

(Aus dem Biologischen Institut der Carlsberg-Stiftung, Kopenhagen.)

## **Die Entstehung bösartiger Geschwülste nach autologer Transplantation von normalem Milchdrüsengewebe bei Mäusen\*.**

Von

**Albert Fischer**

(unter Mitwirkung von **G. Fischer, A. Bojsen-Møller und E. Middelboe**).

Mit 32 Abbildungen und 6 Tabellen.

(Eingegangen am 22. Dezember 1942.)

Wie bekannt, gelingt die homologe Überpflanzung von Spontantumoren häufiger, wenn sie vorher einige Male autolog transplantiert worden sind. Von dieser Tatsache ausgehend haben wir große Versuchsserien ausgeführt, um zu entscheiden, ob autologe Transplantationen von gesunden Milchdrüsen bei Mäusen zur Entwicklung maligner Geschwülste führen können. Die theoretischen Überlegungen bei diesem Unternehmen gingen von dem Gedanken aus, daß die bösartigen Geschwülste möglicherweise aus vereinzelter, im normalen Gewebe vorkommenden Zellen mit latenten canceropotenten Eigenschaften entstehen. Bei dem Versuch, Beweismaterial für solche Annahme zu finden, wählten wir zunächst die autologe Transplantation von normalem Gewebe. Denn es ist eine recht naheliegende Vermutung, daß das nach vorheriger autologer Transplantation erhöhte Anschlagsprozent der Spontantumoren auf einer Anreicherung derjenigen Zellen im Tumorgewebe beruht, die infolge größerer Wachstumsfähigkeit sowie durch ihre Fähigkeit, sich verschiedenen Stellen des Körpers anzupassen, überleben werden. Ist diese Theorie richtig, so dürfte es möglich sein, durch Transplantation von normalem Gewebe eine Stütze für die Annahme zu finden, daß unter den normalen Durchschnittszellen Varianten mit den Eigenschaften maligner Tumorzellen sich befinden.

In früheren Mitteilungen<sup>1, 2</sup> ist über die Entstehung bösartiger Geschwülste in autologen Transplantaten von Milchdrüsengewebe bei Mäusen berichtet worden. Diese Arbeit haben wir jetzt mit einem großen Versuchsmaterial fortgesetzt, um Näheres über die Häufigkeit des Auftretens von Geschwülsten in den Transplantaten zu erfahren und um Einsicht in die Bedingungen bei diesem Vorgang zu gewinnen.

---

\* Diese Untersuchungen wurden mit Unterstützung der Anna-Fuller-Stiftung ausgeführt.

### 1. Technik.

Die Versuchstiere waren zum großen Teil gewöhnliche weiße Mäuse (Weibchen), die von mehreren Händlern bezogen waren. Für einige Versuchsreihen wurde ein besonderer Mäusestamm benutzt, der eine große Anzahl von spontanen Mammatumoren aufweist und uns freundlichst von Dr. *Dobrovolskaja-Zuradskaja* zur Verfügung gestellt war.

Wir hielten die Versuchstiere einzeln, in kleinen, mit einem Netzdeckel verschlossenen Metallbüchsen. Das Futter bestand aus Weißbrot, abwechselnd mit Milch oder Wasser aufgeweicht, dazu Hafer, Lebertran und manchmal grüner Salat, Kohle und Kalk. Unmittelbar nach der Operation wurden die Tiere 1 bis 2 Stunden bei 30—40° abgestellt.

Zur Operation wurden die Tiere in Äthernarkose auf einem dafür besonders konstruierten Tisch festgespannt. Beim Herauspräparieren von Milchdrüsengewebe wurde die Maus in Rückenlage angebracht; die Haare wurden mit einer Schere kurz abgeschnitten und das Operationsfeld mit Jodtinktur gepinselt. Ein passend großer Hautlappen wurde mit sterilen Instrumenten aufgeklappt und die Milchdrüse aus dem Inguinal- oder Axillargebiet herauspräpariert. Hierbei erfolgte öfterer Wechsel der Instrumente. Um die größeren Gefäße wurden Ligaturen gelegt. Das Gewebe wurde in einer kleinen Schale mit *Ringer*-Lösung aufbewahrt, bis die Transplantation unmittelbar darauf erfolgte. Hierauf wurde die Maus auf eine sterile Unterlage aus Gaze in Bauchlage gespannt und die für die Anbringung des herauspräparierten Gewebes vorgesehene Stelle wie beschrieben gereinigt. Nach einer entsprechenden Incision wurde das Gewebe hineingeschoben und die Wunde mit Seidennähten geschlossen. Die für die Transplantation bevorzugten Stellen lagen meistens subcutan über der Schwanzwurzel und stets in der Mittellinie des Rückens bis hinauf zur Nackenregion. Es wurden jedoch auch die Flanken öfter benutzt, und in einzelnen Fällen transplantierten wir subfaszial oder intramuskulär in den Oberschenkel. Allgemein ist zur Wahl der Transplantationsstellen zu sagen, daß es wichtig ist, so weit wie möglich von den Mammalinen wegzugehen, um späteren Verwechslungen mit etwaigen spontanen Milchdrüsentumoren zu entgehen. Um weiter gegen derartige Verwechslungen gesichert zu sein, trafen wir in vielen Fällen folgende Vorsichtsmaßnahmen: Entweder zogen wir ein Stückchen Sutureide durch das Transplantat hindurch; es ließ sich öfters sehr gut wiederfinden. Oder, noch sicherer, es wurde ein Stückchen enthäuteter Schwanz von demselben Tier an das Drüsentransplantat genäht. Diese Methode hatte den Nachteil, daß die Einheilung des Transplantats manchmal erschwert wurde. In einzelnen gingen wir dabei folgendermaßen vor: Unmittelbar vor dem Herauspräparieren des Gewebes wurde der Schwanz mit Jod gepinselt und proximal seiner Mitte eine Klemme angebracht. Ein wenig darunter erfolgte eine Circumcision der Haut mit einem Starmesser und in Verbindung mit diesem Schnitt ein zweiter, etwa 0,5 cm langer, an beiden Seiten des Schwanzes entlang. Mit einer Hakenpinzette konnte dann die Haut wie ein Schlauch abgezogen werden. Das enthäutete Schwanzstück wurde abgeschnitten und von ihm ein etwa 0,5 cm langes Stückchen dann dem Drüsengewebe locker angenäht. Auf diese Weise konnte mit Sicherheit entschieden werden, ob der Tumor im Transplantat selber oder außerhalb entstanden war. Die Erfahrung hat uns indessen auch andere Kennzeichen hinsichtlich des Ursprungs der in Frage kommenden Tumoren gelehrt. Ist das Transplantat zugrunde gegangen, so wird es meistens nicht spurlos resorbiert, sondern das Gewebe ist bis zu 2 Jahren nach der Transplantation meistens noch erkennbar, indem es als kleines, gelblich-bräunliches Läppchen oder Häutchen sich darbietet. Wird nun bei einer Sektion derartiges isoliert liegend beobachtet und außerdem, unabhängig hiervon, ein Tumor, so kann mit Sicherheit gesagt werden, daß kein Zusammenhang zwischen Transplantat und Tumor besteht.

Eine Reihe der Versuche umfaßte ein- oder zweimal ausgeführte Retransplantationen desselben Gewebestückchens. In Abständen von 10–30 Tagen, je nach den Indikationen, wurden Reoperationen unternommen. Falls sich erkennen ließ, daß das Transplantat an Größe zugenommen hatte, wurde entweder das ganze Gewebestück oder ein Teil davon auf eine andere Stelle des Tieres umgepflanzt. Durch Palpierung des Transplantats von Zeit zu Zeit läßt sich meistens entscheiden, ob sich eine solche Übertragung des Gewebes auf eine zweite Stelle des Tieres lohnt.

Sobald bei den im Versuch stehenden Tieren Tumoren beobachtet werden, kommen sie unter tägliche Beobachtung. Hat dann der Tumor eine gewisse Größe erreicht, werden die Tiere meistens getötet. Um frisches und gutes Material für die Präparate und für weitere Übertragungen auf andere Tiere zur Verfügung zu haben, sucht man nach Möglichkeit zu vermeiden, daß die Versuchstiere von selber eingehen.

## 2. Das Versuchsmaterial.

Das Versuchsmaterial umfaßt im ganzen 3469 Tiere, die sich auf die in Tabelle 1 angeführten Versuchsreihen verteilen.

Tabelle 1.

Nr.		Anzahl Tiere
1	Autologe Transplantation von Milchdrüsengewebe bei gewöhnlichen Mäusen . . . . .	1141
2	Autologe Transplantation von Milchdrüsengewebe bei Tieren des <i>Dobrovolskaja-Zavodskaja</i> -Stammes (D.Z.) . . . . .	243
3	Wiederholte autologe Transplantation von Milchdrüsengewebe bei trächtigen Mäusen . . . . .	65
4	Autologe Transplantation von Milchdrüsengewebe nach Vorbehandlung mit großen Dosen Oestrin . . . . .	49
5	Homologe Übertragung von Milchdrüsengewebe auf junge Mäuse und zurück auf die ursprünglichen Tiere . . . . .	33
6	Einbringung von wenigen Carcinomzellen in Milchdrüsen, die lange Zeit später autolog transplantiert wurden . . . . .	1783
7	Einbringung von wenigen Carcinomzellen in die Milchdrüsen und spätere Ganzbehandlung der Tiere mit Methylcholanthren . . . . .	111
8	Einbringung von wenigen Carcinomzellen in die Milchdrüsen, darauf Behandlung mit Leberextrakt . . . . .	14
9	Übertragung von embryonalem Mäusegewebe . . . . .	20
10	Dasselbe bei Tieren des D.Z.-Stammes . . . . .	10

Mit Ausnahme der Versuchsreihen 1 und 2 waren die Versuche ohne Erfolg. Zweifellos beruht das auf einer mangelhaften Technik, und zwar auf Grund des Umstandes, daß derartige Untersuchungen ganz außerordentlich schwer unter Kontrolle zu halten sind. Es war in Wirklichkeit fast unmöglich, das Schicksal des Transplantats vom Augenblick der Übertragung an bis zur Reoperation oder bis zum etwaigen Entstehen eines Tumors zu verfolgen. Ob das Transplantat eingeheilt ist oder nicht kann nur durch eine Biopsie oder bei der Sektion festgestellt werden.

Allerdings ist es doch nicht völlig unmöglich, etwas Quantitatives aus den Untersuchungen herauszuholen, obwohl das unter starken Vorbehalten geschehen muß. Geht das Transplantat verhältnismäßig kurze

Zeit nach der Operation zugrunde (schlechte Vaskularisation, übermäßiger Fettgehalt des Gewebes, Infektion), so ist es klar, daß keine Tumoren daraus entstehen können. Ein Nekrotisieren des Transplantats kann, wie schon gesagt, nur durch eine Zwischenoperation festgestellt werden. Infektionen zeigten sich nur in denjenigen Fällen, wo ein Absceß entstanden war. Infektionen leichterer Art, die aber doch groß genug sind, das Einheilen des Transplantats zu verhindern, werden meistens übersehen. Von einer quantitativen Beurteilung der Ergebnisse muß auf Grund der zahlreichen unkontrollierbaren Nebenumstände abgesehen werden. Es ließen sich höchstens einige Feststellungen aus einer sehr großen Anzahl von Versuchen treffen, so z. B. ob es bei mehrmaligen Retransplantationen des Gewebes häufiger als bei einmaligen zu Tumorenbildung kommt, oder ob Tumoren häufiger in Geweben bei jungen Tieren als bei solchen, die mehrmals Junge geworfen haben, oder während der Trächtigkeit auftreten. Es wurde bereits gesagt, daß die Transplantate von normalem Milchdrüsengewebe möglichst weit von der Mammagegend entfernt angelegt wurden, doch kann es vorkommen, daß die Transplantate sich nachträglich in dem lockeren subcutanen Gewebe verschieben. Aus diesem Grunde versuchten wir in vielen Fällen, wie ebenfalls vorher erwähnt, sie zu fixieren (Seidenfaden oder enthäutete Schwanzstückchen). In Zweifelsfällen benutzten wir auch unsere Erfahrung, wonach nekrotische Transplantate noch nach langer Zeit als gelbliche Reste zu erkennen sind. Findet man einen Tumor, bei dem es zunächst zweifelhaft ist, ob er aus dem Transplantat oder spontan aus der intakten Milchdrüse in situ entstanden ist, und zeigt sich obendrein noch ein gelblich-bräunlicher Rest des Transplantats — dann entscheidet sich die Frage sehr einfach dahin, daß ein zufälliger Spontantumor vorliegt. Andererseits gibt es aber Geschwülste, bei denen keine Reste von transplantiertem Gewebe zu finden sind. In solchen Fällen muß allein die sorgfältige topographische Beurteilung und die Beziehung des Tumors zur Mammagegend für die Diagnose entscheidend sein. Befindet sich auf dem Rücken des Tieres ein isolierter Tumor, der keine Verbindung mit dem natürlichen Mammagewebe hat, entspricht seine Lage der Übertragungsstelle des Transplantats und ist er obendrein an ein Mammacarcinom, so sind das sichere Zeichen dafür, daß er aus dem Transplantat entstanden ist. Im übrigen wissen wir, daß die Prädispositionsstellen für spontane Mammacarcinome die Gebiete um Hals-, Achsel-, Inguinal- und Genitalgegend herum sind und daß Milchdrüsentumoren fast nie isoliert auf dem Rücken, zwischen Kopf und Schwanz, vorkommen. Nur bei sehr großen Tumoren kann es geschehen, daß sie aus der Axillar- oder Inguinalgegend gegen die Mitte oder darüber hinaus wachsen können. Bei sorgfältiger und häufiger Beobachtung der Versuchstiere werden die Tumoren ziemlich früh entdeckt, so daß die Feststellung ihres Ursprungs keine großen Schwierigkeiten bereitet, auch dann nicht,

wenn die Tumoren an den Flanken lokalisiert sind. Da das Material, entgegen der Erwartung, eine statistische Behandlung nicht zuläßt, müssen wir uns vorläufig mit der Feststellung begnügen, daß bösartige Geschwülste durch autologe Transplantation von normalem Milchdrüsen-gewebe hervorgerufen werden können. Oder, ganz vorsichtig ausgedrückt, daß bösartige Geschwülste auch in autologen Transplantaten von normalem Gewebe entstehen können, wobei also nicht darauf eingegangen werden soll, ob die Tumoren eben auf Grund des Transplantationsaktes entstehen oder auf andere Weise. Die Deutung der Tatsachen ist eine Angelegenheit für sich. Es bleibe vorläufig dahingestellt, ob die genannten Versuche ihre ursprüngliche Aufgabe erfüllen, nämlich die *Theorie von der Anwesenheit präformierter maligner Gewebezellen unter den normalen im gesunden Gewebe* zu stützen.

### 3. Ergebnisse.

Die Versuchsreihe Nr. 1 in Tabelle 1 umfaßt 1141 Tiere. Bei diesen wurde gesundes Milchdrüsen-gewebe einmal oder mehrmals transplantiert. Das Material ist in folgender Weise aufgeteilt (s. Tabelle 2):

*Gruppe 1.* Ganz junge Weibchen, die noch nicht gepaart worden sind.

a) Milchdrüsen-gewebe einmal transplantiert;

b) dasselbe, zweimal transplantiert;

c) dasselbe, dreimal transplantiert.

*Gruppe 2.* Erwachsene Weibchen, die vorher mehrmals Junge gehabt haben. Wie oben in Untergruppen a, b und c aufgeteilt.

*Gruppe 3.* Erwachsene Weibchen, die 10 Tage nach der Paarung operiert wurden. Wie oben in Untergruppen a, b und c aufgeteilt. Diejenigen Tiere, die nicht trächtig wurden, sind in Gruppe 2 aufgeführt.

*Gruppe 4.* Erwachsene Tiere, die 14 Tage nach der Paarung operiert wurden. In Untergruppen a, b und c aufgeteilt.

*Gruppe 5.* Hochträchtige Tiere. Untergruppen a, b und c.

*Gruppe 6.* Nach der Operation gepaart. Untergruppen a, b und c.

*Gruppe 7.* Tiere mit säugenden Jungen. Untergruppen a, b und c.

In Tabelle 2 sind Versuchsmaterial und die Ergebnisse zusammengestellt. Es geht daraus hervor, daß 12 sichere Fälle von Carcinom und wahrscheinlich auch 2 lymphatische Tumoren entstanden sind. Diese Fälle verteilen sich auf die Untergruppen wie folgt: Gruppe 1b mit 1 Carcinom; Gruppe 2b und 2c mit je 1 Carcinom; Gruppe 4c mit 1 Carcinom; Gruppe 5a mit 5 Carcinomen; Gruppe 5b mit 1 rund-zelligem Tumor; Gruppe 5c mit 1 Carcinom; Gruppe 6a mit 1 Carcinom; Gruppe 7a mit 1 Carcinom. Im ganzen wurden 9 Fälle von lymphatischen Tumoren gefunden. Nur bei 2 von ihnen konnten Tumoren im Transplantat festgestellt werden (Gruppe 1b und 5b). Es ist noch zweifelhaft, ob diese vom Transplantat ausgegangen sind. Diese Frage

Tabelle 2.

Gruppe	Anzahl der Tiere	Gestorben innerhalb 14 Tagen nach Transplantation	Transplantat resorbiert	Nekrotische Reste	Infektion	Carcinom im Transplantat	Lymphosarkom im Transplantat
1a	78	3	60	12	0	0	0
1b	67	5	36	17	1	1	1
1c	38	1	12	14	0	0	0
1a, b, c	183	9	108	43	1	1	1
2a	315	51	140	83	2	0	0
2b	217	13	151	38	0	1	0
2c	24	0	16	6	0	1	0
2a, b, c	556	64	307	127	2	2	0
3a	25	6	17	2	0	0	0
3b	4	0	2	2	0	0	0
3c	1	0	1	0	0	0	0
3a, b, c	30	6	20	4	0	0	0
4a	0	0	12	4	0	0	0
4b	4	1	2	1	0	0	0
4c	4	0	0	3	0	1	0
4a, b, c	25	1	14	8	0	1	0
5a	127	9	62	20	2	5	0
5b	52	1	22	12	0	0	1
5c	1	0	0	0	0	1	0
5a, b, c	180	10	84	32	2	6	1
6a	46	7	24	3	0	1	0
6b	65	1	46	14	1	0	0
6c	10	1	5	0	0	0	0
6a, b, c	121	9	75	17	1	1	0
7a	37	6	20	5	2	1	0
7b	8	0	6	2	0	0	0
7c	1	0	1	0	0	0	0
7a, b, c	46	6	27	7	2	1	0
Insgesamt	1141	105	635	238	8	12	2

soll vorläufig außer Betracht bleiben, wir werden später darauf zurückkommen.

Die 12 sicheren Fälle von Tumoren waren alle typische Adenocarcinome. Ein kurzgefaßter Auszug aus den Protokollen erscheint hierzu erforderlich.

*Versuch Nr. 94/11* (Gruppe 1b). Milchdrüse aus der rechten Inguinalgegend wird subcutan auf den Rücken transplantiert. 1 Monat später ist das Gewebe gut eingeheilt. Ein Teil hiervon wird mehr cranialwärts auf den Rücken hinauf verlegt. Etwa 1 Jahr nach der ersten Operation finden sich 2 Tumoren, anscheinend ohne Verbindung miteinander. Der eine ist zweifellos aus der intakten linken Axillarmamma entstanden und an der linken Scapularegion lokalisiert. Der zweite Tumor, ein Adenocarcinom, liegt isoliert, subcutan, auf dem Rücken des Tieres etwa 1 cm hinter dem Nacken (143). Abb. 1 zeigt infiltratives Wachstum in der Speicheldrüse. Das histologische Bild ist für die beiden Tumoren nicht ganz gleich.

Während der vermeintliche Spontantumor ein recht regelmäßig gebautes Adenocarcinom darstellt, besteht der zweite Tumor aus unregelmäßigem Drüsengewebe mit vielen sekretgefüllten Drüsengängen.

*Versuch Nr. 90/7* (Gruppe 2b). Milchdrüse aus der rechten Axillargegend, subcutan auf den Rücken transplantiert. 1 Monat später wird ein Teil des Gewebes etwas weiter cranialwärts auf dem Rücken retransplantiert. 15 Monate nach der ersten Operation findet sich an der zweiten Transplantationsstelle ein haselnußgroßer Tumor, außerdem in der linken Inguinalgegend ein erbsengroßer Tumor. Zwischen diesen beiden Geschwülsten besteht keinerlei Verbindung. Die mikroskopischen Bilder der beiden Tumoren sind einander ungleich. Der inguinale ist

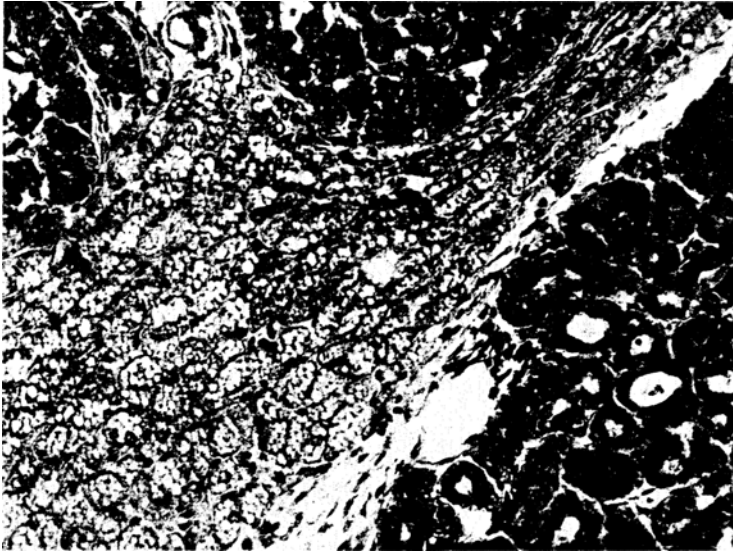


Abb. 1.

blauviolett gefärbt und enthält viel Blut in großen Räumen, während der Rückentumor hellgelb, markartig und blutarin ist. Der inguinale Tumor besteht zum größten Teil aus ganz solidem Carcinomgewebe ohne Drüsencharakter und enthält große, blutgefüllte Räume; die Zellen haben stellenweise den Charakter von Plattenepithel (196), Abb. 2. Der Rückentumor dagegen ist ein Adenocarcinom mit sehr regelmäßiger Drüsenzeichnung (195), Abb. 3. Dieser Tumor ließ sich nicht weiter transplantieren.

*Versuch Nr. 25/3* (Gruppe 2c). Bei diesem Versuch wurde die Milchdrüse dreimal transplantiert. Milchdrüsengewebe aus der rechten Inguinalgegend wurde nach der linken Flanke übertragen. Als 18 Tage später ihre gute Einheilung festgestellt war, wurde sie subcutan in die Nackengegend transplantiert. Etwa 2 Monate darauf konnte ein kleiner, länglicher Tumor in der linken Flanke festgestellt werden. 9 Monate nach der zweiten Operation wurde das Gewebe, das gut eingeheilt und ziemlich fleischig war, in die Mitte des Rückens transplantiert. Nach etwa  $3\frac{1}{2}$  Monaten konnte ein kleiner Tumor an der letzten Transplantationsstelle beobachtet werden, der dann nach weiteren 14 Tagen die Größe einer Haselnuß erreicht hatte. Das Tier wurde 3 Tage darauf getötet. In der Mitte des Rückens konnte ein  $1\frac{1}{2} \times 1 \times 1$  cm großer Tumor etwa 2 cm vom Nacken entfernt herauspräpariert

werden. Dieser Tumor war nicht mit der Haut verwachsen, sein Gewebe war markartig und enthielt große Bluträume. In der Lunge wurde eine solide Metastase

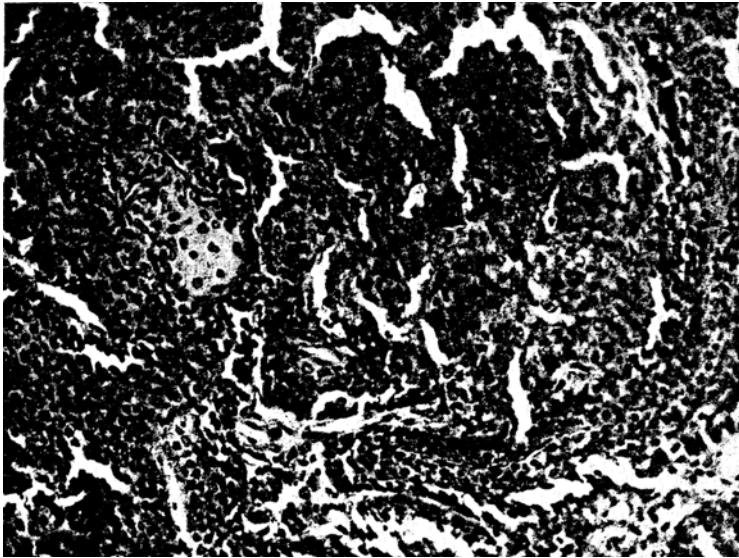


Abb. 2.

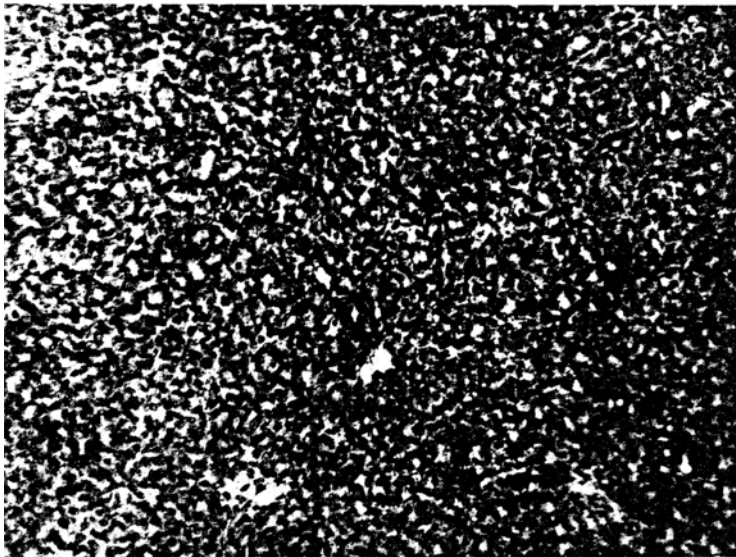


Abb. 3.

gefunden (110), Abb. 4. Die Mikroskopie zeigte ein Adenocarcinom, aus sehr regelmäßigen Drüsen bestehend und äußerst arm an Stroma. Man sah, wie das



Carcinomgewebe frei in die Blutsinus hineinragte und von flüssigem Blut umgeben war (109—2), Abb. 5.

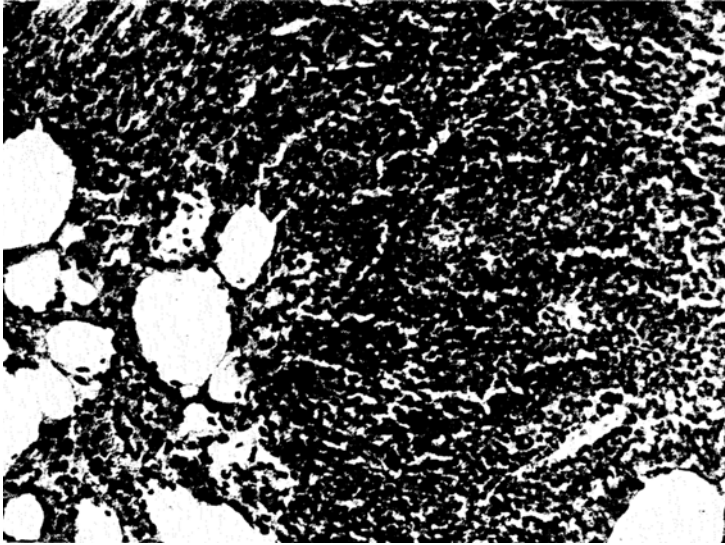


Abb. 4.

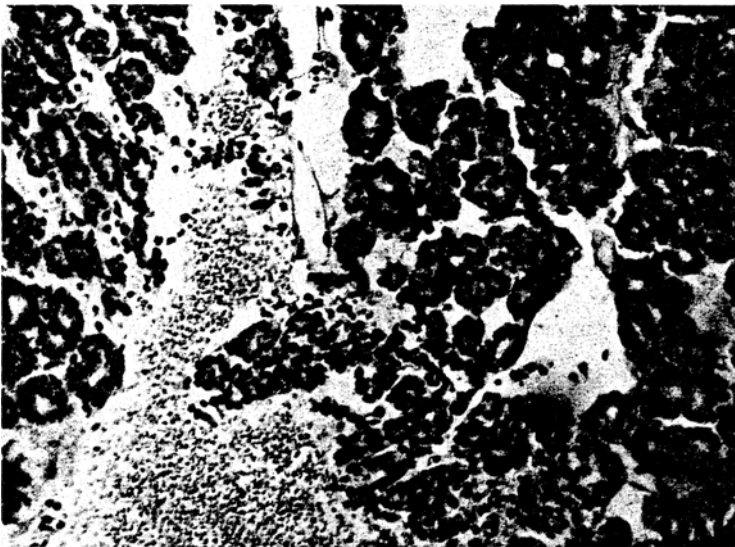


Abb. 5.

Der Tumor wurde auf 10 Mäuse weitergeimpft (1. Passage); bei 2 der Tiere ging er an. Die weitere Übertragung (2. Passage) erfolgte 2 Monate später auf 30

gewöhnliche Mäuse und 1 Maus des *Dobrovol'skaia-Zavad'skaia*-Stammes (D.Z.). In 2 Fällen ging der Tumor an, der eine betrifft das Tier des D.Z.-Stammes. 4 Monate später wurde der positive D.Z. auf 8 andere Tiere des D.Z.-Stammes, der zweite positive auf 27 gewöhnliche Mäuse übertragen (3. Passage). Nach 4, bzw. 6 und 8 Monaten hatten sich 3 Tumoren entwickelt, davon einer auf einem Tier des D.Z.-Stammes, 2 auf gewöhnlichen Tieren. Infolge besonderer äußerer Umstände ging der Stamm  $1\frac{1}{2}$  Jahre nach der ersten Übertragung ein, somit war im Durchschnitt jedesmal ein halbes Jahr von der Zeit der Übertragung bis zur Weiterimpfung verlaufen, also ein sehr langsames Wachstum. Die Tumoren der verschiedenen Übertragungen wiesen recht interessante histologische Strukturen auf.

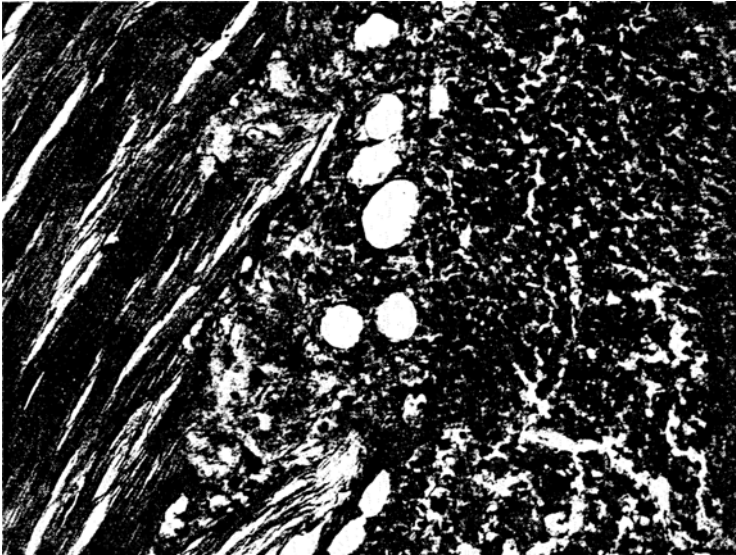


Abb. 6.

Die ursprüngliche Geschwulst war von ausgesprochen regelmäßigem Adenomcharakter. Bei der ersten Übertragung gingen 2 Fälle an, je einer auf einem Männchen und einem Weibchen. Der erstere zeigte ein ziemlich solides Carcinom (119). Abb. 6, ohne besonderen Drüsencharakter, dem Primärtumor (Abb. 5) durchaus unähnlich. Der zweite Tumor, der auf einem Weibchen angegangene, sah dagegen dem Primärtumor sehr ähnlich und bestand aus einem regelmäßigen Adenomgewebe (144). In der zweiten Passage ging der Tumor auf einem D.Z.- und auf einem gewöhnlichen Tier an. Der auf dem D.Z.-Tier entstandene Tumor war ein Carcinom mit recht verwischtem Adenomcharakter (183), stark invasivem Wachstum unreifer Zellen und reichlichem Stroma. Abb. 7. Das Bild des Tumors der zweiten Passage auf einer gewöhnlichen Maus (199), Abb. 8, zeigt stellenweise ausgeprägte Adenombildung, die viel deutlicher zum Ausdruck kommt als in dem Tumor des Tieres aus dem D.Z.-Stamm. Andererseits ist das Tumorgewebe ein solides Carcinom. Sehr viel Stroma ist vorhanden, beinahe sarkomartig (199—2), Abb. 9. In der Lunge wurde eine Metastase gefunden (200), Abb. 10. In der 3. Passage gingen 2 Tumoren an, je einer auf einer D.Z.-Maus (379) und einer gewöhnlichen Maus (280). In ersterem besteht noch eine Andeutung der Drüsenbildung;

das Stroma hat indessen stark zugenommen und zieht sich in dichten, zellreichen Bündeln um kleine Inseln von Carcinomgewebe herum. Abb. 11. Das Tumor-

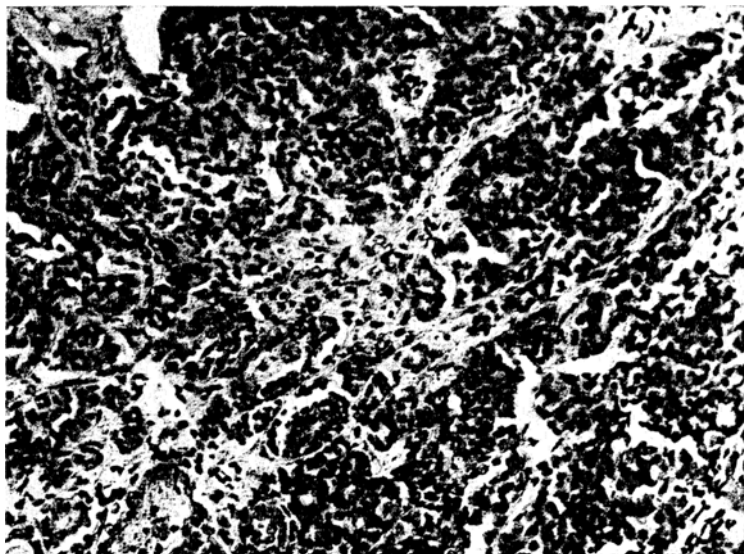


Abb. 7.

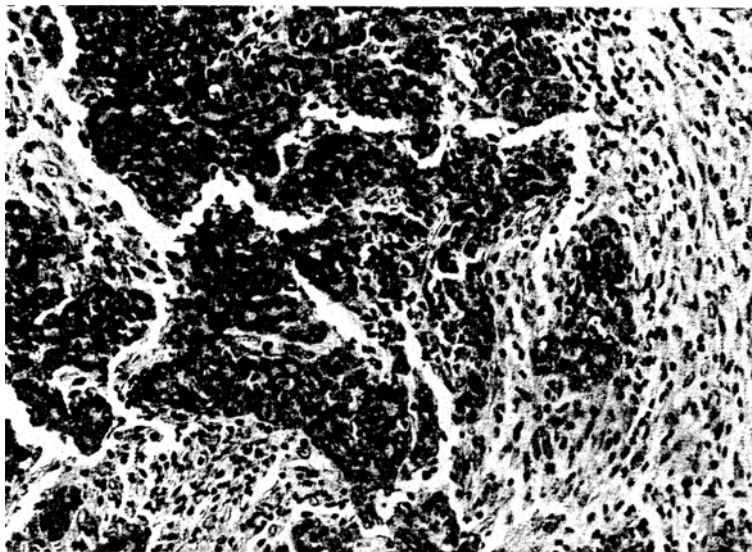


Abb. 8.

gewebe der 3. Passage auf einer gewöhnlichen Maus (280) zeigt ungewöhnlich viel Stroma, das fast sarkomartig die isolierten Inseln von Carcinomgewebe umgibt.

Die Kerne der Carcinomzellen sind recht diffus gefärbt und es sieht aus, als ob die Zellen regressiven Veränderungen unterliegen, indem sie Neigung zum Zerfall

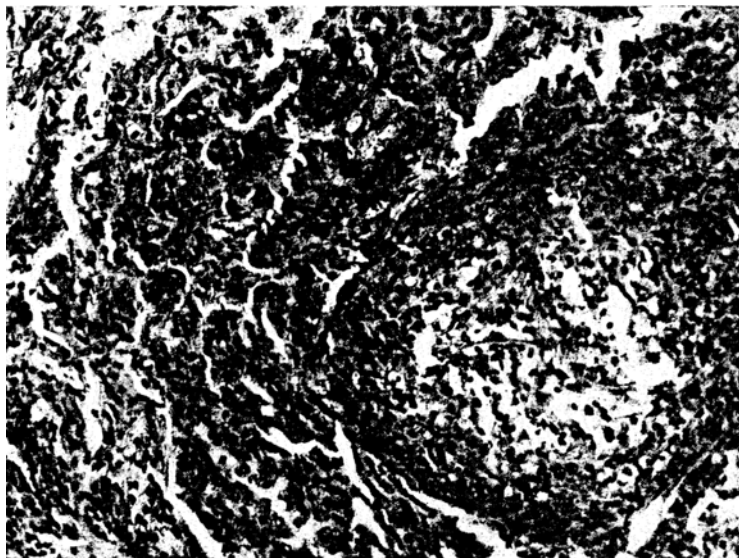


Abb. 9.

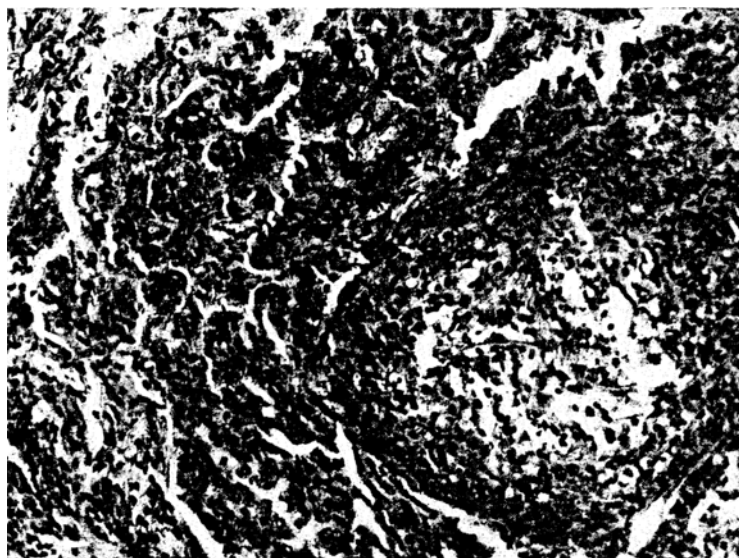


Abb. 10.

aufweisen, Abb. 12. Die Stromazellen, die mehr und mehr überhand nehmen, machen manchmal den Eindruck, als ob es sich um ein Carcino-Sarkom handelt,

doch scheint das langsame Wachstum der Tumoren darauf hinzudeuten, daß die Stromareaktion einen Abwehrvorgang von seiten des Organismus darstellt, der

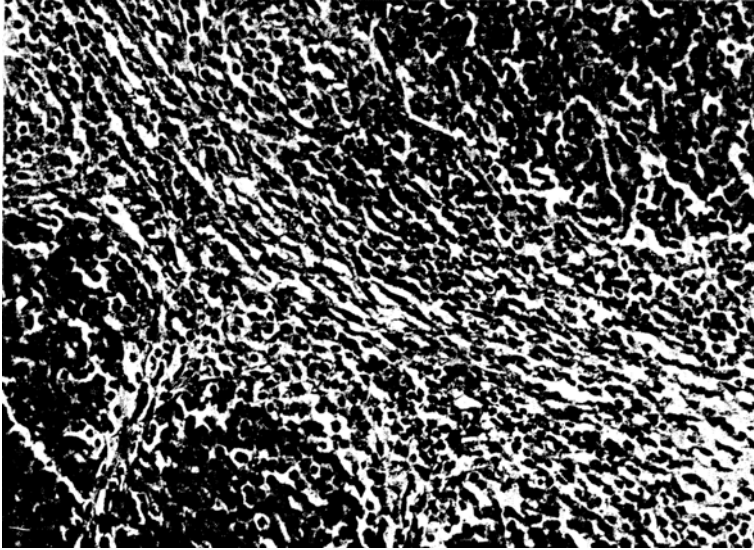


Abb. 11.

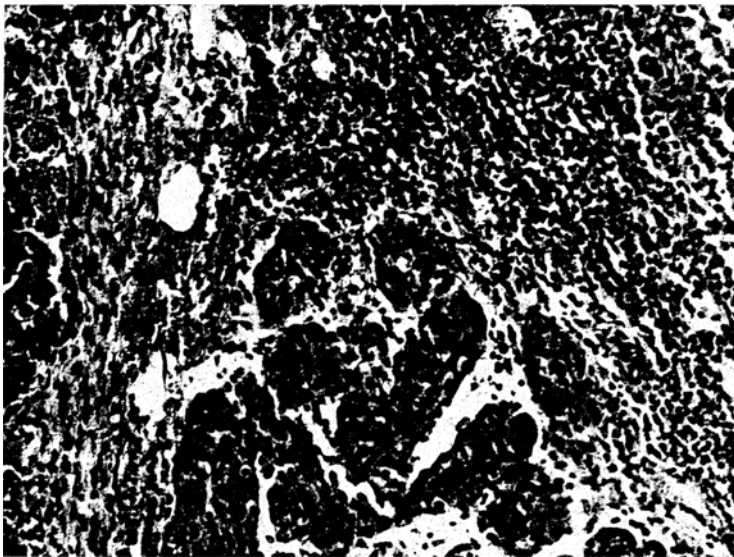


Abb. 12.

mehr und mehr die Übermacht gewinnt. Eine Entscheidung darüber konnte leider nicht getroffen werden, da der Tumor einging.

*Versuch Nr. 38/3* (Gruppe 4c). Milchdrüsengewebe wird aus der rechten Inguinalregion subcutan in die linke Flanke transplantiert. 7 Tage darauf werden Junge geboren. 2 Monate nach der Operation kann festgestellt werden, daß das Transplantat resorbiert ist. Neues Milchdrüsengewebe wird aus der linken Inguinalregion in die linke Flanke überpflanzt. Etwa 4 Wochen später wird das Transplantat subcutan auf die Rückenmitte transplantiert. 11 Monate danach stirbt das Tier. An der Transplantationsstelle befindet sich ein erbsengroßer, weißer Tumor, fest an dem darunterliegenden Muskelgewebe angewachsen, im übrigen ganz isoliert gelegen, ohne Verbindung mit dem intakten Mammagewebe. Die Mikroskopie (140), Abb. 13, zeigt unreifes Adenocarcinom mit stellenweise recht

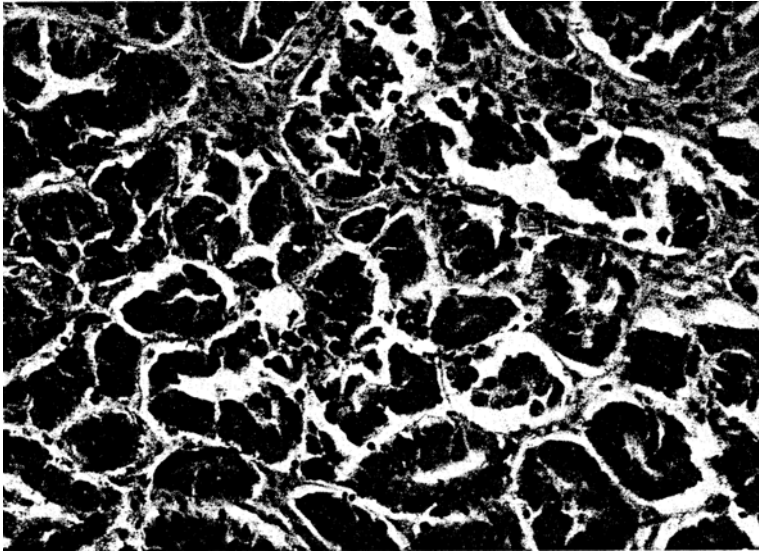


Abb. 13.

soliden Massen von Carcinomgewebe; oft sind die Längs- und Querschnitte der Drüsenschläuche von einem zellreichen Stroma ohne erkennbare Zellgrenzen umgeben. Keine Nekrosen.

*Versuch Nr. 90/27* (Gruppe 5a). Milchgefülltes Drüsengewebe aus der Inguinalregion wird subcutan in die Nackengegend gepflanzt. 3 Tage darauf werden Junge geboren. Das Tier stirbt etwa 19 Monate nach der Operation. Bei der Sektion zeigt sich ein erbsengroßer Tumor isoliert auf der Transplantationsstelle, fest mit den Fascien und der Muskulatur verwachsen. Die Mikroskopie (282), Abb. 14, zeigt ein stark infiltrierendes Carcinom, das aus sekretgefüllten Drüsen besteht.

*Versuch Nr. 90/30* (Gruppe 5a). Aus der rechten Inguinalgegend wird ein ziemlich großes Stückchen Milchdrüsengewebe subcutan in die Nackenregion überpflanzt. 4 Tage später wirft das Tier Junge. 8 Monate darauf wird ein haselnußgroßer Tumor etwas linksseitig am Nacken festgestellt. Bei der Sektion ist deutlich zu erkennen, daß dieser Tumor mit dem axillaren Mammagewebe nicht in Verbindung steht. Er enthält sehr viel Blut; bei der Sektion klappt er ganz zusammen. Blumenkohlähnliche Tumormassen ragen in die leeren Bluträume hinein. Keine Metastasen. Die Mikroskopie (124), Abb. 15, zeigt ein Adenocarcinom mit papillo-

matösen Excrencenzen, die in die Blutsinus hineinragen. Starkes, infiltratives Wachstum.

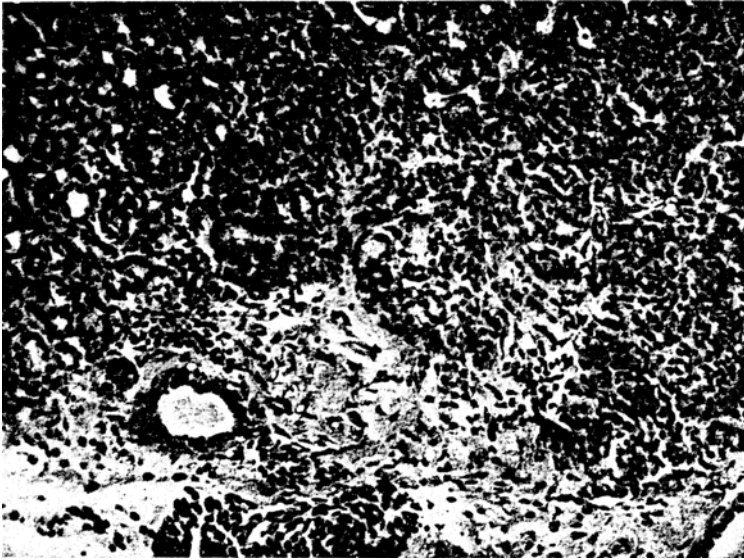


Abb. 14.

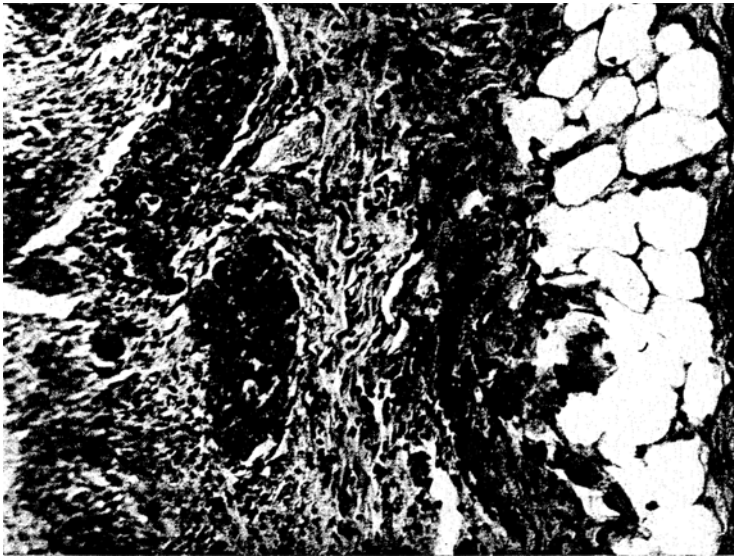


Abb. 15.

*Versuch 94/4* (Gruppe 5a). Reichlich parenchymatöses Milchdrüsengewebe aus der rechten Inguinalgegend wird subcutan in die Rückenmitte gepflanzt. 10 Tage



später bekommt das Tier Junge. 23 Monate nach der Operation wird ein erbsen-großer Tumor etwas auf der linken Seite des Rückens beobachtet. Bei der Sektion ergibt sich, daß er in keiner Beziehung zu den intakten Milchdrüsen steht. Vom Transplantat können keine Reste beobachtet werden. Keine Metastasen. Die Mikroskopie (367) zeigt große, blutgefüllte Hohlräume, in die papillomatöses Tumorgewebe hineingewachsen ist. Manchmal sieht es aus, als ob das Tumorgewebe wie in einer Gewebekultur in die Blutgerinnsel hineingewachsen ist und sie auf diese Weise organisiert hat.

*Versuch Nr. 94/51* (Gruppe 5a). Milchdrüsen-gewebe aus der rechten Axillargegend wird subcutan auf den Rücken, in der Mitte zwischen Nacken und Schwanzwurzel, gepflanzt. 10 Tage später werden Junge geboren. 7 Monate nach der Operation entsteht ein haselnußgroßer Tumor etwa linksseitig der Mittellinie des Rückens. Der Tumor ist recht flach, etwa  $1\frac{1}{2}$  cm lang, fest mit der Unterlage verwachsen, markartig mit ziemlich großen, blutgefüllten Hohlräumen. Keinerlei Reste des Transplantates zu finden. Keine Metastasen. Auf 7 Mäuse transplantiert, ohne daß Angehen erfolgt. Mikroskopie (113): Recht solides Carcinom mit großen Bluträumen. Stellenweise Drüsenbildung.

*Versuch Nr. 138/25* (Gruppe 5a). Milchkhaltiges Drüsengewebe aus der rechten Axillargegend auf den Rücken etwas linksseitig der Nackenmitte transplantiert. 1 Tag darauf werden Junge geworfen. Etwa 12 Monate nach der Operation findet sich ein haselnußgroßer Tumor etwas auf der linken Seite des Rückens, ungefähr 1 cm hinter dem Nacken. Er liegt isoliert, ohne Verbindung mit dem intakten Mammagewebe. Keine Überreste des Transplantats zu finden. Der Tumor steht nur durch lose Adhärenzen mit der Haut und den darunterliegenden Fascien in Zusammenhang. Sein Gewebe ist solide, ohne Blut und ohne Zeichen von Nekrose. Die Mikroskopie (376) zeigt ein typisches, recht solides Adenocarcinom.

*Versuch Nr. 103/45* (Gruppe 5c). Milchkhaltiges Drüsengewebe aus der rechten Inguinalgegend einer hochträgigen Maus in die linke Flanke transplantiert. Etwa 1 Monat später Retransplantation der Hälfte nach der rechten Flanke. 14 Tage darauf wird ein erbsengroßer Tumor an der Transplantationsstelle in der rechten Flanke palpiert. Nach einem Monat wird dieser zum zweitenmal retransplantiert, diesmal an die linke Flanke. 1 Jahr später wird ein haselnußgroßer Tumor in der linken Flanke und ein etwas kleinerer in der rechten Flanke festgestellt. Der linke Tumor, der an der Haut fest angewachsen ist, ist stark blutgefüllt. Keine Metastasen. Mikroskopie: die beiden Tumoren bestehen ziemlich gleichartig aus recht solidem Adenocarcinomgewebe (290, 219). Der Tumor der rechten Flanke (291) enthält etwas mehr Stroma als der aus der linken.

*Versuch Nr. 73/2* (Gruppe 6a). Milchdrüsengewebe aus der rechten Inguinalgegend wird in die linke Flanke überpflanzt. Etwa 17 Monate nach der Operation läßt sich ein haselnußgroßer Tumor in der linken Flanke beobachten. Bei der Sektion zeigt sich etwas gelbliches Gewebe, das sicher von Resten des Transplantats herrührt. Der untere Pol des Tumors ist mit diesen Resten zusammengewachsen. Hier lag ein Fall vor, wo es nur mit großen Schwierigkeiten zu entscheiden war, ob der Tumor aus dem intakten Milchdrüsengewebe oder aus dem Transplantat entstanden war. Das gesunde Mammagewebe auf der linken Seite schien gar keine Verbindung mit dem Tumor zu haben. Die Mikroskopie an Serienschnitten des Tumors und der nekrotischen Reste des Transplantats zeigt, daß im letzteren Tumorgewebe enthalten ist, das allmählich in den großen Tumor hineingewachsen war (161, 162 und 163). Die Schwierigkeit bestand nun darin, zu entscheiden, ob der Tumor das primär Vorhandene war, das erst später in die Reste des Transplantats hineinwuchs, oder ob er erst aus dem Transplantat heraus entstanden ist. Wie bereits angegeben, hatte der Tumor keine Verbindung mit den intakten Milchdrüsen. Übrigens wurde auch eine Lungenmetastase festgestellt.



*Versuch 127/2* (Gruppe 7a). Milchhaltiges Drüsengewebe aus der rechten Inguinalgegend wird nach der linken Flanke transplantiert. Etwa 8 Monate später wird ein erbsengroßes Knötchen in der linken Flanke festgestellt, das nach einem weiteren Monat zu einem haselnußgroßen Tumor angewachsen ist. Das Tier wird getötet. Der Tumor befindet sich ganz isoliert auf dem Rücken und steht auf beiden Seiten in keiner Weise mit den intakten Milchdrüsen in Verbindung. Er ist mit der Unterlage fest verwachsen, die darüberliegende Haut ist verschiebbar. Keine Metastasen. Die Mikroskopie (191) zeigt ein recht solides Adenocarcinom, doch ist der Drüsencharakter ziemlich verwischt. Die Zellgrenzen sind fast nicht erkennbar.

Im ganzen wurden 12 sichere Fälle von Carcinom im Milchdrüsen-transplantat beobachtet. Die Hälfte davon gehört der Versuchsgruppe 5 an, d. h. Mäusen, die sich in der letzten Trächtigkeitsperiode befanden. In der Gruppe 5a, also bei Tieren nach einmaliger Transplantation der Milchdrüsengewebe, kamen 5 Fälle vor. Diese Gruppe umfaßt 127 Tiere. Von ihnen starben 9 innerhalb 14 Tagen nach der Operation, außerdem 2, die Abscesse im Transplantat hatten. Nach der Anzahl der somit verbliebenen 116 Tiere berechnet trat Carcinom in 4,3% der Fälle auf. Diese Anzahl positiver Fälle ist jedoch ganz sicher zu niedrig, weil wir nicht wissen, in wie vielen Fällen das Transplantat früh resorbiert oder nekrotisiert war. Bei 82 Tieren war dies bestimmt der Fall, doch konnte es erst bei der Sektion festgestellt werden. Zu welchem Zeitpunkt nach der Operation das Absterben des Transplantats aber stattgefunden hat, wissen wir nicht. Rechnen wir damit, daß sämtliche Transplantate recht bald nach der Operation eingegangen sind, so erhöht sich der Prozentsatz der positiven Fälle auf 15.

Der Zustand des Transplantats konnte nur bei den Retransplantationen oder Sektionen festgestellt werden. Hierbei zeigte es sich, daß die Transplantate häufig nur bis zu 2—3 Monaten gesund geblieben und gut eingeheilt waren. Öfters konnten zwar gesunde Transplantate noch nach 9—12 Monaten gesehen werden, doch sind andererseits nekrotisierte Transplantate bereits 3—8 Wochen nach der Operation zur Beobachtung gekommen. Bei diesen unkontrollierbaren Vorgängen ist es nicht möglich, über die Häufigkeit von Tumorentwicklung im Transplantat etwas Sicheres zu sagen.

Tabelle 3 gibt die ungefähre Zeit für die Entstehung der Tumoren nach der Transplantation an. Die frühesten Termine liegen um 7 Monate, der längste um 23 Monate herum. Am häufigsten sind es 12 Monate. Die Latenzzeit beträgt im Durchschnitt etwa 8 Monate.

In der Versuchsreihe 1 wurden 50 Spontantumoren beobachtet, davon 11 in der Gruppe 5.

Man sollte erwarten, daß die Häufigkeit, womit Carcinome in Transplantaten von Milchdrüsengewebe bei Tieren des D.Z.-Stammes auftraten,

Tabelle 3.

Anzahl der Tiere	Zeit in Monaten
1	7
2	8
5	12
1	15
1	17
1	19
1	23

viel größer ist als bei den gewöhnlichen, von Händlern bezogenen Mäusen. Um dies nachzuprüfen, wurden ähnliche Versuche an hochträchtigen, der Versuchsgruppe 5a zugehörigen Tieren des D.Z.-Stammes angestellt. In Tabelle 4 wird eine Übersicht über das gesamte Versuchsmaterial und die Ergebnisse gegeben. Insgesamt wurde bei 221 Tieren Milchdrüsengewebe einmal transplantiert.

*Versuch 142/39.* D.Z.-Stamm. Milchdrüse aus der rechten Inguinalregion wird subcutan auf den Rücken, nahe der Schwanzwurzel transplantiert. 1 Tag später werden Junge geworfen. 1 Jahr nach der Operation erscheint ein erbsengroßer Tumor an der Transplantationsstelle. 3 Wochen darauf wird die Maus getötet. Der Tumor hat die Größe einer Haselnuß erreicht und ist fest mit der Unterlage verwachsen. Im Tumorgewebe wird der früher eingelegte Seidenfaden wiedergefunden. Es besteht keine Verbindung mit dem intakten Milchdrüsengewebe. Die Mikroskopie (382) zeigt ein Adenocarcinom, stellenweise mit recht soliden Lobuli, von einem zellreichen Stromagewebe umgeben.

*Versuch Nr. 133/43.* D.Z.-Stamm. Milchdrüse aus der rechten Axillarregion wird auf den Rücken in Nackennähe transplantiert. 5 Tage danach werden Junge geworfen. 12 Monate später erscheint ein haselnußgroßer Tumor in der Mitte des Nackens, ganz isoliert liegend, ohne Verbindung mit den beiden Axillarregionen und nicht an der Haut festgewachsen. Der Tumor ist stark hämorrhagisch. Keine Metastasen. Es besteht kein Zweifel darüber, daß die Geschwulst im Transplantat entstanden ist. Die Mikroskopie (377) zeigt ein gewöhnliches Adenocarcinom mit großen, blutgefüllten Sinus und stark infiltrierendem Wachstum.

*Versuch Nr. 133/35.* D.Z.-Stamm. Milchdrüsengewebe (milchhaltig) aus der rechten Inguinalregion wird auf den Rücken nahe der Schwanzwurzel transplantiert. 3 Tage später wirft das Tier Junge. 7 Monate nach der Operation wird ein haselnußgroßer Tumor an der Transplantationsstelle ein wenig rechts neben der Mittellinie beobachtet. Er ist solide mit dem darunterliegenden Muskelgewebe verwachsen. Keine Metastasen. Die Mikroskopie (283) zeigt ein Adenocarcinom mit ziemlich regelmäßiger Drüsenbildung und stark infiltrativem Wachstum.

*Versuch Nr. 133/38.* D.Z.-Stamm. Milchgefülltes Drüsengewebe aus der rechten Axillargegend in die Nackengegend transplantiert. 3 Tage danach wirft das Tier Junge. 7 Monate nach der Operation findet sich ein haselnußgroßer Tumor in der linken Nackengegend, kugelförmig und leicht herauschälbar. Keine Verbindung mit den intakten Milchdrüsen. Keine Metastasen. Die Mikroskopie (267) zeigt ein recht solides Adenocarcinom, stellenweise mit sekretgefüllten Drüsen.

*Versuch Nr. 142/43.* D.Z.-Stamm. Milchgefülltes Drüsengewebe aus der rechten Inguinalgegend wird auf den Rücken, nahe der Schwanzwurzel, transplantiert. 3 Tage danach wirft das Tier Junge. 2 Monate nach der Operation wird ein haselnußgroßer Tumor auf dem Rücken, ein wenig links der Schwanzwurzel, gefunden. Er ist dunkelrot gefärbt und läßt sich leicht aus Haut und Unterlage herauschälen. Keine Verbindung mit den intakten Milchdrüsen. Metastasen werden nicht gesehen. Der Tumor besteht aus blutgefüllten Cysten. Mikroskopie (192): Stark infiltrierendes Adenocarcinom. Papillomatöse Excrencenzen sind in die Blutsinus hineingewachsen.

*Versuch 133/40.* D.Z.-Stamm. Milchdrüse aus rechter Axillargegend in die Nackenregion, ein wenig rechtsseitig eingepflanzt. 3 Tage später werden Junge geworfen. 3 Monate nach der Operation wird ein haselnußgroßer Tumor im Nackengebiet festgestellt. Gleichzeitig hiermit ist ein zweiter Tumor in der rechten Inguinalregion erschienen. Der Nackentumor ist blutgefüllt; eine Verbindung mit dem intakten Mammagewebe kann nicht nachgewiesen werden. Keine Metastasen.

Die Mikroskopie (227) zeigt ein Adenocarcinom mit sehr regelmäßigen Drüsen-schläuchen. Stark infiltrierendes Wachstum sekretgefüllter Drüsen.

*Versuch 142/14.* D.Z.-Stamm. Milchdrüse aus der rechten Inguinalregion in die linke Flanke gepflanzt. 8 Tage später ist ein erbsengroßer Tumor an der Transplantationsstelle fühlbar. 6 Wochen nach der Operation stirbt das Tier. Der Tumor ist von Erbsengröße, fest mit der Haut verwachsen und von einer deutlichen Kapsel umgeben. Mikroskopie (167): Solides Adenocarcinom.

*Versuch 92/28.* D.Z.-Stamm. Milchgefülltes Drüsengewebe aus der rechten Axillargegend subcutan auf den Rücken transplantiert. 1 Tag später werden Junge geboren. Das Tier wird wieder gepaart und es wird ein Junges geboren.

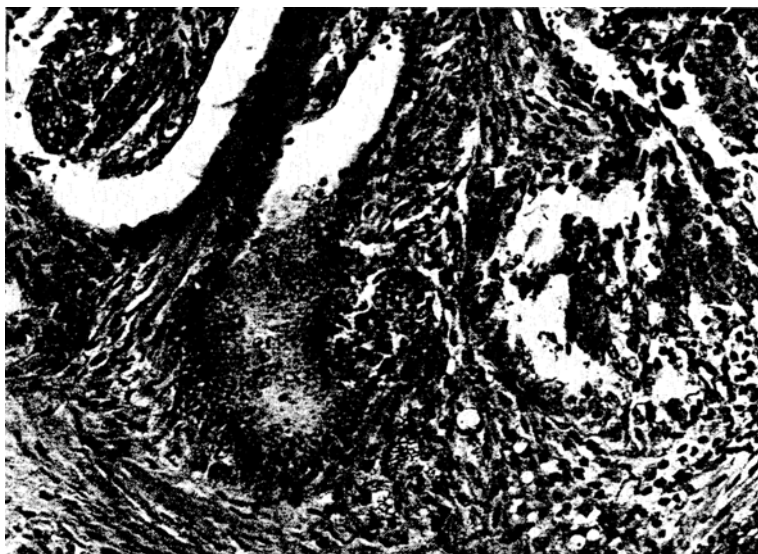


Abb. 16.

9 Monate nach der Transplantation findet sich ein haselnußgroßer Tumor in der Mitte des Rückens, etwa 1 cm hinter dem Nacken, ohne Verbindung mit den intakten Milchdrüsen. An seinem hinteren Pol befindet sich ein leicht bräunlicher Geweberest, etwa erbsengroß, der zweifellos von dem implantierten Drüsengewebe herrührt. Diesen Teil des Tumors, der also mit dem Geweberest zusammenhängt, schneiden wir in Serien, um die Verbindung zwischen den beiden Geweben zu untersuchen. Die Mikroskopie (138–39) zeigt ein solides Adenocarcinom, stellenweise von regelmäßiger Adenomstruktur. Andere Stellen weisen überwiegende Cystenbildung auf. Der Tumor ist stark infiltrierend (139), Abb. 16. Es sieht aus, als ob zwei verschiedene Carcinomzellentypen vorhanden sind: 1. in regelmäßigen Drüsen-schläuchen geordnete Zellen mit klaren, etwas aufgeblasenen Zellkernen, die staubartige Chromatinkörnchen enthalten (Abb. 17); 2. dunkelgefärbte, stark metaplastische Zellen ohne besonders ausgeprägten Adenomcharakter, mit scirrhus-artiger Infiltration. Die Kerne sind dunkler gefärbt, mit diffusem Chromatin. Der gelbliche Rest, der mit dem Tumor in enger Verbindung steht, zeigt in Serieu-schnitten bedeutende Mengen der gleichen Carcinomzellen wie die große Ge-schwulst. Außerdem sind nekrotische Gebiete vorhanden, die sehr deutlich er-kennen lassen, daß sie aus zerfallenem adenocarcinomatösen Gewebe bestehen.

Der Tumor wird auf 3 Tiere des D.Z.-Stammes überpflanzt, doch ist ein Erfolg nicht zu verzeichnen.

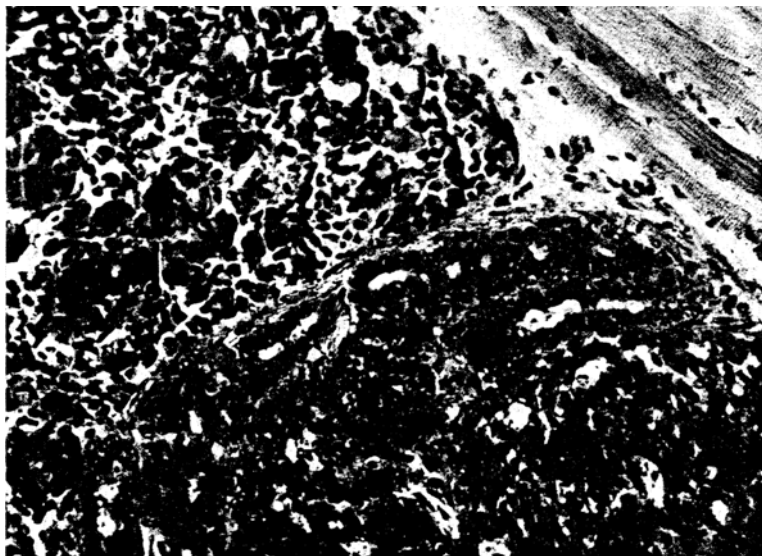


Abb. 17.

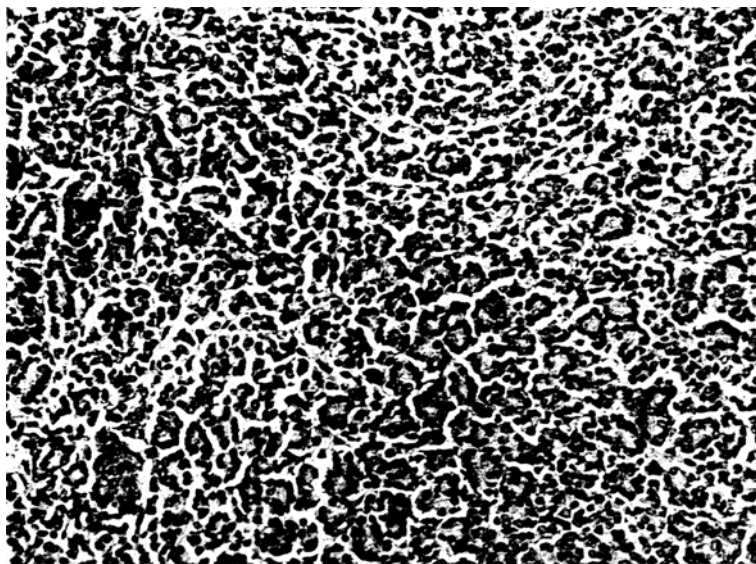


Abb. 18.

*Versuch 92/23.* D.Z.-Stamm. Milchgefülltes Drüsengewebe aus rechter Axillargegend wird subcutan auf den Rücken, in der Nähe der Schwanzwurzel, trans-

plantiert. 4 Monate später an der Impfstelle über der Schwanzwurzel ein haselnußgroßer Tumor, mit der Haut und dem unterliegenden Muskelgewebe fest verwachsen. Die Geschwulst ist in Läppchen geteilt. In der linken Axillargegend ist ein zweiter Tumor aus der dortigen Milchdrüse entstanden. Keine Metastasen. Mikroskopie des Tumors aus dem Transplantat (91) zeigt sehr regelmäßiges Adenocarcinom ohne Nekrosen, Abb. 18. Der Tumor aus der intakten linken Axillardrüse (92) unterscheidet sich deutlich von dem ersteren durch ganz unreife Zellen ohne regelmäßige Drüsenzeichnung; außerdem sind die Zellen größer als die des Tumors aus dem Transplantat, Abb. 19.

*Versuch Nr. 92/18.* D.Z.-Stamm. Milchdrüse aus der rechten Axillargegend subcutan auf den Rücken kurz über der Schwanzwurzel transplantiert. 5 Tage

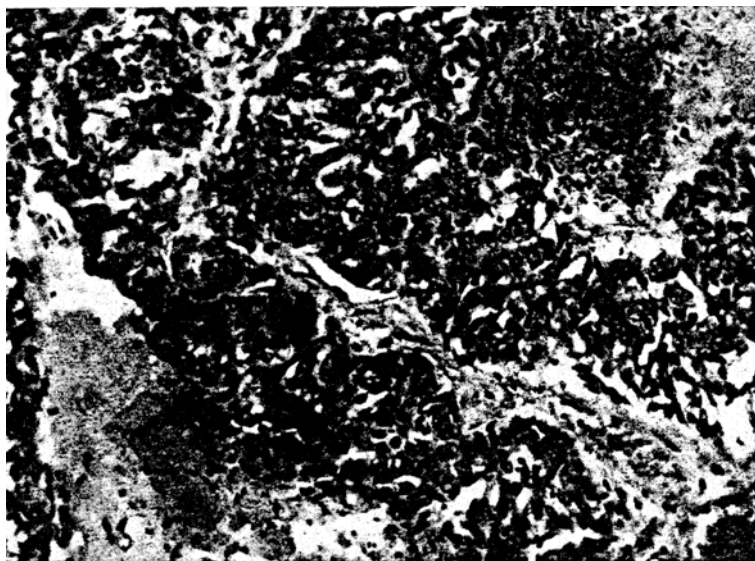


Abb. 19.

später bekommt das Tier Junge. Etwa 5 Monate nach der Operation findet sich ein haselnußgroßer Tumor in der linken Axillargegend, der aus der intakten Milchdrüse entstanden ist (99). Vor der Schwanzwurzel, der Transplantationsstelle entsprechend, ein flacher, gelblicher Geweberest. Die Mikroskopie (101—2), Abb. 20, zeigt ein Carcinom im Anfangsstadium: Lebhaftes Proliferation von Drüsenschläuchen und infiltratives Wachstum in das subcutane Fett- und Muskelgewebe hinein.

*Versuch 133/46.* D.Z.-Stamm. Milchgefülltes Drüsengewebe aus rechter Axillargegend subcutan in die Nackenregion transplantiert. Kaum einen Monat später ein haselnußgroßer Tumor im Nacken fühlbar. In Narkose wird eröffnet, worauf ein kleiner isolierter Tumor sichtbar wird, von dem ein Stückchen zur Mikroskopie excidiert wird (148). Abb. 21 zeigt ein stark metaplasiiertes Carcinomgewebe, stellenweise mit Drüsenschläuchen, im übrigen von scirrhösem Wachstum, mit langgestreckten Carcinomzellen. 14 Tage später hat der Tumor die Größe einer Walnuß erreicht und sich über die ganze Nackenregion verbreitet, doch ohne Verbindung mit den intakten Milchdrüsen. Er ist sowohl mit der Unterlage wie auch mit der Haut fest verwachsen. Metastasen sind nicht zu finden. Der größte

Teil, etwa  $\frac{4}{5}$ , des Tumors ist nekrotisch. Er wird auf 20 Männchen des D.Z.-Stammes weitergeimpft und ist nach 14 Tagen auf 19 Tieren angekommen. Mikro-

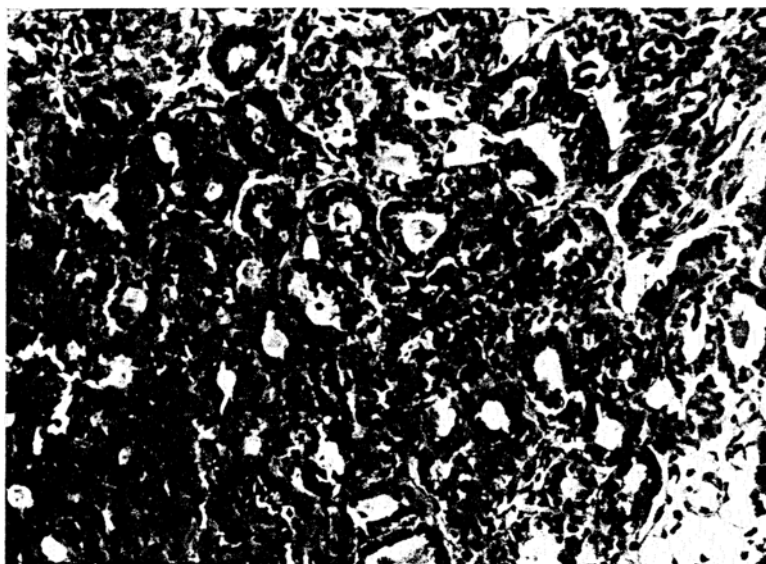


Abb. 20.

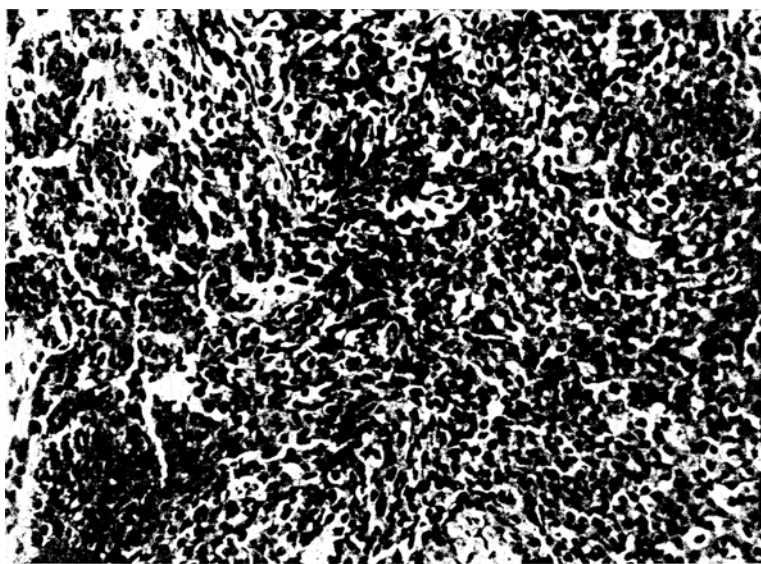


Abb. 21.

skopie des Tumors in der 1. Passage (157). Abb. 22, zeigt ein Gewebe wie beim Primärtumor, doch ist ziemlich viel Stromagewebe hinzugekommen. Der Tumor

wird hiervon auf 20 D.Z.-Tiere weitergeimpft, ebenso auf 10 gewöhnliche Tiere (2. Passage). Von diesen Übertragungen gehen nur 11 auf D.Z.-Tieren an. Mikro-

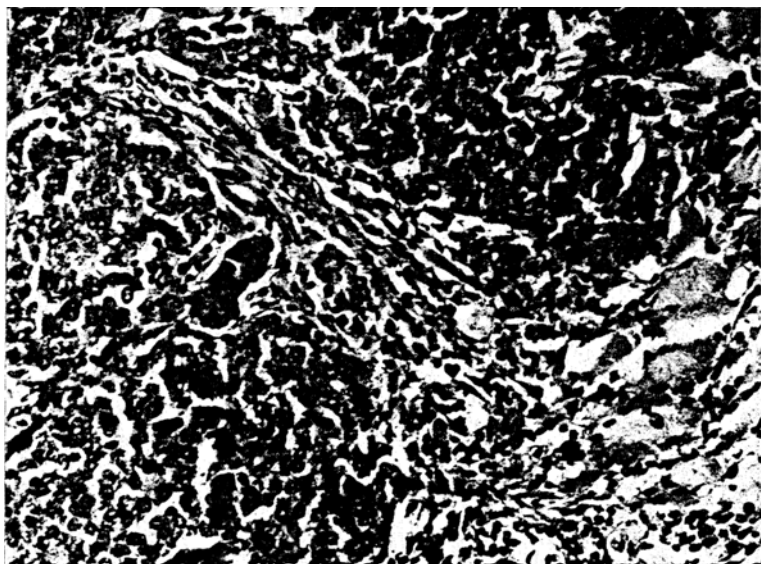


Abb. 22.

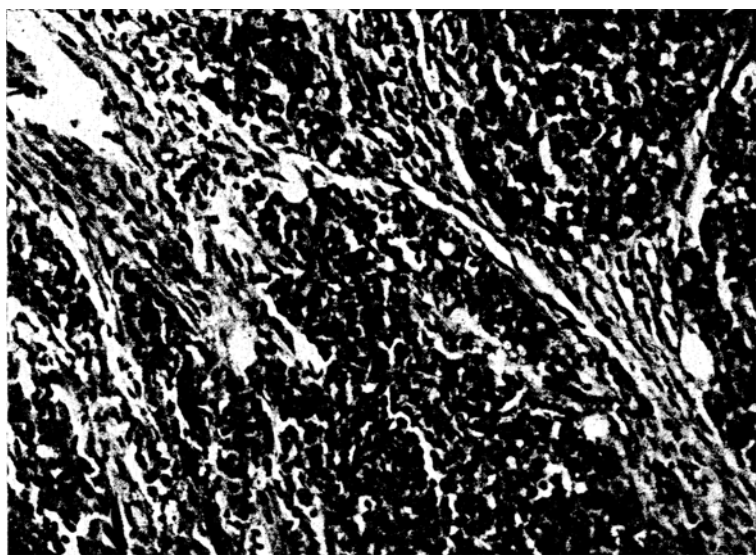


Abb. 23.

skopie des Tumors aus der 2. Passage zeigt ein Bild ähnlich dem des primären Tumors. Das Stroma scheint weiter zugenommen zu haben (169), Abb. 23. Nach

Weiterimpfung auf 10 D.Z.- und 10 gewöhnliche Tiere geht der Tumor bei 3 D.Z.- und 5 gewöhnlichen Mäusen an, um bei letzteren doch später zurückzugehen.

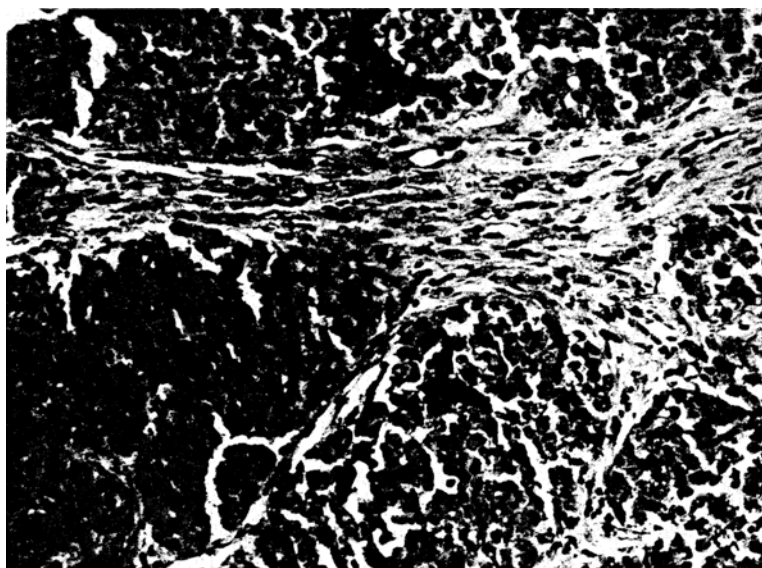


Abb. 24.

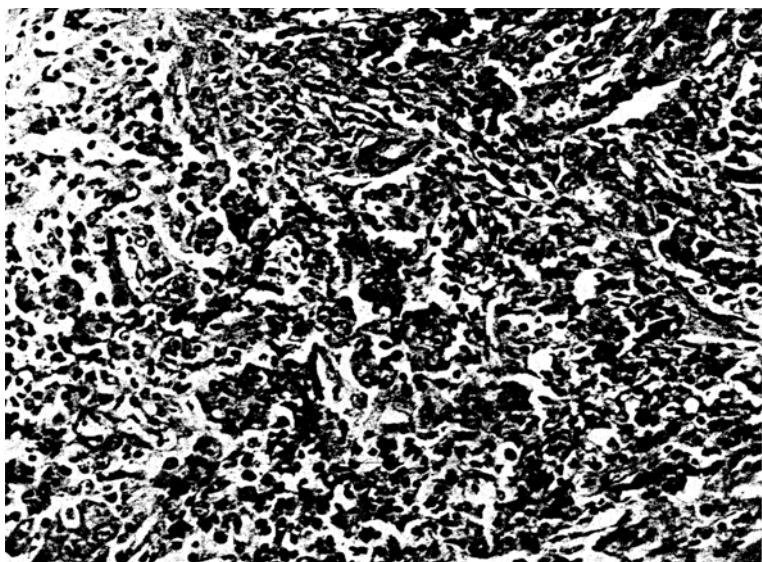


Abb. 25.

Mikroskopie des Tumors in der 3. *Passage* zeigt lockeres Carcinomgewebe in Lobuli, ohne Nekrose und von zellreichem Stroma umgeben (190), Abb. 24. In der



4. *Passage* wird auf 10 D.Z.-Tiere und 20 gewöhnliche Tiere überimpft. Nur auf einem D.Z.-Tier geht die Geschwulst an. Mikroskopie (198), Abb. 25, zeigt ein beinahe scirrhusartiges Tumorgewebe mit stark invasivem Wachstum. In der 5. *Passage* werden 5 D.Z.-Tiere geimpft, die alle Anschlag ergeben. Mikroskopie (238) wie in Abb. 26. In der 6. *Passage* werden 5 D.Z.-Tiere geimpft, von denen 4 ein Angehen erbringen. Die Mikroskopie (244) wie in Abb. 25, das Stroma vielleicht noch reichlicher. In der 7. *Passage* werden 5 D.Z.-Tiere geimpft, alle mit positivem Ausfall. Das mikroskopische Bild unverändert; einige Nekrosen sind vorhanden; in der Lunge eine Metastase. In der 8. *Passage* gehen 3 von 5 geimpften D.Z.-Tieren an.

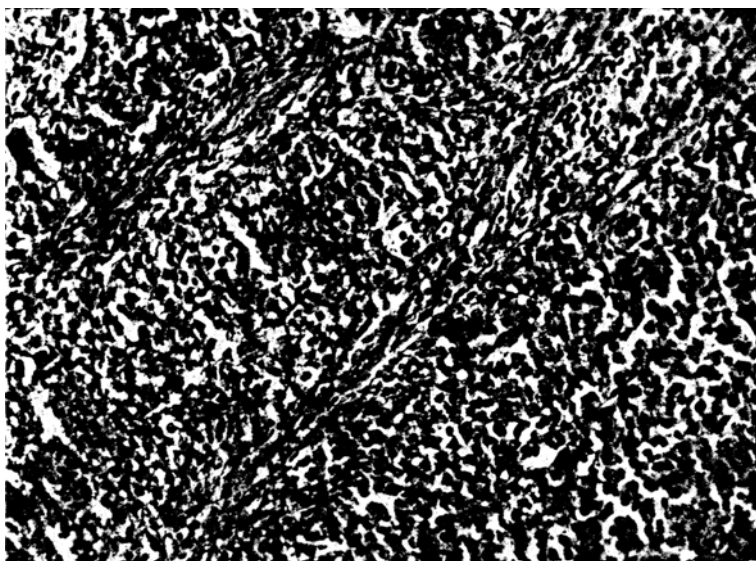


Abb. 26.

Die Mikroskopie (288) zeigt ein ziemlich lockeres Carcinomgewebe, der Adenomcharakter etwas verwischt. Ein zellreiches Stromagewebe infiltriert das Carcinom- und Muskelgewebe, Abb. 26. In der 9. *Passage* entstehen bei allen 5 D.Z.-Tieren Tumoren. Das mikroskopische Bild (300) ist unverändert. In der 10. *Passage* bekommen 2 von 5 D.Z.-Tieren Tumoren. Die Mikroskopie (344) zeigt ein ganz lockeres Carcinomgewebe, darin einige nekrotische Foci. Das Stroma hat zugenommen und trägt stellenweise den Charakter eines Carcino-Sarkoms (Abb. 27). In der 11. *Passage* bei 18 Tieren gehen keine Tumoren an, weil die Überimpfung leider zu spät erfolgt und schon Ulcerationen vorhanden sind. Der ihnen implantierte ursprüngliche Tumor geht 20 Monate nach der ersten Operation ein. Der bei einem D.Z.-Tier entstandene Tumor läßt sich anfangs auch auf gewöhnliche Mäuse übertragen, doch bleibt von der 3. *Passage* an die Weiterimpfung auf diese ohne Erfolg.

In Tabelle 4 ist das gesamte Material dieser Versuchsreihe zusammengestellt. Bei 221 Tieren des D.Z.-Stammes wurden Milchdrüsen 1mal transplantiert. Hiervon starben 26 Tiere innerhalb 14 Tagen nach der Operation, während 1 Tier einen Absceß bekam. Bei 103 Tieren konnte

Tabelle 4.

	Anzahl der Tiere	Gestorben innerhalb 14 Tagen nach Transplantation	Trans- plantat resorbiert	Nekro- tische Reste	Infek- tion	Carcinom im Transplantat
a	221	26	103	59	1	11
b	22	11	4	6	0	0
Insgesamt	243	37	107	65	1	11

Resorption des Transplantats, bei 59 Nekrose festgestellt werden. Angenommen, diese Vorgänge erfolgten schon recht früh nach der



Abb. 27.

Operation, worüber wir freilich gar nichts wissen, so bleiben 32 Tiere für die Berechnung übrig. Mit dieser Zahl als Grundlage machen die 11 sicheren Fälle von Carcinom dann 34,3% aus. Leider ist es unmöglich, Genaues hierüber zu sagen. Jedenfalls ist der Erfolg, d. h. die Entstehung von Transplantatcarcinomen, im Rahmen dieser Versuche bei den Mäusen des D.Z.-Stammes bedeutend größer als bei den gewöhnlichen Tieren, was eigentlich auch zu erwarten war. Die Anzahl spontaner Carcinome in der Versuchsreihe 1 (1036 Tiere) betrug 50, d. h. etwa 5%; für den D.Z.-Stamm war die Anzahl 16, d. h. 8,2%.

Tabelle 5 gibt die annähernde Latenzzeit für das Auftreten von Tumoren im Transplantat an. Im Durchschnitt erschienen die Geschwülste 5,7 Monate nach der Transplantation, also durchgehend schneller als bei den gewöhnlichen Mäusen.

Einige kleine Versuchsreihen sollen hier nur kurz erwähnt werden, weil sie erfolglos verliefen. Bei 65 gewöhnlichen Mäusen, die trächtig waren, wurde Milchdrüsengewebe 5 Male auf verschiedene Stellen der Tiere transplantiert.

In einer andern Versuchsreihe, umfassend 33 gewöhnliche weibliche Mäuse, wurde die Milchdrüse auf männliche Tiere transplantiert und nach etwa 14 Tagen wieder auf die betreffenden ersten Weibchen zurückgepflanzt.

Tabelle 5.

In einer dritten Versuchsreihe wurde bei 49 gewöhnlichen Mäusen nach Vorbehandlung längere Zeit hindurch mit Oestrin (Ovex, Leo), jedesmal mit 10 int. Einheiten, Milchdrüsengewebe einmal oder mehrere Male autolog transplantiert.

Anzahl der Tiere	Zeit in Monaten
2	1
1	2
1	3
1	4
1	5
2	7
1	9
2	12

#### 4. Autologe Transplantationen von Milchdrüsengewebe nach Einführung von wenigen malignen Carcinomzellen.

Wie in der Einleitung angegeben, bestand die Absicht, mit Hilfe autologer Transplantationen eine Stütze für die Annahme zu suchen, daß bösartige Gewebezellen im normalen Gewebe latent vorhanden sind. Nachdem jetzt festgestellt ist, daß bösartige Geschwülste in autolog transplantierten, normalen Geweben entstehen können, meldet sich das Problem von den eigentlichen Ursachen der Entstehung von Geschwülsten im Transplantat:

1. Sind Krebszellen schon im Transplantat vorhanden, und wenn ja, werden sie dann durch selektive Anreicherung mobilisiert, so wie wir es uns vorgestellt haben?

2. Oder werden die Krebszellen durch einen Regenerationsreiz gebildet?

3. Oder bilden sie sich, weil zufällig ein Tumor im Anfangsstadium vorhanden war?

4. Oder entstehen die Geschwülste im Transplantat aus denselben unbekannten Gründen, aus denen sie spontan in den intakten Geweben erscheinen, d. h. unabhängig von der betreffenden Körperstelle?

Mit anderen Worten: Spielt überhaupt der Transplantationsakt eine entscheidende Rolle für die Tumorentwicklung, und wenn ja, welche?

All diese Fragen sind einer experimentellen Beweisführung schwer zugänglich.

Wäre eine Tumoranlage schon durch das Vorhandensein latenter Geschwulstkeime früh determiniert, so bestände vielleicht doch die Möglichkeit, einen Beweis dafür auf folgendem Wege zu erbringen: Nach Einführung von wenigen malignen Geschwulstzellen in die Gewebe und

späterer, nach richtig bemessener Zeit ausgeführter autologer Transplantation der betreffenden Gewebe ließe sich vielleicht erkennen, ob die latenten Geschwulstzellen sich zu Tumoren entwickeln. Solche Versuche haben wir an einem großen Material durchgeführt, nachdem bereits früher beobachtet worden war, daß Tumorentwicklung manchmal 4—5 Monate nach Impfung mit malignen Carcinomzellen zustande kam<sup>3</sup>. Nun ist allerdings nicht in einem einzigen Fall sicher festgestellt worden, daß eine Geschwulstentwicklung wirklich erfolgt war. Für das Mißlingen können mehrere Gründe vorgelegen haben. Mit besser geeigneten Geschwulstzellen als den von uns benutzten bestände durchaus die Möglichkeit, zu einem Erfolg zu gelangen. Diese Art Untersuchungen gehen sozusagen im Dunkeln vor sich, denn wir sind zur Zeit der Transplantation des Gewebes ganz im Ungewissen darüber, ob die eingeführten Geschwulstzellen noch am Leben sind oder nicht. Da es sich um eine äußerst kleine Anzahl von Zellen handelt, kann man nicht einmal wissen, ob sie noch bei der Einführung in das Gewebe hinein lebendig sind. Für diese Untersuchungen benutzten wir Carcinomzellen aus dem *Ehrlichschen* Mammacarcinom. Diese Zellen gehören von vornherein schon einem sehr bösartigen Stamm an, der in 100% auf allen weißen Mäusen angeht. Es ist sehr wohl möglich, daß sämtliche Tiere, die nach einer bestimmten Zeit keine Geschwülste bekommen haben, schon keine lebenden Carcinomzellen mehr erhielten. Das würde mit dem Charakter der *Ehrlich-Carcinomzellen* sehr gut übereinstimmen, während für die von uns vorgesehenen Versuche langsamer wachsende und weniger maligne Tumorzellen wahrscheinlich besser geeignet wären.

Die Versuche wurden in der folgenden Weise ausgeführt: Reinkulturen eines 14 Jahre alten Stammes des *Ehrlichschen* Mäusecarcinoms (Frankfurter Stamm)<sup>4</sup> wurden mit einem scharfen Starmesser in sehr kleine, fast staubfeine Stückchen geschnitten und mit einem Tropfen *Ringer-Lösung* aufgeschwemmt. Eine einzige Kultur wurde manchmal in 30—40 winzige Teilchen geschnitten. Wie bei den Transplantationsversuchen wurde auch hier die inguinale Milchdrüse der jungen Mäuse durch einen Schnitt freigelegt. Mit der Spitze des Starmessers wurde ein kleines Fragment der Carcinomkultur in das Drüsengewebe eingelegt und dann die Wunde vernäht. Sämtliche Tiere mit Geschwülsten an der Impfstelle wurden ausgeschaltet. Diejenigen Tiere, die innerhalb 3—12 Monaten keine Tumoren entwickelten, wurden für die weiteren Untersuchungen behalten, d. h. die betreffenden Milchdrüsen mit vorher eingebrachten Tumorzellen wurden bei ihnen in gewohnter Weise autolog transplantiert.

Es wird nicht ohne Interesse sein, zu erwähnen, daß eingebrachte Tumorzellen 6—8 Monate latent im Gewebe liegen konnten, bevor das Vorhandensein eines Tumors feststellbar war. Das ist eine sehr lange Zeit in Anbetracht der relativ kurzen Lebensdauer einer Maus. Derartige

Beobachtungen sind schon früher gemacht worden<sup>3</sup>. Am häufigsten entwickelten sich die Geschwülste innerhalb zweier Monate.

Tabelle 6.

Zeit nach der Transplantation	Anzahl der Tiere	Gestorben innerhalb 14 Tagen nach Transplantation	Transplantat resorbiert	Nekrotische Reste	Infektion	Carcinom im Transplantat
3 Mon.	120	0	54	57	1	1
retranspl.	0	0	0	0	0	0
3 Mon.	120	0	54	57	1	1
4 Mon.	139	24	74	26	0	0
retranspl.	19	0	12	7	0	0
4 Mon.	158	24	86	33	0	0
5 Mon.	78	17	30	22	3	1
retranspl.	12	0	10	2	0	0
5 Mon.	90	17	40	24	3	1
6 Mon.	45	5	21	10	0	1
retranspl.	7	0	1	6	0	0
6 Mon.	52	5	22	16	0	1
7 Mon.	30	3	15	7	1	0
retranspl.	10	0	3	7	0	0
7 Mon.	40	3	18	14	1	0
8 Mon.	32	4	5	10	0	0
retranspl.	3	0	1	2	0	0
8 Mon.	35	4	6	12	0	0
9 Mon.	17	1	5	3	1	0
retranspl.	0	0	0	0	0	0
9 Mon.	17	1	5	3	1	0
10 Mon.	10	2	4	0	0	0
retranspl.	1	0	1	0	0	0
10 Mon.	11	2	5	0	0	0
11 Mon.	4	0	2	2	0	0
retranspl.	0	0	0	0	0	0
11 Mon.	4	0	2	2	0	0
12 Mon.	5	0	0	1	0	0
retranspl.	0	0	0	0	0	0
12 Mon.	5	0	0	1	0	0
Insgesamt	532	56	238	162	6	3

In Tabelle 6 ist das Versuchsmaterial zusammengestellt; es umfaßt 532 gewöhnliche, etwa 3 Monate alte Mäuse. Im ganzen wurden 1783 Tiere mit Ca.-Zellen geimpft. Hiervon bekamen 672 Geschwülste an der Impfstelle und mußten deswegen aus den Versuchen ausscheiden. Dazu kommen 579 Tiere, die entweder früh starben oder für die weiteren Versuche mit Methylcholanthren und Leberextrakt benutzt wurden. Bei den somit verbliebenen 532 Tieren wurde die betreffende Milchdrüse,

in der Geschwulstzellen vorher eingeführt worden waren, autolog transplantiert. In nur 3 Fällen entstanden Tumoren im Transplantat. Eine Beurteilung des histologischen Bildes der Tumoren, zusammen mit ihrem Verhalten hinsichtlich der Übertragbarkeit auf andere Tiere, ergab mit Sicherheit, daß die entstandenen Tumoren nicht von den übertragenen Carcinomzellen herrührten. Da sie aber doch im Transplantat entstanden sind, gehören sie eigentlich in die Versuchsreihe 1 hinein.

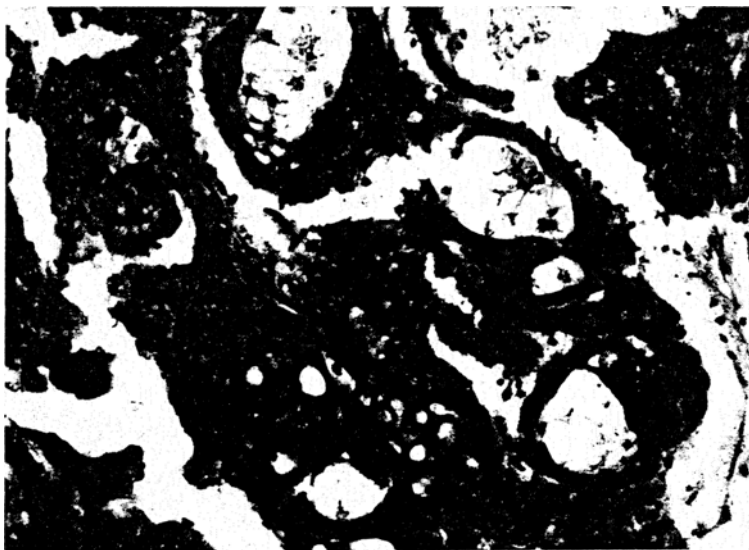


Abb. 28.

Unter den Tumoren befanden sich zwei, die sehr von den übrigen Milchdrüsenepithelcarcinomen abwichen und deshalb hier kurz beschrieben werden sollen.

*Versuch Nr. 137/4.* 3 Monate nach der Einführung von Carcinomzellen in die rechte inguinale Milchdrüse wurde diese subcutan in die linke Flanke transplantiert. 11 Monate später fand sich an der Transplantationsstelle ein isolierter, haselnußgroßer Tumor, der keine Verbindung mit dem intakten Mammagewebe hatte. Er war blaß und bestand aus markartigem Gewebe ohne Zeichen von Nekrose. Die Mikroskopie (373) ergab ein stark infiltrierendes Carcinom, stellenweise recht solid, Abb. 28. Der größte Teil des Tumorgewebes bestand aus kleinen Cysten mit Plattenepithel und reichlich Keratin (Abb. 29 und 30). Der Tumor ist ein dermoidcystisches Plattenepithel-Carcinom; sein histologisches Bild spricht entschieden dagegen, daß er mit den eingeführten *Ehrlichschen* Carcinomzellen etwas zu tun hat. In einer früheren Mitteilung<sup>5</sup> konnten wir über einen etwas ähnlichen Fall berichten, wo aus einem Milchdrüsentransplantat sich eine Dermoidcyste entwickelt hatte. Damals wurde die Vermutung ausgesprochen, daß der Tumor möglicherweise aus einem Stückchen Basalgewebe der Haut herrühre, die zufällig mit der Milchdrüse zusammen übertragen worden war.

*Versuch Nr. 114/2.* 5 Monate nach der Einbringung von Carcinomzellen in die rechte inguinale Milchdrüse wurde diese subcutan in die linke Flanke überpflanzt.

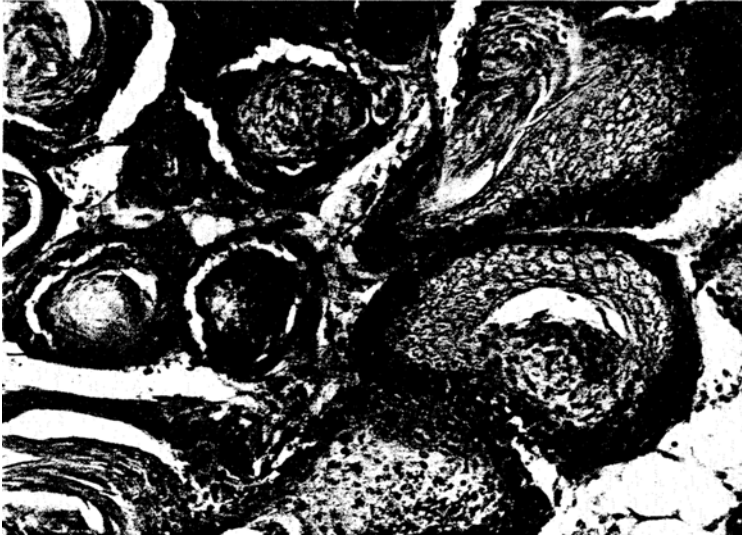


Abb. 29.

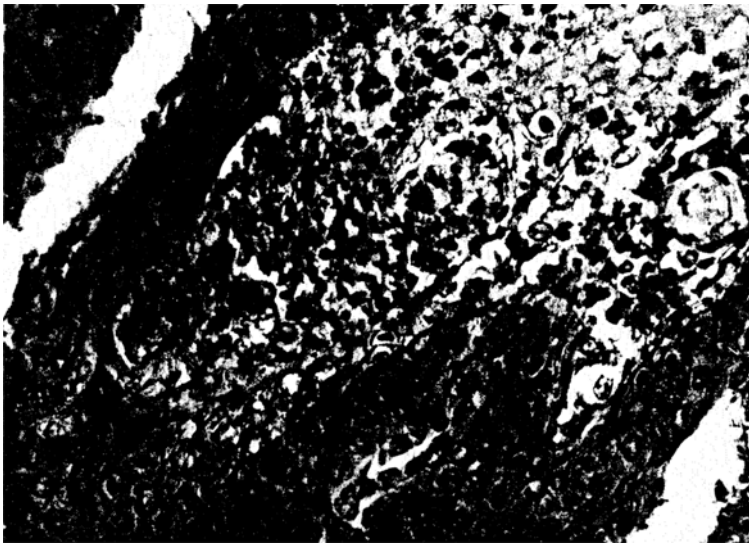


Abb. 30.

10 Tage später war ein erbsengroßer Tumor fühlbar, der nach weiteren 14 Tagen die Größe einer Haselnuß erreicht hatte. Es war fest an der Unterlage verwachsen,

das Gewebe war markartig, mit ganz geringen Blutungen. Die Mikroskopie (126) zeigt ein Plattenzellencarcinom mit Zwiebelbildungen und infiltrierenden Epithelzapfen. Der Tumor wurde auf 5 Tiere überimpft; bei einem ist es zunächst angegangen, aber recht schnell wieder verschwunden.

*Versuch Nr. 109/5.* 6 Monate nach Impfung mit Ca.-Zellen in der rechten inguinalen Milchdrüse wird diese subcutan auf den Rücken, kurz über der Schwanzwurzel, überpflanzt. Kaum 1 Monat später wird ein haselnußgroßer Tumor isoliert an der Transplantationsstelle festgestellt, der an der Haut festgewachsen ist. Das Gewebe ist gelblich und ziemlich blutarm. Die Mikroskopie (127) zeigt ein Adenocarcinom mit sehr regelmäßiger Drüsenzeichnung und sekretgefüllten Schläuchen,

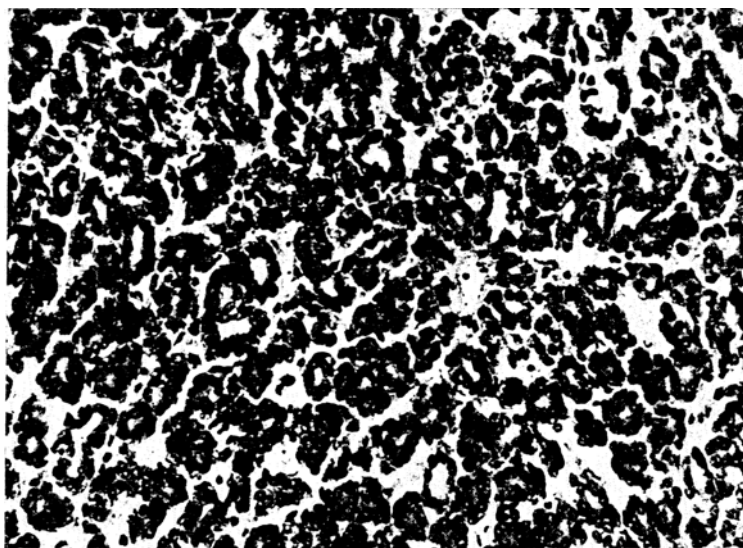


Abb. 31.

Abb. 31. Das histologische Bild unterscheidet sich sehr von dem des *Ehrlichschen* Carcinoms. Daß der Tumor nicht von den eingeführten Ca.-Zellen stammt, wird auch durch die Tatsache bestätigt, daß die Überimpfung auf 4 Mäuse negativ verlief. Demnach muß dieses Carcinom aus der transplantierten Milchdrüse selber entstanden sein und eigentlich in die Versuchsreihe I, Gruppe Ia gesetzt werden.

Ohne jeden Zweifel ist die Erfolglosigkeit der Versuche so zu erklären, daß die eingeführten Carcinomzellen schon vor der Transplantation des Milchdrüsengewebes eingegangen waren, spätestens aber bei der Überpflanzung des Mammagewebes mit diesem zusammen zugrunde gingen. Der Versuch hat also die Erwartung, die wir an ihn gestellt hatten, nicht erfüllt, als Beweis für die Brauchbarkeit der Methode zu dienen, durch autologe Transplantation von normalem Gewebe einen Mobilisationsfaktor für latente Geschwulstzellen im Organismus zu schaffen.

Einige ähnliche Versuche stellten wir an, um zu sehen, ob latente *Ehrlichsche* Carcinomzellen, die vorher in die Milchdrüse eingeführt



worden waren, durch eine universale Behandlung der Tiere mit Methylcholanthren zum Wachstum gebracht werden können. Nachdem wir uns überzeugt hatten, daß die eingeführten Carcinomzellen (*Ehrlich-Carcinom*) längere Zeit hindurch nicht zur Entwicklung von Tumoren geführt hatten, wurden die Tiere mit einer Lösung von 0,5% Methylcholanthren in Benzol abwechselnd an verschiedenen Körpergebieten lange Zeit hindurch gepinselt. Durch dieses Vorgehen wird eine Lokalwirkung vermieden. Die Methode ist von *Mider* und *Morton* <sup>6</sup> angegeben; der Gedanke war der, daß dadurch eine Milieuveränderung geschaffen werden könnte, die das Wachstum der Zellen begünstigt. Im ganzen wurden 111 Tiere derartig behandelt. Die Versuche sind, wie gesagt, negativ ausgefallen; der Grund hierfür ist vermutlich derselbe, wie er oben bei den Transplantationsversuchen angegeben wurde. In der Zwischenzeit konnte *Ostenfeld* <sup>7</sup> zeigen, daß latente Lungenmetastasen bei Mäusen, die mit *Ehrlich-Carcinom* geimpft waren, durch Universalbehandlung mit Methylcholanthren aktiviert werden konnten.

Bei einer kleinen Anzahl von Tieren wurde statt der Behandlung mit Methylcholanthren Injektion mit Leberextrakt ausgeführt, aber auch diese Versuche blieben ohne Erfolg.

Noch einiger weiterer erfolglos gebliebener Versuche soll an dieser Stelle nur kurz Erwähnung getan werden. Es handelte sich dabei um die Transplantation von embryonalem Mäusegewebe auf die Muttertiere. Dabei wurden 30 trächtigen Mäusen, zum Teil gewöhnlichen, zum Teil solchen des D.Z.-Stammes, die Embryonen herausgenommen, zerkleinert und auf die jeweiligen Muttertiere subcutan transplantiert.

### 5. Spontantumoren.

Die spontanen Mammatumoren, die in dem Gesamtmaterial an Tieren auftraten, verteilen sich in folgender Weise: In der Versuchsreihe 1 (autologe Transplantation von Milchdrüsen bei gewöhnlichen Mäusen) wurden 50 spontane Geschwülste beobachtet, das sind 4,4%. Bei den Tieren des D.Z.-Stammes waren es 16, d. h. 8%. Diese relativ niedrige Anzahl bei den D.Z.-Tieren beruht darauf, daß es sich hier durchgehend um junge Versuchstiere handelte. In der Versuchsreihe 6 (mit eingeführten Carcinomzellen) wurden im ganzen 10 spontane Mammatumoren festgestellt.

Außer den spontanen Mammacarcinomen kamen auch eine Reihe von rundzelligen Tumoren zur Beobachtung. Im großen und ganzen sind diese zweifellos spontane Geschwülste, doch sollen hier 2 oder 3 Fälle daraus näher besprochen werden, weil immerhin die schwache Möglichkeit vorhanden ist, daß sie durch die Transplantation des normalen Gewebes mobilisiert worden sind.

Die Lokalisation der Tumoren war: Mediastinum, Thymus, die axillaren und inguinalen Lymphdrüsen, die retroperitonealen Lymph-

drüsen und der Darm. In den Fällen, wo sämtliche Lymphdrüsen affiziert waren, konnten auch rundzellige Infiltrationen in Nieren, Leber, Milz und Lungen festgestellt werden. Es handelt sich hierbei sicher um eine ausgedehnte Krankheit im lymphatisch-myeloischen System. Bei wenigen Tieren war der Tumor allein dominierend. Insgesamt wurden an rundzelligen Tumoren mit oder ohne Affektion des gesamten lymphatischen System 16 gefunden. Hiervon gehören 12 in die Versuchsreihe 1, und von diesen wieder 5 in die Gruppe 5a und 2 in die des D.Z.-Stammes. In 3 Fällen wurde ein rundzelliger Tumor im Milchdrüsen-transplantat gesehen, nämlich bei den Tieren 96/48 und 103/4 sowie

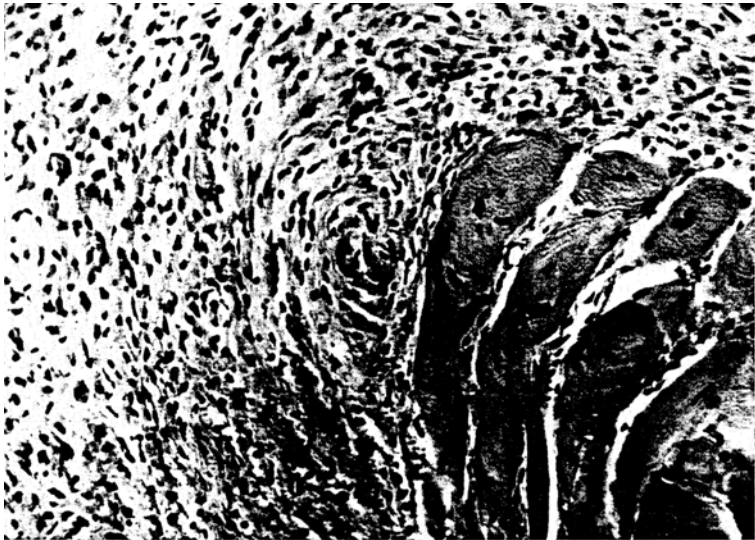


Abb. 32.

bei einer D.Z.-Maus 133/10. Am wahrscheinlichsten ist es, wie gesagt, daß es sich bei diesen letzteren um spontane Erkrankungen handelt, die mit der Transplantation nichts zu tun haben, doch ist das nicht mit Sicherheit zu entscheiden. Bei 96/48 besteht die Möglichkeit, daß die Krankheit etwa von einer Lymphdrüse, die zusammen mit der axillaren Milchdrüse transplantiert wurde, ausgegangen ist. Ob nun der Tumor unmittelbar durch die Transplantation entstanden ist, oder ob die Erkrankung vorher schon universell ausgebreitet war, läßt sich ebenfalls nicht sagen. In dem Gewebe nach viermaliger Transplantation (Gruppe 1c) wurde ein sarkomähnlicher Tumor beobachtet (329), Abb. 32. In Leber, Nieren und Dickdarm wurde außerdem eine diffuse Rundzelleninfiltration gefunden. Die Zellen hatten recht große, aufgeblasene Kerne, die von ziemlich viel Protoplasma umgeben waren. Das Bild ist dem

ähnlich, das *Johs. Andersen*<sup>8</sup> von den Sonderformen der Lymphomatosis infiltrans beschrieben hat, und das dem Bild von *Ziegler*s großzelliger Hyperplasie ähnelt. In 3 Fällen konnten Tumoren an der Transplantationsstelle festgestellt werden. Wir haben früher einen ähnlichen Fall beschrieben<sup>9</sup>, bei dem ein großer Tumor im Transplantat war. Wenn man auch darüber im Zweifel sein mag, ob die Krankheit hiervon ausgegangen ist, so bleibt doch die Frage offen, warum gerade ein großer Tumor zufällig im Transplantat entsteht.

### 6. Auswertung.

Die im Vorstehenden beschriebenen experimentellen Untersuchungen hatten zur Aufgabe, Beweismaterial für die Behauptung zu sammeln, daß *in normalen Geweben Geschwulstkeimanlagen schon früh determiniert sind*. Die gewaltige Anzahl von Arbeiten der letzten 20 Jahre über experimentelle Erzeugung bösartiger Geschwülste durch carcinogene Kohlenwasserstoffe haben in steigendem Grade zu der Anschauung geführt, daß die Krebszellen direkt durch Mutation somatischer Zellen entstehen. Ganz abgesehen davon, daß gegenwärtig noch keine Möglichkeit besteht, einen derartigen Beweis zu erbringen, stößt solche Annahme überhaupt auf grundsätzliche Bedenken. *Haldane* (zitiert nach *Rous*<sup>10</sup>) führt an, daß mutierte Zellen den Gesetzen der Organisation folgen und keine Geschwülste bilden werden. Aus der experimentellen Geschwulstforschung der letzten Jahre weiß man heute, eine wie große Rolle die Vererbungsfaktoren bei der Krebskrankheit spielen. In welcher Form derartige Bereitschaftsfaktoren vorliegen, ob als latente Krebszellen oder als ein labiler, zu Mutationen neigender Genapparat in den somatischen Zellen, darüber weiß man ebenso wenig wie über den Zeitpunkt für die Entstehung solcher Anlagen. Mit andern Worten: der Zusammenhang zwischen dem unspezifischen, krebsauslösenden Reiz und den dazu notwendigen Bereitschaftsfaktoren ist noch ganz undurchsichtig. Das Studium über die Bereitschaftsfaktoren hat erst in den letzten Jahren richtig angefangen. Es besteht kein Zweifel mehr darüber, daß in diesem Sinne der Krebs eine erbliche Krankheit ist, daher liegt die Annahme nahe, daß Geschwulstanlagen in irgendeiner Form schon lange vor dem eigentlichen Ausbruch der Krankheit vorhanden sind, auch in denjenigen Fällen, wo die Geschwülste selber erst mit Hilfe carcinogener Stoffe hervorgerufen werden. Will man es ganz scharf formulieren, so muß man sagen: Kein Krebs ohne Anlagen. Ist dieser Satz zutreffend, so muß man sich weiter über die Rolle klar werden, die die Realisationsfaktoren für die Geschwulstentstehung spielen.

Wenn man bedenkt, welch ungeheure Bedeutung der natürlichen Auslese für die Erhaltung und das Gedeihen der Lebewesen in der Natur zukommt, so erhebt sich wohl die Frage, ob nicht dasselbe auch für die Lebens Elemente der ungeheuren Zellgemeinschaft der geschlossenen

tierischen und pflanzlichen Organismen gilt. Wir wissen, daß Milieuveränderungen im Organismus während der Entwicklung ununterbrochen stattfinden müssen, und daß sie sich besonders in den höheren Altersstufen geltend machen. Was ist dann naheliegender als der Gedanke, ob sich nicht auch unter den Gewebezellen ein Kampf ums Dasein abspielt, wobei unter den gegebenen Bedingungen die am besten geeigneten Zellindividuen überleben werden? Selbst wenn man gegenwärtig nicht imstande ist, die anscheinend gleichartigen Gewebezellen durch individuelle Merkmale zu charakterisieren und zu kennzeichnen, zweifeln wir doch nicht einen Augenblick daran, daß es bei ihnen mehr oder weniger starke Abweichungen vom Durchschnittstyp gibt. Die Gewebe eines Organismus sind vermutlich stark abhängig von den örtlichen Bedingungen an der Stelle des Körpers, wo sie sich befinden. Eine Umpflanzung nach einer andern Stelle desselben Organismus und in die Nachbarschaft neuer Zellen muß als ein viel größerer Eingriff betrachtet werden, als man sich je vorgestellt hat. Aus den entwicklungsphysiologischen Untersuchungen sind solche Verhältnisse schon bekannt. Für die Einheilung von Transplantaten spielt z. B. die axiale Kongruenz eine entscheidende Rolle. Hauttransplantate heilen viel schlechter ein, wenn die Lagerichtung, z. B. nach vorn oder hinten, vertauscht wird (*Weiß*<sup>11</sup>).

Wie weitgehend eine Zelle von den Durchschnittszellen gleichen Typs abweichen kann, weiß man nicht. Wir haben uns jetzt die Aufgabe gestellt, Tatsachenmaterial zu sammeln, um zu prüfen, inwieweit die Annahme sich beweisen läßt, daß Geschwulstkeimanlagen normalerweise in der Form von abweichenden Zelltypen vorkommen. Das erste Verfahren, das wir hierfür wählten, ist die autologe Transplantation von normalen Geweben. Auf diesem Wege soll versucht werden, diejenigen Zellen anzureichern, die die besten Bedingungen für fortgesetzte Proliferation an den verschiedensten Stellen des Körpers besitzen. Solche Eigenschaft allein würde zwar gewiß nicht ausreichen, um derartige Zellen als bösartig zu charakterisieren, und überhaupt braucht die Auswahl sich durchaus nicht auf maligne Gewebezellen zu beschränken, vielmehr soll es nur davon abhängig gemacht werden, ob die Zellen in der neuen Umgebung weiter wachsen können. Manchmal kann die fortgesetzte Transplantation einer bösartigen Geschwulst sogar dazu führen, daß sie allmählich zugunsten nichtmaligner Zellen, die für das Überleben bessere Voraussetzungen haben, eingeht.

*Rous* und Mitarbeiter<sup>12</sup> gehen auf diese wichtigen Fragen in einer Reihe schön angelegter Arbeiten ein. Diese Verfasser haben die Beobachtung gemacht, daß nach einer kurzen Behandlung der Haut mit Teer zahlreiche Epidermiszellen mit malignen Eigenschaften entstehen, die jedoch latent bleiben, bis sie durch eine erneute Behandlung mit Teer oder irgendwelchen nicht carcinogenen Stoffen, oder auch nur durch

einen einfachen Wundheilungsprozeß zur Erscheinung gebracht werden. Die Autoren verneinen jedoch nicht die Möglichkeit, daß besondere, zur Tumorbildung disponierte Zellen schon vor der ersten Behandlung im Gewebe vorhanden gewesen sein können, ohne daß sie allerdings Beweise dafür erbringen. Weiter fanden sie, daß eine größere Anzahl Zellen durch die kurze Teerbehandlung neoplastisch umgewandelt werden als jemals zur Tumorentwicklung kommen. Schließlich heben sie noch hervor, daß die Wirkung der erweiterten Behandlung mit Teer darin besteht, ein das Wachstum des Tumors begünstigendes Milieu zu schaffen. Es sieht wirklich so aus, als ob die Zellen bloß auf einen einfachen Impuls zu ihrer Mobilisierung warten. Mit anderen Worten: Selbst wenn die Verfasser keine Beweise für die Anwesenheit latenter Geschwulstzellen gefunden haben, so haben die Untersuchungen doch in entscheidender Weise gezeigt, daß Teer z. B. latente Krebszellen hervorruft, die nur auf gewisse Bedingungen warten, um mit der Proliferation beginnen zu können. Als Auflösungsfaktor hierfür ist eine erneute Behandlung mit Teer nicht erforderlich, schon ein unspezifischer Reiz wie Senföl oder eine Wunde genügt. Das Wichtigste hierbei ist also unserer Meinung nach, daß ein bestimmter Boden für die Proliferation der latenten Krebszellen geschaffen wird. Damit gelangen wir zu der Vorstellung, daß ein derartig geeignetes Milieu durch ein besonderes Stroma begünstigt wird. Zur Entwicklung maligner Tumoren aus Geschwulstkeimanlagen gehören vielleicht Zellen mit besonderen Eigenschaften. Vielleicht ist die Krebsgeschwulst eher als ein System zu betrachten, in dem die spezifischen Tumorzellen in obligate kooperative Verbindung mit Zellelementen der normalen Gewebe treten, und wobei die letzteren durch die Geschwulstzellen selektiv herangezogen werden. Auf diese Weise, so könnte man sich denken, wird das eigentliche Milieu geschaffen als ein „Geschwulstbett“, ein „nestbauendes System“. Es könnte vielleicht von einem Geschwulstblastem gesprochen werden. Aus den Arbeiten über die Züchtung maligner und normaler Gewebezellen *in vitro* wissen wir, daß die letzteren praktisch in keiner Beziehung von den entsprechenden malignen Zellen abweichen. Erst bei der Überpflanzung in den Organismus enthüllen die Zellen sich als maligne.

Wir kennen jetzt viele experimentell gewonnene Tatsachen, die dafür sprechen, daß die Entwicklung von Tumoren durch Behandlung mit carcinogenen Stoffen auf Milieuveränderungen zurückzuführen sind. Die Untersuchungen von *Ostenfeld*<sup>7</sup> sind bereits erwähnt worden. Unter sehr vielen anderen wollen wir nur die von *Lynch*<sup>13</sup> heranziehen. Bei Mäusen, die in 4,4% der Fälle Tumoren in den Lungen aufwiesen, konnten nach Teerbehandlung 20,5%, und bei einem andern Stamm von Mäusen mit 43,9% sogar 100% erreicht werden. Auch die Untersuchungen von *Lacassagne*<sup>14</sup> sind sehr aufschlußreich. Durch Behandlung mit sehr großen Dosen Oestrin konnten bei der gewöhnlichen Maus in 2—3%

Mammatumoren hervorgerufen werden, ein Prozentsatz, den die Tiere freilich auch ohne diese Behandlung erreichten, bloß zu einer späteren Altersstufe. Auf dem D.Z.-Stamm konnten etwa 70% Tumoren mit Oestrin hervorgerufen werden, was der Anzahl Spontantumoren entspricht, die dieser Mäusestamm von selber entwickelt, wenn nur die Tiere alt genug werden. In diesen Fällen wirkt das Oestrin als ein Auslösfaktor für die Entwicklung von Tumoren aus gewissen Anlagen.

Da die Anzahl der *Mendel*-Eigenschaften in jedem Organismus sehr groß ist, muß mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß das Gewebe eines Organismus nur als ein Mosaik von unabhängigen erblichen Eigenschaften besteht. Aus dieser Grundanschauung heraus muß man sich vorstellen, daß Geschwulstkeimanlagen vielleicht aus vereinzelter Zellen bestehen, die in den normalen Geweben schon früh vorkommen.

Es ist nicht unsere Absicht, in diesem Rahmen über die Art und Größe der Geschwulstkeimanlagen Näheres zu erörtern; zu dieser Frage können wir auf die umfassende Zusammenstellung von *Fischer-Wasels*<sup>15</sup> verweisen. Nur sollen hier die interessanten Beobachtungen von *M. B. Stark*<sup>16</sup> aus den letzten Jahren erwähnt werden. Die Verfasserin hatte öfters Tumoren bei erwachsenen *Drosophila* bemerkt, die aus Resten latenter embryonaler Zellen in der Wand des Verdauungskanal entstanden waren. Diese Beobachtungen sind deswegen von Interesse, weil sie unmittelbar die Zellen erkennen lassen, aus denen die Tumoren sich später entwickeln.

Der Zweck der hier beschriebenen Untersuchungen war, festzustellen, ob ein Regenerationsreiz als auslösender Faktor genügt, um latente maligne Zellen in normalen Geweben nachzuweisen. Es ist uns gelungen, eine gewisse Anzahl maligner Tumoren durch autologe Transplantation von normalem Milchdrüsengewebe hervorzurufen. Lassen wir vorläufig die Frage offen, wie weitreichend die Schlüsse sein dürfen, die man aus diesen Ergebnissen ziehen kann. Es bestehen hier mehrere Möglichkeiten zu einer Erklärung: 1. Geschwülste in ihrem Anfangsstadium können schon in den betreffenden Geweben vorhanden gewesen sein; 2. sie können aus denselben Gründen wie im intakten Gewebe, also unabhängig von der Transplantation, zur Entwicklung kommen; 3. der Regenerationsreiz allein kann die unmittelbare Ursache für ihr Bösartigwerden sein; endlich 4. die Mobilisierung etwaiger latenter Geschwulstzellen findet auf Grund des neuen Milieus nach der Transplantation statt. Die relativ lange Latenzzeit für die Tumorentwicklung aus den Transplantaten spricht entschieden gegen die erste Erklärungsmöglichkeit, obwohl in wenigen Fällen Tumoren nach der relativ kurzen Zeit von 1—3 Monaten erschienen sind. Die in den meisten Fällen sehr lange Latenzzeit von 12—23 Monaten deutet aber mehr auf eine der anderen Möglichkeiten hin. Ob die Tumorentwicklung dem Regenerationsreiz alleine zuzuschreiben ist, muß vorläufig dahinstehen. Nur in 2 Fällen haben wir die

Entwicklung von Tumoren aus den zurückgebliebenen Milchdrüsenresten gesehen, d. h. an der Stelle, wo das Transplantat entnommen war. Die durchschnittliche, relativ lange Latenzzeit für die Tumorentwicklung stimmt eher mit der Annahme überein, daß die Geschwülste aus mikroskopisch kleinen Anlagen entstanden sind. Weitere Schlüsse über die Entstehungsweise der Tumoren können wohl kaum gezogen werden.

Zurück bleibt die Frage, ob der Regenerationsreiz als solcher für die Tumorentwicklung allein bestimmend ist. Hierüber liegen nur ganz wenige Angaben vor. *Fischer-Wasels*<sup>17</sup> gibt an, Regenerationszellen aus Granulationsgewebe transplantiert zu haben, ebenso *Stieve*\*, ohne daß einer der beiden doch zu bemerkenswerten Ergebnissen gelangt ist. Bessere Erfolge sind bei vielen Transplantationsversuchen mit embryonalem Gewebe verzeichnet worden. *Askanazy*, *Skrubisreusky* u. a. haben teratoide Geschwülste und Sarkome hierbei beobachtet. Bei diesen Versuchen waren die Latenzzeiten ebenfalls sehr lang, nämlich bis zu 27 Monaten. *Fischer-Wasels*<sup>17</sup> ist der Meinung, daß Tumorentwicklung nach stetigem Regenerationsreiz durch Reihentransplantationen durchaus möglich ist. Der Regenerationsreiz allein scheint jedoch nicht ausreichend zu sein, um Geschwulstzellen zu erzeugen, denn Gewebezellen, die *in vitro* jahrelang mit maximaler Geschwindigkeit proliferiert haben, sind immer noch normale Zellen geblieben, geprüft durch Überimpfung auf die betreffenden Organismen. Selbst wenn eine Kultur unter jahrelanger Einwirkung von Methylcholanthren *in vitro* gestanden hatte, konnte die Entwicklung von bösartigen Gewebezellen nicht beobachtet werden (bisher nicht veröffentlichte Versuche). Das scheint deutlich dafür zu sprechen, daß irgendwelche disponierenden Faktoren vorausgesetzt werden müssen. In dieser Weise deuten wir jedenfalls unsere Versuche und finden dabei eine Stütze in den neuesten Arbeiten von *Rous* und dessen Mitarbeitern<sup>10, 12</sup>. Worauf die Disposition beruht, ob auf Geschwulstkeimanlagen, auf Gewebezellen mit labilem Genapparat oder auf einem ubiquitären Virus, darüber weiß man noch nichts. Die Hauptaufgabe unserer Untersuchungen bestand darin, experimentell Beweismaterial für die Bedeutung des Milieus als auslösenden Faktors für die Geschwulstbildung zu gewinnen, unter Berücksichtigung der Rolle, die die natürliche Auslese unter den somatischen Gewebezellen dabei spielt.

Will man sich vorsichtig ausdrücken, so kann man sagen: Die hier vorgeführten Befunde sprechen nicht gegen die Annahme von Geschwulstkeimanlagen im gesunden Körper, sondern eher dafür. Versucht man, diese Hypothese zu verallgemeinern und mit dem vorliegenden Erfahrungsmaterial und unserer bisherigen Kenntnis der Krebskrankheit in Einklang zu bringen, so wird leicht ersichtlich, wie gut und natürlich

\* Zitiert nach *Fischer-Wasels*<sup>17</sup>.

manche Fragen dadurch zu erklären sind. Man denke nur an den Zusammenhang zwischen erblicher Disposition und Entstehung maligner Geschwülste.

In Anbetracht des großen Versuchsmaterials, das wir bei der Bearbeitung eingesetzt haben, ist die Ausbeute an sicheren Fällen von Geschwulstbildung in den Transplantaten relativ gering. Und doch wird man damit recht zufrieden sein, wenn man bedenkt, daß die Erzeugung echter Geschwülste durch Transplantation von normalen Geweben aus erwachsenen Organismen bisher noch niemals gelungen ist. Die Ursache für dieses Mißlingen ist zweifellos darin zu suchen, daß man bisher die Transplantation ausschließlich homolog vorgenommen hat und nicht erkannte, wie wichtig es ist, sie autolog auszuführen. Bei der homologen Transplantation machen sich die individuellen Eigenschaften der Tiere derselben Art derartig geltend, daß ein Überleben der übertragenen Gewebezellen fast unmöglich ist. Diese Tatsache ist schon aus den Transplantationen von Spontanumoren bekannt.

Im ganzen wurden 26 Carcinome, davon 2 Plattenepithelcarcinome, hervorgerufen. In den meisten Fällen sind die Geschwülste nach einer einzigen Transplantation entstanden, obwohl zu erwarten wäre, daß bei häufigeren Retransplantationen größere Aussicht dafür bestände. Der Grund dafür liegt ganz sicher darin, daß mit jeder Transplantation die Möglichkeit guter Einheilung auf Grund des Eingriffes verschlechtert wird. Die größte Ausbeute an Transplantationstumoren ist bei den hochträchtigen Tieren erzielt worden, was sicher mit dem besonderen Aktivitätszustand des Milchdrüsengewebes zusammenhängt. Auffallend ist die Verringerung der Ausbeute, wenn die Tiere im Anfang ihrer Trächtigkeit den Versuchen unterworfen wurden. Außer der Hormonwirkung spielt hier möglicherweise auch die große sekretorische Tätigkeit des transplantierten Drüsengewebes eine Rolle. Darüber hinaus gestatten die Untersuchungen keine weiteren quantitativen Schlüsse, dazu sind die Experimente wegen der ganz unkontrollierbaren Vorgänge während der Ausführung ungeeignet. Noch ein weiteres wurde aus den Versuchen ersichtlich: Die relative Ausbeute an Tumoren im Milchdrüsen-transplantat war bei den Tieren des D.Z.-Stammes, ganz wie erwartet, bedeutend größer als bei den gewöhnlichen, vom Händler bezogenen Mäusen. Außerdem war die durchschnittliche Latenzzeit für die Entstehung der Tumoren bei den D.Z.-Tieren kürzer als bei den gewöhnlichen Tieren.

Über die Diagnose der Tumoren herrschte kein Zweifel. Sämtliche histologischen Untersuchungen ergaben, daß es sich um stark infiltrierende, aus mehr oder weniger unreifen Zellen bestehende Carcinome handelte. Bei einigen der Carcinome konnten Lungenmetastasen festgestellt werden. In 2 Fällen ließen sich die Tumoren in mehreren Passagen lange Zeit hindurch auf andere Tiere überpflanzen.



In einer großen Versuchsreihe haben wir uns bemüht, maligne Carcinomzellen, die nachweislich längere Zeit hindurch latent geblieben waren, einzuführen, um sie dann durch autologe Transplantation des die Carcinomzellen enthaltenden Gewebes zur Tumorentwicklung zu bringen. Das ist leider nicht gelungen, erstens weil die gewählten Carcinomzellen für diese Versuche weniger geeignet waren, zweitens infolge einer unzureichenden Technik. Zwar wurden hierbei 2 Plattenepithelcarcinome hervorgerufen, doch hatten sie mit den eingeführten Carcinomzellen nichts zu tun, sie sind wahrscheinlich aus mittransplantiertem Hautgewebe entstanden.

### Zusammenfassung.

1. Als Glied in der Beweisführung für die vom Verfasser aufgestellte Theorie, daß Geschwulstkeimanlagen normalerweise in den Geweben des gesunden Organismus vorhanden sind, wurden autologe Transplantationen von normalen Geweben ausgeführt. Auf großem Versuchsmaterial ist es in einer näher angegebenen Zahl von Fällen gelungen, echte Geschwülste in den Transplantaten von Milchdrüsengewebe hervorzurufen. Eine quantitative Beurteilung der Versuchsergebnisse war nicht möglich.

2. Die Beweiskraft der erzielten Ergebnisse wird eingehend erörtert.

3. Die Bedeutung eines ganz bestimmten Milieus als Realisationsfaktors für die Entwicklung der malignen Geschwülste wird hervorgehoben, und unter Anwendung einer Theorie der natürlichen Auslese unter den Gewebezellen wird die Entstehungsweise der malignen Geschwülste erklärt.

### Literaturverzeichnis.

- <sup>1</sup> Fischer, A.: Internat. Congr. of Sci. a. Soc. Campaign against Cancer 1936, p. 186. — Amer. J. Canc. **31**, 1 (1937). — <sup>2</sup> Heide-Jørgensen, H.: Amer. J. Canc. **35**, 264 (1939). — <sup>3</sup> Ellinger, F.: Nature (Lond.) **142**, 151 (1938). — <sup>4</sup> Fischer, A.: Naturwiss. **29**, 650 (1941). — <sup>5</sup> Fischer, A.: Amer. J. Canc. **31**, 491 (1937). — <sup>6</sup> Hider, G. B. and J. J. Morton: Amer. J. Canc. **37**, 355 (1939). — <sup>7</sup> Ostensfeld, J.: Diss. Kopenhagen 1941. — <sup>8</sup> Andersen, Johs. V.: Diss. Kopenhagen 1934. — <sup>9</sup> Fischer, A.: Amer. J. Canc. **32**, 549 (1937). — <sup>10</sup> Rous, P. and J. K. Kidd: J. of exper. Med. **73**, 365 (1941). — <sup>11</sup> Weiß, P.: Entwicklungsphysiologie der Tiere. Dresden u. Leipzig: Theodor Steinkopff 1930. — <sup>12</sup> MacKenzie, I. and P. Rous: J. of exper. Med. **73**, 391 (1941). — <sup>13</sup> Lynch, C.: Proc. exper. Biol. a. Med. **43**, 186 (1940). — <sup>14</sup> Lacassagne, A.: Amer. J. Canc. **37**, 414 (1939). — <sup>15</sup> Fischer-Wasels, B.: Allgemeine Geschwulstlehre. In Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie, Bd. 14/II, S. 1651. Berlin: Springer 1926. — <sup>16</sup> Stark, M. B.: Amer. J. Canc. **31**, 253 (1937). — <sup>17</sup> Fischer-Wasels, B.: Allgemeine Geschwulstlehre. In Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie, Bd. 14/II, S. 1578. Berlin: Springer 1926.