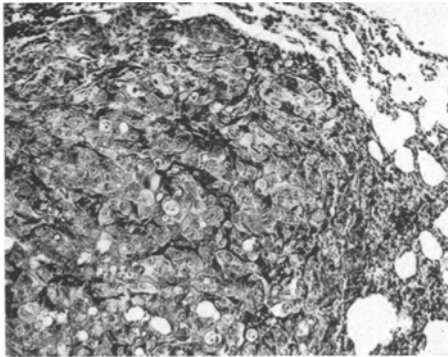


Abb. 24 (Nr. 101; Fütterung 241 Tage, nach dem Aussetzen 147 Tage). Metastase des Hepatoms in der Lunge.

Im Gegensatz dazu kann auch das Hepatom eine täuschende Ähnlichkeit mit dem Adenocarcinom (Cholangiom) zeigen, wenn es aus kleinen Zellen besteht und auffallend reich an Rosetten ist und das typische Stroma fast völlig zurücktritt. Das *Bielschowsky*-Präparat ist bei diesen Fällen sehr gut zur Differenzierung geeignet. Das Hepatom zeigt äußerst

spärliche Gitterfasern; bei dem Cholangiom ist dagegen das Fasergerüst überall in eigentümlicher Weise stark entwickelt.

Nach alledem ist es nicht immer leicht möglich, bei den ausgebildeten Lebercarcinomen das Hepatom und Cholangiom voneinander scharf zu unterscheiden.

7. *Die Metastase.* Das Wachstum des Hepatoms in die Blutgefäße wird sehr häufig beobachtet. Die Metastasenbildung in andere Organe ist aber verhältnismäßig selten. Augenfällige multiple Metastasen wurden bei 2 Fällen in den Lungen und in den Lymphdrüsen (Mesenterial- und Retrosternallymphdrüsen) beobachtet (Abb. 24). Ein Cholangiom wuchs auch metastatisch in eine Lymphdrüse der Bauchhöhle. Das Netz wandelte sich dabei in eine große Tumormasse um. Ein Hepatom wuchs in den Ductus choledochus (s. Abb. 12). Starke Gallenstauung und Gallengangerweiterung wurde dadurch verursacht *.

Zusammenfassung der gesamten Ergebnisse.

1. Durch Fütterung mit o-Amidoazotoluol (o-Toluol-azo-o-Toluidin) wird das Hepatom (Leberzellkrebs) bei der weißen Ratte experimentell erzeugt.

2. Die Entwicklung des experimentellen Hepatoms wurde bei 360 Tieren nach verschiedenen Richtungen hin geprüft, besonders wurde der Werdegang des Hepatoms durch zeitlich abgestufte Tötung der Tiere verfolgt. Das Hepatom kommt schrittweise zustande, und zwar durch immer fortschreitende Wucherung der Leberzellen.

3. Das typische Hepatom kam bei Versuchstieren von 255—300tägiger Versuchsdauer ausnahmslos zustande. Die früheste Hepatombildung wurde bei einem Tiere von 196tägiger Versuchsdauer festgestellt. Alle in früheren verschiedenen Stadien absichtlich abgetöteten Fälle zeigten der Einverleibungsdauer entsprechende geringere Veränderungen.

4. Wenn die Einverleibung der Substanz eine gewisse Zeitlang fortgesetzt wurde, entwickelt sich das Hepatom allmählich von selbst fort, auch wenn die weitere Einverleibung der Substanz aufgehört hat. Die Grenze der dazu nötigen Fütterungsdauer liegt bei etwa 4 Monaten.

5. Durch Verminderung der Einverleibungsdosis wird der Anfang der Carcinombildung bedeutend verzögert. Bei Fütterung mit einer halben Dosis wurde die Entstehungszeit bis zur Carcinombildung etwa auf das Doppelte verlängert.

* Beim vorläufigen Bericht in der Japanischen Pathologischen Gesellschaft (1934) sprachen wir über ein Carcinom aus dem extrahepatischen Gallengang. Das war der gleiche Fall wie Nr. 99 (Abb. 12). in dieser Arbeit. Aber durch nachherige vergleichende Untersuchung sind wir zu der Überzeugung gekommen, daß es sich bei diesem Fall um ein Einwachsen des Hepatoms in den Gallengang handelt, wenn auch der histologische Aufbau dem Adenocarcinombilde (eine Form des Cholangioms) ähnelt.

6. Es wurden 84 typische Fälle von Hepatom beobachtet. Das Hepatom tritt immer multizentrisch auf, und bildet zuweilen Metastasen in Lunge oder in Lymphdrüsen. Die Cholangiome (Gallengangskrebse) kamen nur vereinzelt neben dem Hepatom vor. Ausnahmsweise wurden bei 4 Fällen nur Cholangiome gefunden, ohne daß die typischen Hepatome daneben vorhanden waren.

Die Untersuchung wurde teilweise mit Mitteln der Japanischen Gesellschaft der Krebsforschung (Präsident: *M. Nagayo*) ausgeführt. Die sämtlichen Präparate sind im Institut für Krebsforschung (Sugamo-Tokio) einzusehen.

Schrifttum.

- ¹ *Cook, J. W., I. Hieger, E. L. Kennaway and W. V. Mayneord*: Proc. roy. Soc. Lond. s. B. **111**, 455 (1932). — ² *Cook, J. W.*: Proc. roy. Soc. Lond. s. B. **111**, 485 (1932). — ³ *Sasaki, T. u. I. Otsuka*: J. of Biochem. **12**, 429 (1930). — ⁴ *Wake, I.*: Trans. jap. path. Soc. **21**, 622 (1931). — ⁵ *Yamagiwa, K.*: Virchows Arch. **206**, 437 (1911). — ⁶ *Yamagiwa, K.*: Virchows Arch. **245**, 20 (1923). — ⁷ *Yoshida, T.*: Virchows Arch. **283**, 29 (1932). — ⁸ *Yoshida, T.*: Trans. jap. path. Soc. **22**, 193 (1932). — ⁹ *Yoshida, T.*: Trans. jap. path. Soc. **22**, 935 (1932). — ¹⁰ *Yoshida, T.*: Proc. imp. Acad., Tokyo **8**, 464 (1932).
-