

Aus der Abteilung für Gewebeforschung Max-Planck-Institut für vergleichende Erbbiologie und Erbpathologie Berlin-Dahlem (Prof. Dr. med. ELSE KNAKE).

Transplantationsversuche mit „abhängigem“ und „autonomem“ Krebsgewebe.

Von
ELSE KNAKE.

Mit 8 Textabbildungen.

(Eingegangen am 3. März 1954.)

Bei unseren Untersuchungen zur Homotransplantation eines normalen Gewebes (Rattenmilz) auf artgleiche Tiere verschiedenen Verwandtschaftsgrades konnten wir zeigen, daß sich die mehr oder weniger nahe Verwandtschaft, also die größere oder geringere Übereinstimmung im Genbestand zwischen Spender und Empfänger, in der Beschaffenheit der Transplantatgefäße widerspiegelt. Von dem Funktionszustand der Gefäße hängt andererseits, wie unsere Versuche weiter ergaben, das Anwachsen und Weitergediehen des Transplantats oder aber seine Rückbildung ab. Darum glauben wir, daß die physiologische Wirkungskette, die Gewebsverträglichkeitsgene¹³ und Transplantationserfolg miteinander verknüpft, einen Angriffspunkt an den höchst reaktionsfähigen Gefäßwänden von Transplantat und Transplantationsbett hat⁶. Wir hatten auch bei einem Experiment Erfolg⁷, das bei geringer Verwandtschaft zwischen Spender und Empfänger die Gefäße des Transplantats vor der Verpflanzung veränderte. Sie konnten dadurch einige Monate lang der Verödung widerstehen, die ihnen das fremde Transplantationsbett andernfalls aufgezwungen hätte. Das wurde möglich durch die Vorbehandlung des künftigen Transplantatspenders und also auch des künftigen Transplantats mit einem Stoff, der physiologischerweise die Gefäßweite reguliert, nämlich mit Histamin.

Geschwulstgewebe ist bei der Transplantation nach der herrschenden Auffassung gleichfalls der Kontrolle von Gewebsverträglichkeitsgenen unterworfen; diese sollen wie bei normalen Geweben bestimmen, ob Geschwulstgewebe auf einem Artgenossen anwächst oder nicht. Spontangeschwülste lassen sich nämlich nur innerhalb des Inzuchtstammes verpflanzen, in dem sie entstanden sind. Auf fremden Individuen gehen Homotransplantate von Geschwulstgewebe zugrunde¹⁴.

Die experimentelle Krebsforschung hat aber ein aus veritablen Krebszellen bestehendes Kunstprodukt geschaffen, das sich den genetischen Regeln entzieht, nämlich die sog. Impftumoren. Diese ursprünglich

einmal spontan aufgetretenen Geschwülste wurden erstmalig um die Jahrhundertwende experimentell von Tier zu Tier übertragen. Sie wuchsen in ständig steigendem Prozentsatz bei der fortlaufenden Weiterimpfung durch Geschwulststückchen oder -brei an. Offenbar wurde durch die Tierpassagen eine Eigenschaft herausgezüchtet, mit der sich die Impftumoren den bei jeder Übertragung immer wieder fremden Nährboden für ihren Stoffwechsel nutzbar machen können. — Diese in Impfgeschwülsten hochgetriebene Eigenschaft war offenbar den Ausgangsspontangeschwülsten auch schon in geringem Grade eigen, denn die erste Impfung war, wenn auch in niedrigem Prozentsatz, positiv. Sie fehlt normalen Geweben; mit diesen sind solche Reihenübertragungen nicht gelungen⁹. — Allerdings kommt sie auch durchaus nicht allen malignen Spontangeschwülsten in nachweisbarem Maße zu; nur wenige von den zahlreichen Versuchen, Spontantumoren als Impfgeschwülste auf nicht verwandten Tieren fortzuführen, waren erfolgreich [Literatur z. B. bei (15)].

Immerhin ist in den sog. Impftumoren eine Eigenschaft von Krebszellen herausgezüchtet worden, die maligne Spontangeschwülste haben können und die normalen Geweben fehlt. Aus diesem Grunde interessierten wir uns für sie. Wir versuchten herauszufinden, wie sie wirkt, wodurch sich also die Gewebsvorgänge unterscheiden, wenn Impftumor-Homotransplantate anwachsen und gedeihen, während erstmalige Spontantumor-Homotransplantate gewöhnlich nicht anwachsen oder sich doch wieder zurückbilden.

Material und Methodik.

Bei der Transplantation benutzten wir wie in unseren bisherigen Untersuchungen⁸ die von uns ausgearbeitete Methode. Es wurden, ohne im Transplantationsbett Wundflächen zu schaffen, sehr dünne Rasiermesserschnitte auf gut vascularisierte serös bekleidete Hämpe gelegt. Da unseren Versuchstieren (Ratten und Mäusen) ein Omentum maius fehlt, legten wir die Schnitte auf die Mesotestes. Diese Methode hat vor andern Verfahren einen großen Vorteil. Zu- und Abfuhr von Nährstoffen und Gasen durch Diffusion und Osmose reichen während der gefäßlosen ersten Zeit bei nicht allzu anspruchsvollen Geweben wenigstens soweit aus, daß keine irreversiblen Schädigungen im Transplantat entstehen. Da keine Nekrosen auftreten, bleibt auch die Organisation des Transplantats durch Granulationsgewebe aus. Unsere Befunde zeigen damit viel deutlicher als bei den gewöhnlich gebrauchten Verfahren, welche Veränderungen im verpflanzten Gewebe eine Folge der Transplantation auf ein fremdes Individuum sind; denn die Veränderungen durch unspezifische traumatische Schädigungen bei der Verpflanzung sind gering.

Es wurden 3 Versuchsreihen durchgeführt: 1. Gleichartige Spontantumoren, nämlich spontane Mammacarcinome unseres mit Brustdrüsengeschwülsten belasteten braunen Mäusezuchstammes, wurden auf nichtverwandte, weiße oder schwarze Mäuse und 2. zum Vergleich auf braune Mäuse des Ursprungszuchstammes verpflanzt; 3. Ein Impftumor, das Walker-Carcinom der Ratte, wurde auf nichtverwandte Ratten verpflanzt. Die Transplantate wurden zuerst in täglichen, in späteren Stadien in 2tägigen Abständen fixiert und histologisch untersucht. Während des Narkosetods wurde dem Tier von der Bauchaorta aus Tusche injiziert, bis sich Gefäße in Mesotestes und Transplantat tuschehaltig abzeichneten (etwa 5 cm³).

Befunde.

Es ergab sich folgendes: Die zweite Gruppe, *Transplantate von spontanen Mamma-Adenocarcinomen innerhalb des Ausgangszuchstammes*, wuchsen und gediehen wie Autotransplantate. Spätestens am 8. Tag hatte sich das übertragene Gewebe vollständig erholt. Die Geschwulst proliferierte üppig mit vielen Mitosen ohne die geringste Störung in ihrem mikroskopischen Aufbau. Ihre Einpassung in das Transplantationsbett des ganz nahe verwandten neuen Wirtes war nicht vollkommen reizlos. Einige wenige zirkuläre Fibroblastenzyge mit eingelagerten Lymphocyten umgaben das Transplantat (Abb. 1).

Die *Transplantate der gleichen Geschwülste auf fremden Mäusen* wuchsen wenigstens partiell zunächst ebenfalls ganz glatt an (Abb. 2) und zeigten ziemlich viele Mitosen. Aber schon um den 5.—8. Tag wurden die Krebszellen wieder schlaff und atrophisch (Abb. 3). Die Gefäße waren nur noch fadenförmig. Amöboid und intravasal wanderten im Transplantationsbett zahlreiche Lymphocyten herzu. Sie drangen in den Spalten zwischen den Drüsenschläuchen vor. Dabei zersplitterten sie das Transplantat in einzelne kleine Knoten (Abb. 4). Diese wurden von immer dichter werdenden Lymphcytenscharen umgeben, die zirkulär verlaufende Fibroblasten verstärkten (Abb. 5 und 6). Um den 16. Tag waren die zunächst gut angewachsenen Transplantate fast verschwunden.

Die *Transplantate des Impftumors* erholten sich zunächst zögernd, dann mit einem Schlag. Die von RÖSSL¹⁰ beschriebene Zweischichtung aus heterolytischer und autolytischer Zone sahen wir nur einmal, die von ihm während der 12.—48. Std beobachtete Dreischichtung zeigte sich bei uns nicht. Während bei ihm die Neubildung der Geschwulst von wenigen überlebenden Randzellen ausging, blieb bei uns die Mehrzahl der verpflanzten Zellen am Leben. Gewöhnlich waren bei unseren Transplantaten von Walker-Carcinom die Randzellen besser erhalten als die innen gelegenen Zellen, die verdichtete Kerne hatten, aber sich doch auch oft wieder erholten (Abb. 7). Leukocyten in großer Zahl wanderten

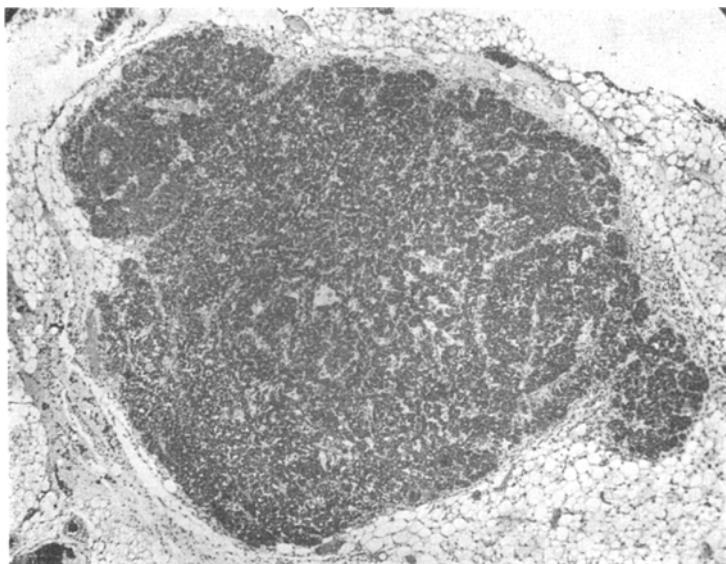


Abb. 1. Transplantat eines spontanen Mammacarcinoms innerhalb des Ursprungs-Inzuchtsammes. 12 Tage. — 40fach. — Vollkommene Erholung. Schmale Reaktionszone aus Fibroblasten und Lymphocyten zwischen Transplantat und Transplantationsbett.

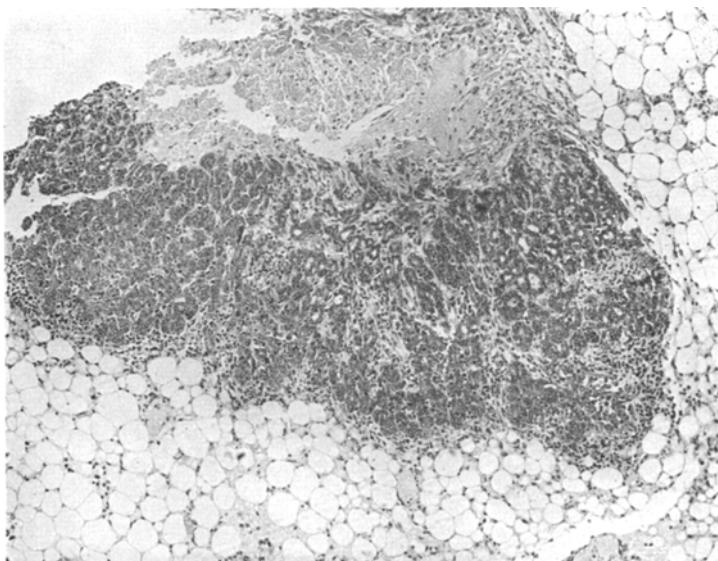


Abb. 2. Transplantat eines spontanen Mammacarcinoms von brauner Maus auf weiße Maus. 5 Tage. — 75fach. — Der größte Teil des Transplantats eingehüllt und vollkommen erholt. Ein Teil nekrotisch. Lymphocyten im Transplantationsbett und in kleinen Gruppen auch im Transplantat.

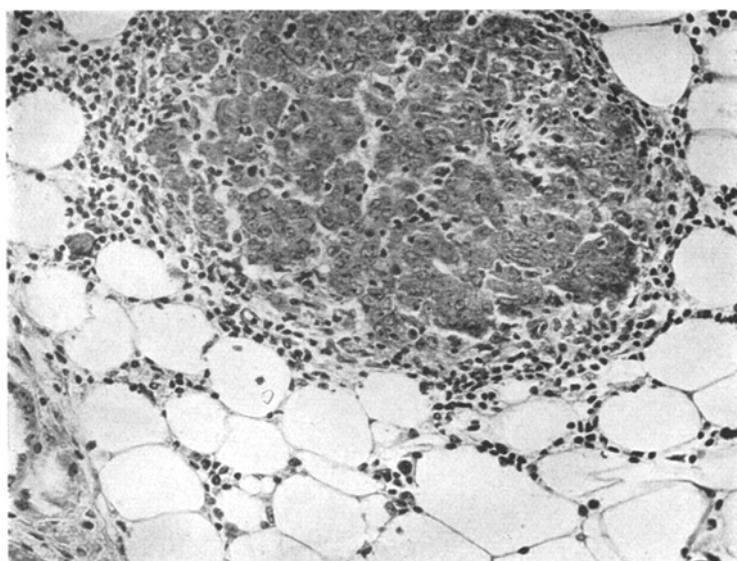


Abb. 3. Transplantat eines spontanen Mammacarcinoms von brauner Maus auf weiße Maus.
10 Tage. — 250fach. — Reichlich Lymphocyten im Transplantationsbett und im und um
das Transplantat. Carcinomzellen turgorarm.

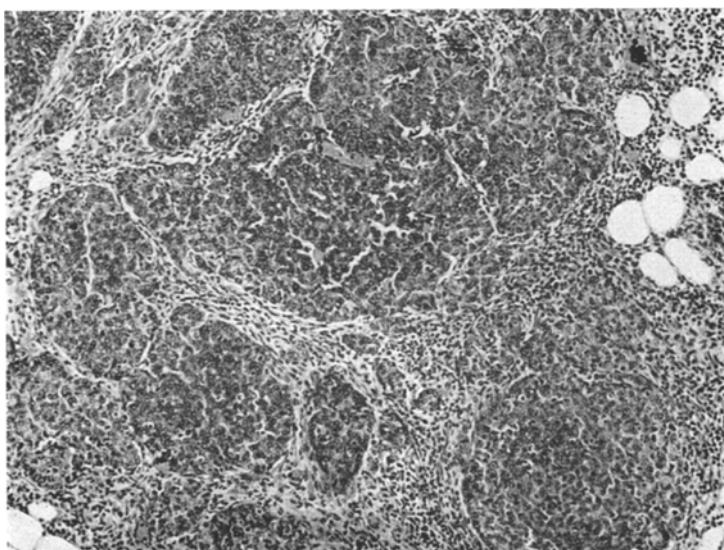


Abb. 4. Transplantat eines spontanen Mammacarcinoms von brauner Maus auf weiße Maus.
9 Tage. — 100fach. — Transplantat durch Fibroblasten und Lymphocyten verschnürt.
Umgebung reich an Lymphocyten.

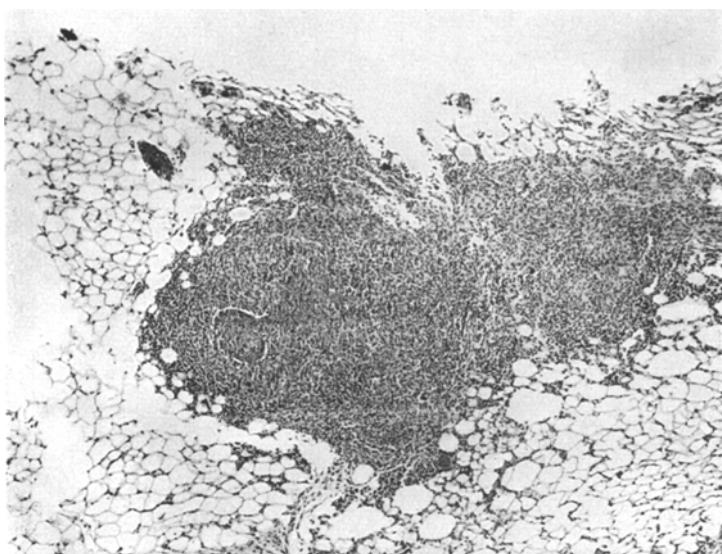


Abb. 5. Transplantat eines spontanen Mammacarcinoms von brauner Maus auf weiße Maus. 16 Tage. — 60fach. — Nur die runde Figur im breiteren Teil des Transplantats ist noch zusammenhängendes Tumorgewebe, alles andere Lymphocyten und Fibroblasten (s. Abb. 6). Weiter außen ist das Transplantationsbett fast reizlos.

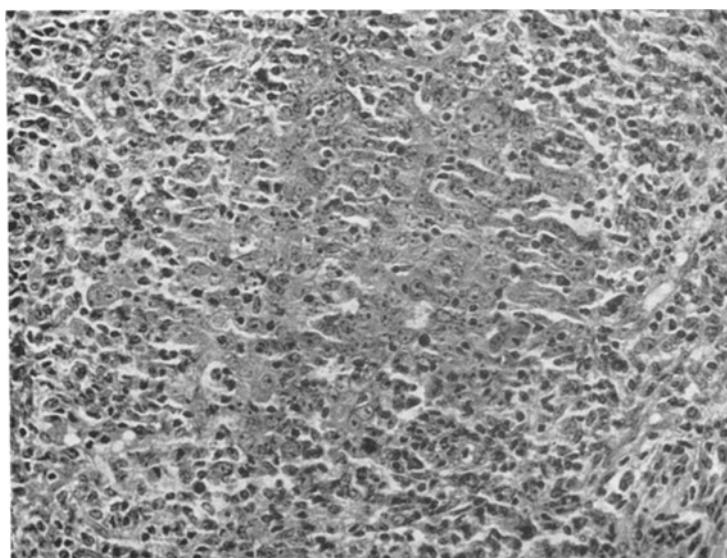


Abb. 6. Zentraler Teil der Abb. 5. — 300fach. — Die noch erhaltenen Tumorzellen sind atrophisch und offensichtlich im Untergang.

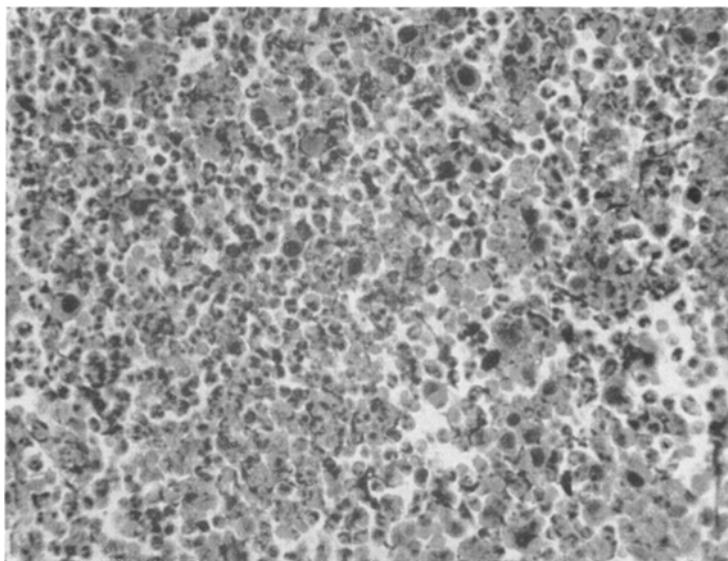


Abb. 7. Zentrum eines Transplantats des Walker-Carcinoms. 3 Tage. — 400fach. — Stark geschädigte Zellen im Zentrum des Transplantats, von denen erfahrungsgemäß trotzdem zu erwarten ist, daß sie sich wieder erholen.

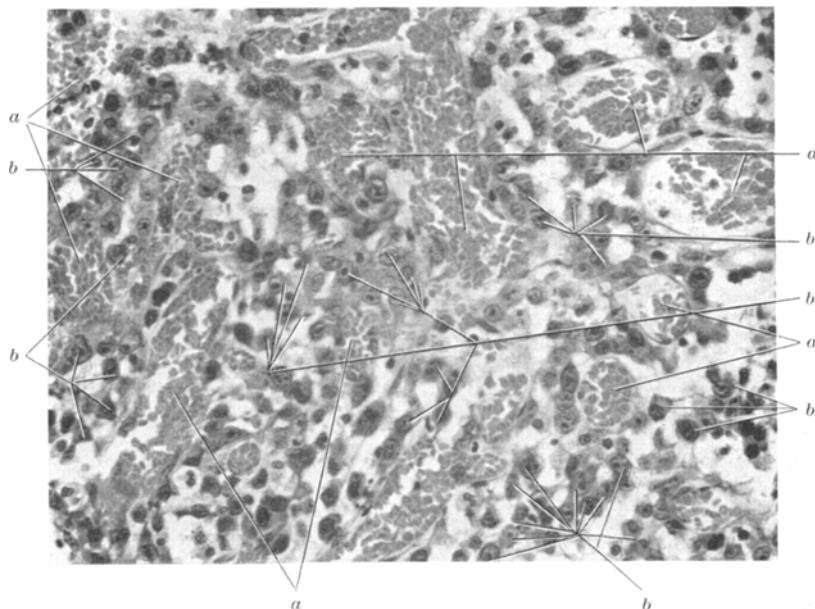


Abb. 8. Transplantat eines Walker-Carcinoms, 7 Tage. — Transplantationsbett 300fach. — Vom Rande des Transplantats in das Transplantationsbett ausgeschwärmté Tumorzellen, dazwischen neben einigen Lymphocyten strotzend gefüllte Gefäße. a Gefäße, b ausgeschwärmté Tumorzellen.

nur ein, wenn ausgedehnte Nekrosen mitüberpflanzt worden waren. Aus der ganz gut erhaltenen Randzone, die sich sehr schnell vollkommen erholte, schwärmtcn sofort zahlreiche Tumorzellen amöboid in das angrenzende Transplantationsbett aus und bildeten dort neue Tumorkolonien. Diese waren an kleinen Rundzellen, vorwiegend Lymphocyten, ziemlich reich. Eine enorme Hyperämie beherrschte die kleinen Gefäße zwischen den neu herbeigewanderten, noch locker liegenden Tumorzellen (Abb. 8). Im eigentlichen Transplantat war die Erholung spätestens um den 8. Tag abgeschlossen; die Carcinomzellen proliferierten dann mit zahlreichen Mitosen weiter. In den Gewebsspalten waren Lymphocyten hintereinander aufgereiht, jedoch nicht reichlicher als bei dem innerhalb des Ursprungsstammes verpflanzten Spontantumor. Unmittelbar an der äußeren Grenze des Transplantats waren die kleinen Gefäße des Transplantationsbettes außerordentlich hyperämisch. Im Inneren des Tumors bestand eine Hyperämie viel seltener. Die Blutfülle fand sich also vorwiegend dann, wenn eine größere Zahl von Geschwulstzellen mit normalem Gewebe in Kontakt kam. Das Transplantat zeigte nicht die geringste Andeutung einer Kapsel, vielmehr waren seine Grenzen zum normalen Gewebe infolge der massenhaft ausgeschwärmtcn und sich weiter teilenden Geschwulstzellen ganz fließend.

Besprechung.

Das glatte Anwachsen und üppige Weiterproliferieren des Spontantumors bei Verpflanzung innerhalb seines Ursprungs-Inzuchtstammes hat nichts Überraschendes. Die nur leicht ausgeprägte zellige Reaktion an der Grenze zwischen Transplantat und Transplantationsbett entspricht der Stromareaktion vieler Geschwülste *in situ*.

Dasselbe Mamma carcinoma kann sich als Transplantat auf fremden Mäusen nicht auf die Dauer halten. Der Vorgang, durch den es sich zurückbildet, ist anders als bei dem von uns untersuchten normalen Gewebe (Milz). Die Carcinomzellen werden um den 8. Tag atrophisch, und eine stürmische Lymphocytenreaktion setzt ein. Dagegen atrophiert homotransplantiertes Milzgewebe, nachdem es zunächst gleichfalls reizlos eingewachsen ist, wie eine alternde Narbe unter starker Bildung schrumpfender kollagener Fibrillen; es löst keine nennenswerte lymphozytäre Reaktion des Wirtes aus. Man könnte daraus vielleicht schließen, daß Brustdrüsenkrebsgewebe stärker antigen wirkt als normales Milzgewebe. Denn die erwähnten mikroskopischen Befunde lassen sich so deuten, daß die Geschwulstzellen als Opfer einer Schädigung durch spezifische Cytotoxine dahinschwinden; die begleitende stürmische Lymphocytenreaktion wäre zum Teil gleichfalls als Reaktion des Wirtes auf das eingebrachte Antigen anzusehen, zum anderen Teil dürfte sie das Zeichen einer resorptiven Entzündung sein.

Der Impftumor scheint dagegen als Transplantat kaum antigen zu wirken; weder zeigen seine Zellen in der kritischen Zeit des ersten möglichen Auftretens von Antikörpern die Zeichen einer humoralen Schädigung, noch löst er im Wirtsgewebe andere zellige Erscheinungen aus, als es im Rahmen der Stromareaktion bei Spontangeschwülsten *in situ* häufig der Fall ist.

Wir möchten zu der angeschnittenen Frage, ob der überpflanzte Spontantumor antigen wirkt, während dem Impftumor diese Eigenschaft fehlt, nicht Stellung nehmen. Es fehlt das zu ihrer experimentellen Untersuchung notwendige Tiermaterial. Denn der Nachweis, daß die Geschwulst tatsächlich als Geschwulst, nicht etwa als Mäuse- oder Rattengewebe, antigen wirkt, kann nur durch Immunisierung von Tieren des Ursprungsinzuchtstammes mit dem Geschwulstgewebe als Antigen geklärt werden. Das Problem wäre also nur für die untersuchten Spontantumoren durchführbar, deren Ausgangsinzuchtstamm existiert, dagegen nicht für das Walker-Carcinom oder andere auf fremden Artgenossen gezüchtete Impftumoren, von denen kein Ausgangsinzuchtstamm besteht.

Abgesehen von diesem Fragenkomplex erscheint uns der Gewebsvorgang, mit dem sich die Impfgeschwulst im Gegensatz zu dem erstmalig übertragenen Spontantumor als Homotransplantat durchsetzt, ganz verständlich. Sie löst an den Gefäßen des fremden Transplantationsbettes gerade die entgegengesetzte physiologische Veränderung aus, mit der eine genetisch verankerte Unverträglichkeit zwischen Spender und Empfänger das Transplantat zum Schwund bringen würde. Nach unseren Untersuchungen gehen Homotransplantate, die zunächst einmal glatt anwachsen, durch langsame Obliteration vieler Gefäße zugrunde. Sie werden nicht nekrotisch, sondern veröden allmählich. Diese Obliteration der Gefäße eines Transplantats auf einem fremden Wirt muß genetische Ursachen haben; denn bei Verpflanzung auf dem gleichen Tier und auf Wurfgeschwister eines ziemlich hochgezüchteten Inzuchtstammes, also unter genetisch identischen Bedingungen, tritt ein solcher Gefäßverschluß nicht ein⁶. Die Gewebsverträglichkeitsgene regulieren nach unserer Vorstellung das Offenbleiben oder Obliterieren der Gefäße von Transplantat und Transplantationsbett durch irgendeinen Stoff^{6, 7}. Eine ähnliche Substanz oder ihr Gegenspieler wird vielleicht von Impftumorhomotransplantaten in genügender Menge produziert oder aus dem angrenzenden Gewebe in Freiheit gesetzt. Auf diese Weise können Impftumorhomotransplantate auch bei genetisch ungünstigen Verhältnissen erzwingen, daß sie anzuwachsen und weiter zu proliferieren vermögen.

Da wir das Schicksal von normalen Homotransplantaten durch Vorbehandlung mit der gefäßerweiternden Substanz Histamin günstig beeinflussen konnten⁷, haben wir zunächst daran gedacht, ob Tumoren

Histamin oder einen sog. H-Stoff vermehrt enthalten. Die Befunde der Literatur⁴ sprechen nicht für durchgehende Unterschiede im Histamingehalt normaler und maligner Gewebe. — Weiter haben wir in Betracht gezogen, ob Tumoren mit Hilfe des Säuremantels, mit dem sie sich umgeben, aus dem angrenzenden normalen Gewebe, hier also dem Transplantationsbett, Histamin in Freiheit setzen können. Dr. KLAMERTH hat in unserem Institut darauf bezügliche Modellversuche mit Serumalbumin und -globulin ausgeführt. Sie sollten den Nachweis erbringen, ob Eiweiß und Histamin eine lockere Bindung eingehen, die in saurem Milieu unter Freisetzung von Histamin wieder gelöst wird. Die Untersuchungen haben kein positives Ergebnis für die Freisetzung von Histamin unter diesen Bedingungen erbracht. — Weiter könnte Histamin aus amidartiger Bindung abgespalten werden. Das wäre nur auf fermentativem Wege und nur im alkalischen Bereich möglich, ist also in der unmittelbaren Nachbarschaft von wachsenden, glykolysernden, Milchsäure bildenden Geschwülsten nicht zu erwarten. — Eine Hyperämie entsteht ferner, wie Physiologie und Pharmakologie lehren, allein schon durch Verschiebung der Gewebsreaktion ins Saure. Kohlensäure, Milchsäure u. a. greifen dabei unmittelbar an den Wänden der kleinen Gefäße an und erweitern sie. Der Säuremantel, der die wachsenden Impftumortransplantate ebenso wie die innerhalb des Ursprungsinzuchtstammes transplantierten Mammacarcinome umgibt, könnte genügen, um ihre Nachbarschaft zu hyperämieren. Doch ist die Hyperämie bei Impftumortransplantaten deutlich stärker als bei den erstmalig verpflanzten Spontantumoren, was durch die herangezogenen Zusammenhänge nicht verständlich wird. — Wir haben vorläufig also noch keine Erklärung dafür, wie die gewaltige Hyperämie bevorzugt im Transplantationsbett von homolog verpflanzten Impftumoren zustande kommt, und setzen das Suchen nach einer Erklärung fort.

Das Problem erscheint uns bedeutungsvoll, weil es über die spezielle Frage hinausgeht, wie Impftumoren als Homotransplantate zu proliferieren vermögen. Man kann die sehr schnell wachsenden Impfgeschwülste als Modell für bestimmte Entwicklungsphasen mancher maligner Tumoren ansehen. Impftumoren sind „autonom“, ebenso wie manche Spontangeschwülste im Laufe ihrer individuellen Existenz „autonom“ werden können (GREENE³). Auf Grund klinischer, pathologischer und experimenteller Erfahrungen vertritt man heute die Auffassung, daß gleitende Übergänge zwischen „gutartig“ und „bösertig“ bestehen⁵. Benignität und Malignität werden nicht mehr als starre Eigenschaft angesehen. Eine bösertige Geschwulst kann zeitweilig im Wachstum stillstehen, also sich vorübergehend wie gutartig verhalten. Der Grad der Bösartigkeit ist nicht bei allen Geschwülsten gleich und bleibt nicht bei einer und derselben Geschwulst unverändert⁵. Es gibt verschiedene

„Stufen der Malignität“ (RÖSSL¹¹). — Ein Test für den jeweils erreichten Malignitätgrad ist das Experiment, ob die Geschwulst derzeit transplantierbar ist^{3, 2}. Erst in klinisch fortgeschrittenem Stadium können menschliche Geschwülste heterolog (in die vordere Augenkammer und in das Gehirn von Meerschweinchen) verpflanzt werden (GREENE³). Dieses Stadium der „Autonomie“ erreichen maligne Tumoren oft, wenn auch anscheinend nicht gesetzmäßig¹⁶, dann, wenn sie metastasieren und das Ende des Patienten naht^{2, 3}. Beispielsweise waren von 123 bösartigen menschlichen Geschwüsten im Augenblick der Operation 65 heterolog transplantabel; bei 58 blieb die Transplantation erfolglos. Die 65 Patienten der ersten Gruppe lebten durchschnittlich nur 5,5 Monate nach der Operation, dagegen die 58 Patienten der zweiten Gruppe 34 Monate². — Schilddrüsengeschwülste, die durch hormonale Dysregulation experimentell am Tier erzeugt wurden, können zuerst nur auf Tiere mit der gleichen hormonalen Störung verpflanzt werden; sie sind von ihren Entstehungsbedingungen noch „abhängig“. Später werden sie davon unabhängig und lassen sich auch auf Tiere im hormonalen Gleichgewicht transplantieren¹⁷. Ähnliche Verhältnisse gelten für Geschwülste anderer endokriner Organe¹. Wir glauben, daß in diesen Zusammenhang der verschiedenen „Stufen der Malignität“, der „Autonomie“ und der „unabhängigen“ Entwicklungsphase der Tumoren auch das Problem gehört, ob Geschwulstemboli organisiert und damit unschädlich gemacht werden oder haften und zur Metastase auswachsen können¹².

Die Erfahrungen von Klinikern, Pathologen und Experimentatoren schließen sich also dahin zusammen, daß „die maligne Geschwulst“ sich im Laufe ihrer Existenz verändert. Ihre Malignität wird oft größer. Sie faßt als Metastase Fuß, behauptet sich also in anderen Organen als der Primärtumor, und sie wächst als Transplantat in Individuen mit anderem Genbestand als ihrem eigenen. In ihren frühen Entwicklungsphasen sind einige oder alle bösartigen Geschwülste wie normale Gewebe der Kontrolle von Gewebsverträglichkeitsgenen unterworfen. In klinisch fortgeschrittenem Stadium erreichen sie häufig eine „höhere Stufe der Malignität“, sie werden „unabhängig“ und „autonom“. Jetzt durchbrechen sie die genetischen Kontrollen. Dieser Wandel in ihrer Biologie hat endogene Ursachen, er vollzieht sich in den Geschwulstzellen, nicht im geschwulstkranken Körper. Möglicherweise entwickelt er sich in den Krebszellen infolge der Verhältnisse im krebskranken Organismus, aber schließlich ist er den Krebszellen immanent, in welchem Milieu sie sich auch befinden.

Wegen dieser allgemeinen geschwulstbiologischen Zusammenhänge haben wir untersucht, mit welchen gewebsphysiologischen Mitteln der Impftumor, dieses künstliche Gebilde ohne jede klinische Realität, sich der Kontrolle der Gewebsverträglichkeitsgene entzieht. Wir glauben,

daß die Hyperämie, mit der sich die wachsende, autonome Impfgeschwulst umgibt, bei diesem Vorgang von Bedeutung ist. Der Impftumor setzt dabei genau den gegenteiligen Gewebsprozeß in Gang, mit dem die Gewebsverträglichkeitsgene bei nicht übereinstimmendem Genbestand von Spender und Empfänger das Homotransplantat zum Schwund bringen würden.

Mikroskopische Protokolle.

I. Die Ausgangstumoren.

Die *Mäuse-Adenocarcinome* der Mamma, die die Transplantate lieferten, sind in der Krebsforschung allgemein bekannt. Sie entstehen entweder multipel oder metastasieren in andere Brustdrüsen. Sie wachsen meistens drüsig, stellenweise solide. Oft haben sie Nekrosen und ausgedehnte hämorrhagische Partien. Ihr Stroma ist spärlich mit geringer Rundzellinfiltration. Die Gefäße sind außerordentlich zart; selbst bei etwas größerem Kaliber bestehen ihre Wände nur aus einem ganz feinen Häutchen mit wenigen eingelagerten Endothelzellen. Sie trennen sich bald von dem bindegewebigen Stroma, die Geschwulstzellen sitzen den dünnen Gefäßwänden dann unmittelbar auf. — Die Brustdrüsencrebse werden überwalnußgroß, ulcerieren, wachsen nicht infiltrierend und metastasieren nicht in innere Organe. Sie können schwerer werden als das restliche Körpergewicht der Maus und töten sie regelmäßig durch Kachexie.

Das *Ratten-Walker-Carcinom* ist ein medulläres solides Carcinom, das aus sehr amöboid beweglichen polygonalen Epithelzellen von ziemlich verschiedener Größe besteht. Auch die Kerne sind in Größe und Form sehr veränderlich. Die Gefäßwände bestehen aus einem äußerst zarten Häutchen, in das ab und zu eine flache Endothelzelle eingelagert ist. Das Walker-Carcinom wächst verdrängend, nicht infiltrierend, nur seine eigenen Gefäße destruierend und metastasiert nicht. Unsere Tumoren hatten sehr ausgedehnte Nekrosen, von denen manche nur aus Geschwulstgewebe bestanden, andere Reinkulturen von Leukocyten gliichen. (Die Tumoren waren steril.) — Stellenweise waren die Geschwülste sehr blutreich. Oft schwammen die Tumorzellen in Blutseen.

II. Die Transplantate.

Für alle 3 Versuchsserien sind die Befunde in den ersten Tagen in gewisser Hinsicht gleich und werden insoweit zusammenfassend beschrieben: Das Transplantat besteht zunächst außen aus besser erhaltenen Zellen als innen. Außen sind die Kerne zwar zu klein und zu dicht, aber sie sind nicht pyknotisch. Kleine Zelleiber sind erhalten. Innen enthält das Transplantat sehr viele ganz kleine und sehr dichte, runde oder auch gelappte Kerne mit oder ohne schmalen Cytoplasmasaum.

Sowohl die äußenen wie die stärker geschädigten Zellen im Inneren erholen sich im Laufe der ersten Tage. Zunächst wird der Kern etwas größer. War er gelappt, so wird er nierenförmig und dann birnförmig. Er bekommt einen schmalen Cytoplasmasaum. Dann rundet er sich ab, bleibt dabei noch klein und dicht und wird schließlich locker und groß. Auch der Zelleib wächst, wird normal groß und ist dabei oft basophil. Die großen, häufig eosinophilen Nucleoli und die zahlreichen Mitosen bekunden etwa um den 5. Tag, bei dem Walker-Carcinom oft noch später, die wiedergewonnene Vitalität der im Zentrum gelegenen, zunächst nekrotisch erscheinenden Carcinomzellen. Die Erholung des Walker-Carcinoms wurde nicht immer vollständig; es blieben nekrotische Partien zurück. Soweit sie fast ausschließlich aus polymorphkernigen Leukozyten bestehen, sind es Nekrosen, die von der Ausgangsgeschwulst mitüberpflanzt wurden. — Über diese allgemein gültigen Erscheinungen hinaus zeigten die 3 Versuchsserien folgende Besonderheiten:

a) *Verpflanzung der bei braunen Mäusen spontan entstandenen Mammacarcome auf die Mesotestes von Mäusen des Ursprungszuchtstammes.*
2. Tag: An einer Stelle Verklebung zwischen Transplantat und Fettgewebe des Mesotestis ohne Zwischenschaltung von Exsudat oder Zellen; hier ein etwa 20 Zellreihen breiter Streifen von Tumorgewebe mit gut erhaltenen Zellen. Einige Mitosen. In diesem Streifen sehr blutreiche Gefäße mit frisch aussehenden Erythrocyten, meist ohne Endothel, einige Male mit ganz flachem Endothel; mehrere Gefäße enthalten Tusche. Andere Ränder des Transplantats sind nicht verklebt, enthalten keine Gefäße und besitzen einen Saum von nicht weniger gut erhaltenen Tumorzellen. Der größere, zentral gelegene Rest des Transplantats besteht aus fast kernlosen Zellschatten und aus sehr dunklen, kleinen, runden oder gelappten Kernen ohne oder mit schmalem Cytoplasmasaum. Das umgebende Mesotestis ödematos, leicht hyperämisch, nur stellenweise ziemlich reich an Fibroblasten und granulierten Leukozyten, keine Rundzellen. 3. Tag: Transplantat stellenweise mit Mesotestis verklebt durch dazwischengeschaltete Exsudatzone, an anderen Stellen direkte Verklebung. In beiden Fällen an der Verklebungsstelle sehr dünne Schicht von Fibroblasten mit wenigen Rundzellen, strotzende, wahrscheinlich nicht neu durchblutete Gefäße, stellenweise mit flachem Endothel, stellenweise ohne solches. Schmaler Saum von erhaltenen Zellen hier und auch dort, wo das Transplantat frei liegt. Transplantationsbett nicht hyperämisch, leicht ödematos. 4. Tag: Im Verklebungsbezirk sowohl im Mesotestis wie im aufgelebten Transplantatsaum stark gefüllte Gefäße meist ohne Endothel, ab und zu mit frisch saftigem Endothel, innen und außen vom Transplantat intravasal Tusche. Mesotestis im ganzen ziemlich zellreich, besonders aber im Verklebungsbezirk. Der größte Teil des Transplantats ist noch nicht erholt. Einige Mitosen.

5. Tag: Transplantationsbett nicht hyperämisch, etwas ödematös. Auf der Seite des wiederaufgelebten Tumorstreifens fast keine zellige Reaktion des Transplantationsbettes, dagegen auf der anderen Seite, an der die Transplantatzellen wenig erholt sind, Lymphocyten und besonders Fibroblastenreaktion, die auch einen kleinen abgesprengten, gut erhaltenen Tumorbröckel fast einkreist. Der größere Teil des Transplantats noch nicht erholt. Die Gefäße haben flaches Endothel. *6. Tag:* Das geringe Stroma im Tumor kleinzellig infiltriert. Die dünnwandigen Gefäße im Tumor haben Endothel und enthalten Tusche. Einige Mitosen. *9. Tag und später:* Große Transplantate, durch und durch regeneriert und in der typischen Anordnung vascularisiert. Gefäße haben saftiges Endothel und enthalten Tusche. Sie sind stärker gefüllt als im Transplantationsbett. Im Tumor geringe Stromareaktion. Ziemlich viel Mitosen der Tumorepithelien. Um das Transplantat lockerer Saum aus wenigen Reihen von Lymphocyten und Fibroblasten.

b) Verpflanzung der bei braunen weiblichen Mäusen spontan entstandenen Mammacarcinome auf die Mesotestes von weißen oder schwarzen Mäusen. *2. Tag:* Tusche in Gefäßen des Transplantats, nur selten ganz flaches Endothel erhalten. Leichtes Ödem und Hyperämie des Mesotestis. Vom 3. Tag an wandern Lymphocyten frei und in Gefäßen des Transplantationsbettes auf das Transplantat zu; in den Gewebsspalten zwischen den Drüsenschläuchen liegen einzeln hintereinander aufgereihte Lymphocyten, nicht stark hervortretend. *4. Tag:* Erst ein Außensaum erholt. Zwei tuschehaltige Gefäße mit begleitenden spärlichen Fibroblasten sprühen aus dem erholten Randsaum bis in das nekrotische zentrale Gebiet vor; sie sind von aufgelebten Zellen umsäumt. *5. Tag:* Der mit dem Mesotestis verlötete Teil gut erholt, viele Mitosen. Ein anderer, ohne Kontakt über das Mesotestis herausragende Teil nekrotisch. Im Transplantationsbett amöboid und intravasal nicht sehr zahlreiche Lymphocyten, dagegen ziemlich reichlich in den Spalten zwischen den drüsenaartigen Krebszellschläuchen. Im Stroma des Tumors ziemlich viel kleine Rundzellen. *7. Tag:* Die junge Kapsel ebenso breit wie das Transplantat im inneren Teil der Kapsel abgeschnittene Tumorinseln. Tumorzellen fast durchgehend atrophisch, mit chromatin- und saftarmen Kernen. Degenerierende Mitosen. *9. Tag und später:* Atrophie der Zellen schreitet fort, sie verwelken. Einige wenige Gefäße im Tumor sind tuschehaltig, sehr dünn, mit flachem Endothel. Stroma gelegentlich hyalin. Haupttransplantat und abgesprengte kleine Bröckel sind von dichten Reihen von Fibroblasten und Lymphocyten umgeben. Von den überlebenden Krebszellen hängen viele nur stellenweise untereinander zusammen. *12. Tag:* Keine intakten Tumorzellen mehr sichtbar, nur abgeschnürte Zellschläuche und Zellgruppen, die zu Gebilden ähnlich mehrkernigen Riesenzellen mit geringem Leib zusammengedrückt

erscheinen. Nester von Fibroblasten, Lymphocyten und auch granulierte Leukocyten im Mesotestis.

c) *Intraperitoneale Verpflanzung von Schnitten des Walker-Carcinoms von weißen Ratten auf die Mesotestes von nichtverwandten weißen Ratten.*
1. Tag: An mehreren Stellen Verklebung. Ziemlich starke Füllung der Gefäße rings um das Transplantat. *2. Tag:* Aus den gut erholten Randstreifen schwärmen viele üppige Zellen mit großem eosinophilen Nucleolus in das Transplantationsbett aus. Hier einige Mastzellen, ziemlich viel Lymphocyten, außerordentliche Hyperämie. Im inneren Teil des Tumors Zellen stark geschädigt. *4. Tag:* Erholung bis auf breite Randstreifen und die ausgeschwärmt Zellen gering. *5. Tag:* Zwischen der erholten Randzone und der nichterholten zentralen Partie schwimmen Zellen in Blutseen. Massenhaft Erythrocyten ohne erkennbare Gefäßwandungen frei im Gewebe liegend. Zuweilen sprossen ganz schmale Zellschlüsse, die hohl werden und einige wenige Erythrocyten enthalten, ohne Fibroblastenbegleitung in das nekrobiotische Zentrum aus. Nirgends Hämosiderin. *6. Tag:* Transplantat größtenteils erholt. Am Rande des nekrobiotischen Teils viele Erythrocyten freiliegend. Starke Hyperämie im Mesotestis in unmittelbarer Nachbarschaft des Transplantats. Die ausgeschwärmt Zellen bilden im Anschluß an den Transplantatrand neue Kolonien. Viele Mitosen. Capillarsprossung (siehe 5. Tag). *7. Tag:* In den Blutseen am Übergang zwischen äußerem erholten Transplantatteil und zentraler Nekrose neben Zellschutt auch Zellen in Erholung, einige wenige Mitosen. Nirgends Hämosiderin. *8. Tag:* Weitgehende Erholung auch im zentralen Teil, Mitosen. Ein Teil nekrotisch. Im Tumor wenige Gefäße, zum Teil mit flachem Endothel und Tusche. Nur ganz vereinzelt frei liegende Erythrocyten.

Zusammenfassung.

Nach der Methode, mit der wir bisher normales (Milz-)Gewebe transplantiert haben, wurde jetzt Krebsgewebe verpflanzt. Spontane Mammacarcinome unseres erblichen mit Brustdrüsengeschwülsten belasteten braunen Mäuse-Inzuchtstammes wurden intraperitoneal 1. auf Mäuse des Ursprungszuchtstammes und 2. auf weiße oder schwarze Mäuse transplantiert. 3. wurde ein sog. Impftumor, das Walker-Carcinom der Ratte, intraperitoneal auf nicht verwandte weiße Ratten verpflanzt. Die erstmalig verpflanzten Spontantumoren verhielten sich, wie es nach den genetischen Regeln zu erwarten war: Die Transplantate wuchsen bei Mäusen des Ursprungszuchtstammes an und proliferierten weiter; auf fremden, schwarzen oder weißen Mäusen bildeten sie sich wieder zurück. Dagegen vermag sich der Impftumor entgegen den erblichen Regeln als Homotransplantat auf nichtverwandten Ratten zu halten. Die Gewebsvorgänge in den 3 Versuchsreihen wurden mit besonderer Rücksicht

auf die Frage untersucht, durch welche Mittel sich der Impftumor der genetischen Kontrolle zu entziehen vermag. Offenbar dient ihm dabei die gewaltige Hyperämie, die überall dort entsteht, wo eine größere Zahl von Tumorzellen mit dem normalen Transplantationsbett in Kontakt kommt; wir nehmen an, daß dabei der Säuremantel vermittelnd wirkt, mit dem sich jede maligne Geschwulst umgibt. Die Hyperämie ist genau der gegensinnige Vorgang zu dem, mit dem normale Homotransplantate zum Schwund gebracht werden. Der Impftumor löst also auf extrachromosomal Wege die gewebsphysiologischen Vorgänge aus, die bei Autotransplantaten die Gewebsverträglichkeitsgene und ihr Erfolgsorgan, das Transplantat, als Wirkungskette miteinander verknüpfen. — Die Gewebsvorgänge bei der Verpflanzung des Impftumors, eines künstlichen Erzeugnisses der experimentellen Krebsforschung, werden als Modell für „autonom“ oder „unabhängig“ gewordenes malignes Geschwulstgewebe angesehen.

Literatur.

- FURTH, J.¹: Cancer Res. **13**, 493 (1953). — GREENE, H. S. N.²: Cancer (N.Y.) **5**, 24 (1942). — J. Mt Sinai Hosp. **18**, 324 (1952). — GREENE, H. S. N.³: Cancer Res. **11**, 899 (1951); **13**, 347 (1953). — GUGGENHEIM, M.⁴: Die biogenen Amine, S. 454. Basel u. New York: S. Karger 1951. — HAMPERL, H.⁵: Klin. Wschr. **1940**, 929. — Verh. dtsch. path. Ges. **1951**, 29. — KNAKE, ELSE⁶: Z. Naturforsch. **8b**, 298 (1953). — KNAKE, ELSE⁷: Z. Naturforsch. **8b**, 324 (1953). — KNAKE, ELSE⁸: Virchows Arch. **319**, 321 (1950); **321**, 508 (1952); **324**, 1 (1953). — LOEB, LEO⁹: The biological basis of individuality, S. 340. Springfield, Ill. 1947. — RÖSSLE, R.¹⁰: Über die Anfänge der krebsigen Neubildung von Impfgeschwüsten. Sitzgsber. preuß. Akad. Wiss., Physik.-math. Kl. **1936**. — RÖSSLE, R.¹¹: Stufen der Malignität. Sitzgsber. dtsch. Akad. Wiss. Berlin, Math.-naturwiss. Kl. **1949**. — Dtsch. med. Wschr. **1950**, 7. — SCHMIDT, M. B.¹²: Die Verbreitungswege der Carcinome und die Beziehung generalisierter Sarkome zu den leukämischen Neubildungen. Jena 1903. — SNELL, G. D.¹³: J. Genet. **49**, 87, 1948. — Cancer Res. **11**, 281 (1951). — SNELL, G. D.¹⁴: In HOMBURGER u. FISHMAN, Physiopathology of cancer, Kap. 14, S. 338. New York 16: Paul B. Hoeber Inc. 1953. — SYMEONIDIS, A.¹⁵: Virchows Arch. **300**, 429 (1937). — TOWBIN, A.¹⁶: Cancer Res. **11**, 761 (1951). — WOLLMAN, S. H., H. P. MORRIS and C. D. GREEN¹⁷: J. Nat. Canc. Inst. **12**, 27 (1951).

Prof. Dr. med. ELSE KNAKE, Berlin-Dahlem, Garystr. 9.