

Aus dem Pathologischen Institut der Universität München
(Direktor: Prof. Dr. W. BÜNGELER)

Die Wirkung von natürlich vorkommendem Leukämievirus aus dem Landschütz-Sarkom bei Agnes-Bluhm-Mäusen*

Von

A. GEORGII

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 31. Oktober 1964)

Morphologische Untersuchungen zeigten, daß die nach Angaben von GRAFFI u. Mitarb. erzeugten Mäuseleukämien vorwiegend der myeloischen Form angehören [FEY, GEORGII (1 u. 3)]. Inzwischen wurden von anderer Seite aus Impfgeschwülsten der Maus einheitliche Viruslinien gezüchtet, die vorwiegend lymphoide [GROSS (1—3) bzw. MOLONEY (1)], reticulocytaire (FRIEND) oder lymphoid-erythroblastäre (RAUSCHER) Leukämieformen induzieren. Aus einem namensgleichen Impftumor, dem Mäusesarkom 37 wurden beispielsweise 3 verschiedenen hochaktive Viruslinien abgeleitet, die zu biologisch und histologisch verschiedenen Leukämieformen führen (BATHER, FRANKS et al., MOLONEY). Dabei ist einschränkend zu bemerken, daß jeweils Empfängertiere verschiedener Mäusestämme verwendet wurden. Es ergibt sich daraus die Frage, ob Mäusegeschwülste im allgemeinen verschiedene Virusarten enthalten oder die Leukämieformen durch die Stammeigentümlichkeiten der Wirtsmäuse bedingt sind, wie GROSS vermutet.

In den vorliegenden Untersuchungen verwendeten wir zellfreie Geschwulstfiltrate aus Landschütz-Sarkom-Sa I und infizierten mit dem darin enthaltenen ungereinigten Leukämie-Virus neugeborene Mäuse des gleichen Inzuchtstammes. Die histologisch faßbare Wirkung von Virus einer Infektionsquelle sollte damit an genetisch einheitlichen Empfängertieren untersucht werden. Ein Teil der Ergebnisse wurde auf der 48. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Pathologie vorgetragen.

Material und Methode

Virus. Im Mäuseimpftumor Sarkom I (Landschütz) ist leukämieinduzierendes Virus enthalten, wie eigene [GEORGII (2)] und von GRAFFI u. Mitarb. durchgeführte Untersuchungen zeigten. Das Landschütz-Sarkom wird in Ascitesform auf nicht ingezüchteten Mäusen der Stämme Agnes-Bluhm bzw. jetzt NMRI/Han. seit 1956 gehalten und wurde uns damals von Prof. GRAFFI, Berlin, überlassen. Die Viruslösung für eine Versuchsgruppe wurde wie folgt gewonnen: Der Tumoraszites einer Maus mit Landschütz-Sarkom wurde auf eine Gruppe von 10—20 Empfängermäusen transplantiert und deren am 9. Tag gesammelter Ascites zu Filtrat aufgearbeitet. Zellfreie Filtrate wurden durch Abnutschen aus Schottischen Glasfiltern G₄ und G₄ (fiktive mittlere Porenweite 10 μ bzw. 3 μ) wie früher beschrieben [GEORGII (3)], hergestellt und bis zur Verwendung in geschlossenen Ampullen bei —24° C aufbewahrt.

Empfängermäuse. Neugeborene Mäuse vom ingezüchteten AB-Stamm wurden innerhalb der ersten 5 Lebenstage mit 0,2 ml der Standardviruslösung subcutan beimpft. Nach 4 Wochen wurden die Würfe nach Geschlechtern getrennt, in Kunststoffkäfigen bei Körnerfutter gehalten.

* Durchführung der Untersuchungen mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft. Unter technischer Mitarbeit von GISELA BACHL.

Ergebnisse

A. Latenzzeit und Häufigkeit der Leukämien

Die vorliegenden Untersuchungen stützen sich auf 3 verschiedene Versuchsreihen, die in Tabelle 2 angegeben sind. Sie unterscheiden sich durch das verwendete Leukämievirus, welches jeweils einer getrennten Präparation, d.h. einer Tumormaus aus verschiedenen Passagen unseres Landschütz-Sarkoms entstammt;

Tabelle 1. Die Leukämierate und Überlebenszeit der AB-Mäuse aus gleichartigen Versuchsreihen, die mit demselben virus-haltigen zellfreien Filtrat als neugeborene infiziert worden sind

Versuchsnummer	Leukämien	Überlebenszeit (in Tagen)	
	Tierzahl	Streuung	Mittelwert
10/1	2/3	229—360	—
10/2	3/4	98—409	—
10/3	13/42	219—515	345
10/4	7/15	147—495	371
10/5]	39/84	73—548	311
41/42	5/17	427—439	432

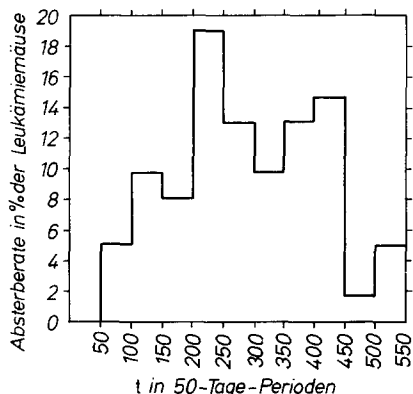


Abb. 1. Darstellung der prozentualen Absterberate der gesamten Leukämie-Mäuse bezogen auf 50-Tage-Perioden. Die getöteten Tiere wurden mit einbezogen, weil sie ohnehin innerhalb der Periode verendet wären. Die älter als 500 Tage gewordenen Mäuse wurden alle getötet und dabei noch 4,9% unserer Leukämien gefunden

bei einer Einteilung in Zeitperioden von 50 Tagen und bezogen auf die Gesamtzahl von 78 Leukämien, so ergibt sich folgendes (Abb. 1): Zwischen 200 und 250 Tagen besteht ein Gipfel von 19% und zwischen 400 und 450 Tagen ein zweiter Gipfel von 15% abgestorbener Leukämietiere. Nach 450 Tagen endet die spontane Absterberate, und die aufgeführten Tiere wurden alle getötet, um den Versuch zu beenden.

Im übrigen wurde in der Abb. 1 nicht zwischen spontan verendeten und getöteten Mäusen unterschieden, weil letztere als Kranke entfernt wurden und ohnehin bald verendet wären, so daß sie die Einteilung der 50-Tage-Periode nicht wesent-

die 3 Versuchsreihen sind auch nicht zur gleichen Zeit durchgeführt; die in Tabelle 1 aufgeführten Mäuse unserer ersten Versuchsreihen (10, 1—5) wurden zwar mit gleichem Virus aber zu verschiedenen Zeiten infiziert.

Die Diagnose der Leukämie stützt sich allein auf die histologische Auswertung der Organe verendeter und getöteter Tiere. Auf eine hämatologische Beurteilung wurde schon deshalb weitgehend verzichtet, weil im Verlauf von monatelangen Beobachtungszeiten sekundäre, leukocytosefördernde Infektionen ohne keimfreie Tierhaltung unvermeidlich sind. Bei den Angaben unserer Latenzzeit handelt es sich deshalb um den Termin, an dem die Maus sichtbar erkrankt oder die Lymphknotentumoren tastbar geworden waren. Viele Leukämietiere wurden unter den 12 oder 19 Monate nach Geburt und Virusinfektion getöteten Mäusen gefunden. Daraus geht hervor, daß die Leukämie ohne Symptome bereits während einer unbekannten Zeit bestanden haben muß.

Die kürzeste Latenzzeit betrug etwa 73 bzw. 98 Tage, der Mittelwert von 5 verschiedenen, mit gleichem Virus infizierten Versuchsgruppen lag zwischen 311 und 432 Tagen (Tabelle 1). Betrachtet man die Absterberate der Leukämietiere

lich verschoben hätten. Die später geschilderten verschiedenen Leukämieformen zeigten keine Unterschiede in ihrer Überlebenszeit.

Die Häufigkeit der Leukämierate liegt in den verschiedenen Versuchsansätzen zwischen 30 und 40 % (Tabelle 1 u. 2). Nachdem bei unseren AB-Mäusen die spontane Leukämierate bis zu einem Jahr deutlich unter 1 % und bis zum 2. Jahr um 1 % liegt, ist ohne vergleichende Kontrolluntersuchungen eine echte Neuinduktion von Leukosen zu unterstellen. Dabei liegt die Trefferquote etwa in der Höhe, wie sie von anderen Autoren in Induktionsversuchen mit ungereinigtem Leukämievirus angegeben wird [GRAFFI, GROSS (2, 3), TENNANT]. Unsere eigenen früheren Untersuchungen mit wildem Leukämievirus aus Ehrlichschem Mäusetumor hatten mit 25 % eine etwas geringere Häufigkeit ergeben. Diese Trefferquote darf jedoch nicht mit der Wirkung einer isolierten oder aktivierten Viruslinie verglichen werden, die im allgemeinen zwischen 80—95 % beträgt.

Tabelle 2. *Aufgliederung der virusinduzierten Leukämien nach dem histologischen Bild*

Ausgewertet wurden drei Versuchsreihen, in denen virushaltiges, zellfreies Filtrat aus drei verschiedenen Passagen des Landschütz-Sarkom Sa I zur Leukämieerzeugung verwendet wurde. In der untersten Rubrik sind die Prozentwerte auf die Gesamtzahl der Mäuse und auf die Leukämie-Mäuse bezogen.

Versuchsnummer	Gesamtzahl der Mäuse	Histologisch ausgewertet	Myelosen	Myeloblastenleukämien	Myelosarkomatosen	Reticulosarkomatosen	Lymphatische Leukämien
10/1—10/5	148	56	21	18	6	9	2
41 und 42	17	5	3	—	—	2	—
53	43	17	2	8	3	2	2
Gesamtzahlen	208	78	26	26	9	13	4
Prozentwerte	100	37	34	34	11	16	5

B. Morphologie der Leukämien

Bei der histologischen Auswertung fanden wir 5 verschiedene Leukoseformen, die nachfolgend einzeln besprochen werden. Die makroskopischen Befunde waren in Form von Lymphknoten- und Milztumoren oft sehr eindrucksvoll, jedoch zeigte nur gut die Hälfte der Leukämietiere diese Veränderungen (Tabelle 3). Mit zunehmender Unreife des vorherrschenden Zelltyps nahmen die Lymphknotentumoren der Mäuse zu; auch fanden sich dann häufiger Chloroleukämien, die bei reifzelligen Myelosen völlig fehlen. Hervorzuheben ist, daß wir keine Tumoren im Mediastinum fanden, wie sie besonders von GRAFFI et al. beschrieben worden sind.

1. Myeloische Leukämien. Die Zahl der reifzelligen myeloischen Leukämien betrug etwa ein Drittel der gesamten Leukämien (Tabelle 2). Definiert ist die Myelose als systemisierte, das Knochenmark und das RHS weitgehend einbeziehende Proliferation von Zellen der Granulopoese, wobei segmentkernige Granulocyten einen beträchtlichen Teil der Zellinfiltrate ausmachen und Myeloblasten bzw. undifferenzierte Zellen selten vorkommen. Dabei sind makroskopische Milz- und Lymphknotenvergrößerungen nicht obligatorisch, sondern wurden nur in einem Drittel der Fälle gefunden. Chloroleukämien wurden unter den reifzelligen Myelosen nicht beobachtet (Tabelle 3).

Die mikroskopischen Leberveränderungen können sowohl von diffusen intra-capillären wie von ausgesprochenen herdförmigen, portalen Infiltraten geprägt sein. In dieser starken periportalen Lokalisation unterscheidet sich die murine Leukämie von der menschlichen Erkrankung. Fälle ohne Leberbeteiligung wurden nicht beobachtet. Im lymphatischen Gewebe war die Milz stärker beteiligt als

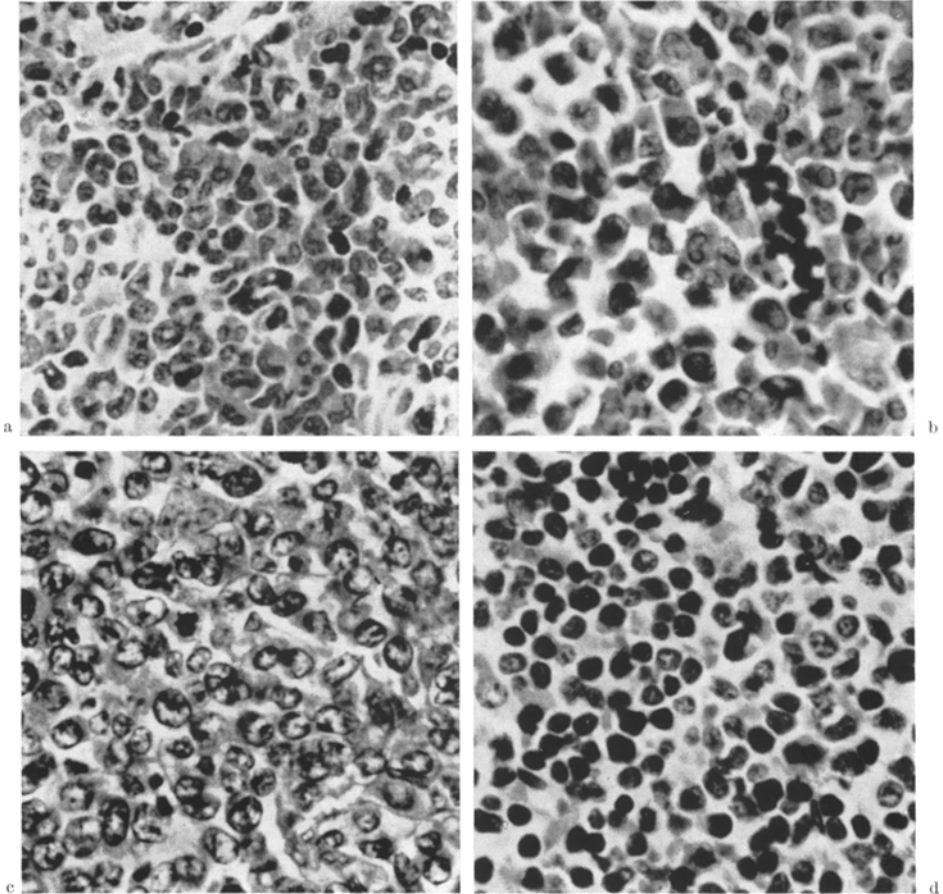


Abb. 2a—c. 4 verschiedene cytologisch abzugrenzende Leukämieformen. a Reifzellige myeloische Leukämie, b Myeloblasten-Leukämie, c Reticulo-Sarkomatose, d Lymphatische Leukämie. Alle Aufnahmen aus Lymphknoten; Vergrößerung 1000 \times (auf $19/20$ verkleinert) (Objektiv 40, 1,32 Pl. Apo, Okular 10 \times , bei 40 cm Balgenlänge, Panphot)

die Lymphknoten. Während die Milzstruktur durch die myeloische Zellproliferation stark verwischt wurde, fanden sich besonders in den nicht vergrößerten Lymphknoten oft die Follikel- und Markstrangstrukturen trotz Infiltraten gut erhalten. Das Knochenmark der untersuchten Wirbelsäule war zwar stets an der myeloischen Proliferation beteiligt, doch war die Zelldichte selten groß genug, um die Sinusräume wesentlich zu komprimieren oder zu verwischen. Auch ist die Ausreifung zu segmentkernigen Granulocyten gegenüber den meist etwas unreifen extraossären Infiltraten bemerkenswert.

2. Myeloblasten-Leukämien. Ebenso häufig wie Myelosen fanden sich in einem Drittel der Leukämiefälle Myeloblastenleukämien (Tabelle 2). Sie sind durch das Vorherrschen der unreifen überwiegend peroxydasenegativen Zellformen in den Infiltraten gekennzeichnet. Die Myeloblastenleukämie ist häufiger von Milz- und Lymphknotenvergrößerungen begleitet und verläuft oft als Chloroleukämie mit grasgrüner Lymphknotenfarbe (Tabelle 3).

Tabelle 3. Zuordnung der makroskopischen Veränderungen, Vergrößerung von Milz und Lymphknoten sowie Chloroleukämien, zu den histologisch unterschiedenen Leukämieformen

Diagnosen	Gesamt- zahl der Fälle	Tumoren von Milz und Lymphknoten	Chloro- leukämien
Myeloische Leukämien .	21	7/21	0/21
Myeloblastenleukämien .	18	9/18	5/18
Myelosarkomatosen . . .	6	5/6	3/6
Reticulosarkomatosen . .	9	6/9	1/9
Lymphatische Leukämien	2	2/2	0/2

3. Myelosarkomatosen. Grundsätzlich findet sich hier, wie bei myeloischen Leukämien eine systemisierte Proliferation unreifer Zellen der Granulopoese. Vorherrschend sind dabei zumeist Myeloblasten mit kleinem Kern und meist ein oder zwei Nukleolen; innerhalb dieser Zellart besteht eine erhebliche Polymorphie mit ungleichen Zell- und Kerngrößen. Reifere Zellen der Granulopoese sind auch durch Peroxydase-Reaktion immer nachweisbar. Megakaryocyten sind in den Organ- und Lymphknoteninfiltraten eingestreut. Die entscheidende Besonderheit der Myelosarkomatose ist die tumorförmige Proliferation in den Organen, besonders in Leber und Nieren, sowie im perilymphatischen Bindegewebe, in der periostalen und muskulären Umgebung der Wirbelsäule, im Speicheldrüseninterstitium und anderen Zwischengeweben. Zumeist ist die Myelosarkomatose mit Milz- und Lymphknotentumoren und oft mit dem Bild der Chloroleukämie verbunden (Tabelle 3).

So berechtigen 2 Besonderheiten, die Polymorphie des Zellbildes und der Tumorcharakter der Organinfiltrate, diese der proliferierenden Granulopoese zuzuordnende Systemerkrankung unter dem Begriff Myelosarkomatose von reifzelligen oder myeloblastären Veränderungen abzugrenzen. Der Name Myelosarkomatose ist entsprechend der Definition von HERXHEIMER gewählt, der damit die tumorförmige, oft mit Knotenbildung in Haut und Organen verbundene Myeloblastenleukämie bezeichnet hat.

4. Reticulosarkomatosen. Diese Veränderungen entsprechen etwa der durch Friend-Virus verursachten Reticulumzellenleukämie. Dabei besteht ein Milztumor, zumeist Lymphknotenvergrößerung und eine Knochenmarksbeteiligung mit finaler leukämischer Zellausschwemmung. Das Zellbild ist von großkernigen, plasmaarmen Elementen mit 1—2 deutlichen Nukleolen, hellem Kernplasma und scharfem Kernrand bestimmt. Weiter können sich am Rand dieser Zellinfiltrate auch Herde der Granulopoese, der Erythropoese und Megakaryocyten finden. Erstere bedingt eine stellenweise positive Oxydasereaktion in den Organschnitten

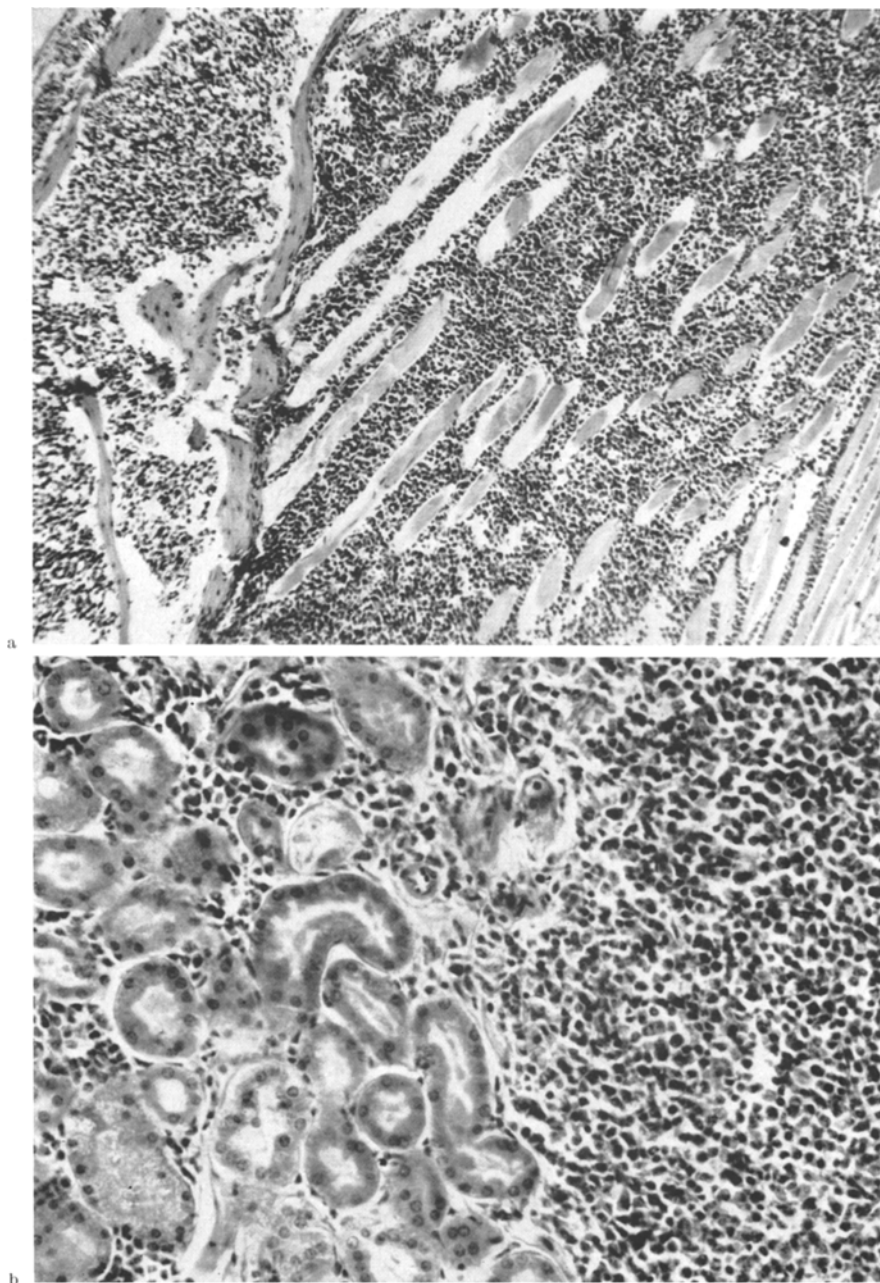


Abb. 3 a u. b. Myelo-Sarkomatose. a Tumorförmige Infiltration der paravertebralen Muskulatur durch Myeloblasten wie im Markraum des links angrenzenden Wirbels (180 \times , Maus 10-5-81). b Tumorförmige Infiltration einer Niere durch Myeloblasten mit Zerstörung von Harnkanälchen (450 \times)

(Tabelle 4). Die sehr zellichten, oft knotigen Zellinfiltrate enthalten ein dichtes Silberfasernetz, dem die Zellen anliegen. Das Knochenmark ist in die Verände-

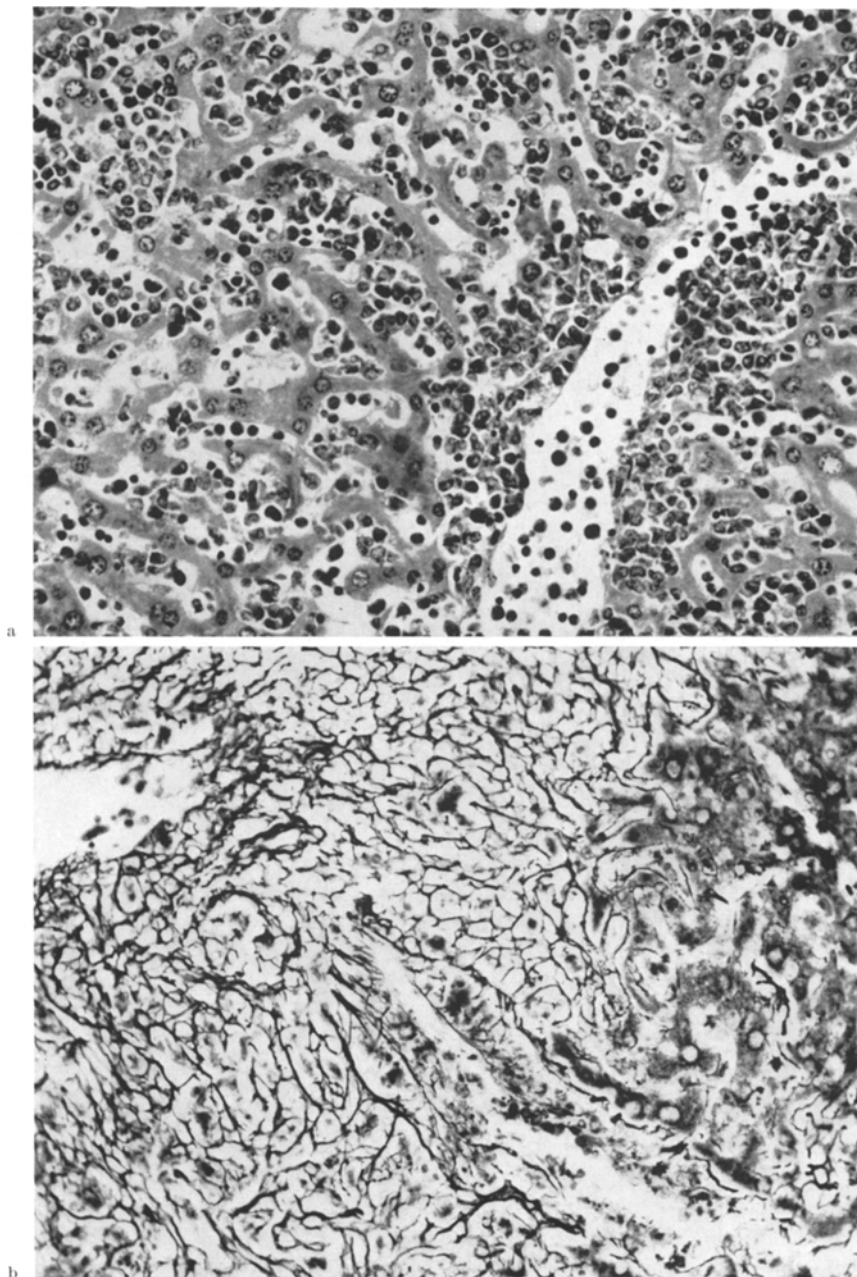


Abb. 4a u. b. Leberveränderungen bei 2 verschiedenen Leukosen. a Intracapilläre Infiltrate durch Myeloblasten bei einer Myelosarkomatose, s.a. Abb. 3a (Vergr. 300 \times , Maus 10-5-81). b Reticulosarkomatose mit vorwiegend periportalen Zellproliferaten und Gitterfaserbildung (Vergr. 450 \times , Versilberung nach BIELSCHOWSKI, Maus 10-5-124)

rungen einbezogen. Unter den Reticulosarkomatosen sind in unseren Fällen keine Chloroleukämien.

Tabelle 4. *Histochemischer Nachweis von Chloracetat-Esterase und Oxydase bei einigen der histologisch unterschiedenen Leukämieformen*

Zusammenfassung der Ergebnisse von Milz-, Lymphknoten und Leberschnitten und Wertung als positiv nur bei dicht liegenden granulierten Zellen in allen Organen.

Leukosefälle	Untersuchte Fälle	Untersuchte Fälle
	Chloracetat-El.-positiv	Peroxydasepositiv
Myeloische reifzellige Leukämien	19/18	7/7
Myeloblastenleukämien	17/14	8/8
Myelosarkomatosen	6/6	4/4
Reticulosarkomatosen	8/1	3/0
Lymphatische Leukämien . . .	2/0	2/0

5. Lymphatische Leukämien. Es handelt sich um eine systemisierte Wucherung kleinkerniger lymphoider Rundzellen mit einem dichten Kern, der sehr kleine Nucleolen enthält, zumeist kaum und selten von breiterem Cytoplasma umgeben ist. Die Zellen dürften, auch wegen fehlender Peroxydasegranula und fehlender Chloracetat-Esterase-Reaktion, wohl den undifferenzierten kleinen Lymphocyten entsprechen. Weiter zeigen diese Leukämieformen keinerlei Gitterfaserbildung in den Infiltraten, was ebenfalls den gewöhnlichen Lymphadenosen entspricht.

Die Veränderungen gleichen weitgehend den Mäuseleukämien, die durch Moloney-Virus verursacht werden; sie dürften weiter der von BATHER sogenannten monocytären Mäuseleukämie ähnlich sein, die durch Virus aus Mäuse-Sarkom 37 induziert werden konnte. Dem entsprechen auch die Lymphknoten- und Milztumoren dieser Fälle.

C. Histochemische Untersuchungen

Bei einer Leukämierate zwischen 30 und 40% und Manifestationszeit von vielen Monaten war eine gezielte fermenthistochemische Untersuchung von nativem Material technisch nicht durchzuführen. Dagegen wurde das formolfixierte Gewebe aller getöteten Mäuse mit der Peroxydase-Reaktion am Gefrierschnitt untersucht. In Tabelle 4 sind unsere Ergebnisse zusammengefaßt. Als positiv wurden nur solche Fälle bezeichnet, die in Lymphknoten, Milz und Leber eine intensive schwarz-braune Granulierung dichtliegender Zellen zeigten. Einzeln eingestreute peroxydasepositive Leukocyten blieben unberücksichtigt. Wir fanden, daß die Reticulosarkomatosen und monocytoiden Leukämien peroxydase-negativ und die übrigen 3 Leukämieformen durchwegs positiv waren. Allein damit ist eine Aufgliederung der 5 Formen in 3 der Granulopoese und 2 des lymphoretikulären Systems möglich.

Durch die von LEDER kürzlich angegebene Methode ist es möglich geworden, auch am paraffineingebetteten Gewebe diejenigen Esterasen nachzuweisen, die nach Angaben von MOLONEY et al. eine spezifische Abgrenzung der Zellen der Granulopoese erlauben. Die Naphthyl-AS-D-Chloracetat-Esterase wurde an einem repräsentativen Querschnitt getöteter Mäuse in den von uns histologisch abgegrenzten 5 Leukämieformen durchgeführt (Tabelle 4). Nach Kontrolluntersuchungen mit menschlichen, leukämischen und formolfixierten Lymphknoten wurden zuerst die reifzelligen, granulocytenreichen Myelosen untersucht. Positive Testschnitte wurden mitgeführt und jeder Organschnitt wenigstens zweimal mit

verschiedenen Lösungen des Substrates geprüft. Dabei erwies sich an unserem nach MAXIMOW fixierten Material die Reaktion mit Fast Garnet GBC als wesentlich kräftigerer Farbkomplex als die mit Pararosanilin.

Es zeigte sich, daß in den 3 peroxydasepositiven Leukämieformen der Granulopoese die meisten Fälle esterasepositiv waren. Lediglich unter den Myeloblasten-Leukämien waren einige auch bei mehrmaligem Wiederholen der Reaktion negativ. Dies entspricht dem vollständigen Überwiegen von granulafreien Myeloblasten in den extraossären leukämischen Infiltraten. Die von uns auf Grund histologischer Kriterien als Reticulosarkomatosen oder monocytoid-lymphoide Leukämien bezeichneten Veränderungen gaben keine Esterase-Reaktion. Wie durch die Peroxydase-Reaktion wird auch durch den Ausfall des Chloracetat-Esterase-Nachweises deutlich, daß die beiden letztgenannten Leukämieformen dem lymphoretikulären und damit einem anderen Zellsystem entstammen.

Diskussion

Die Untersuchungen hatten das Ziel, den Wirkungsbereich eines natürlich vorkommenden Leukämievirus der Maus vor allem durch histologische Untersuchung des blutbildenden Gewebes abzugrenzen. Mit einheitlichem, ungereinigtem Leukämie-Virus wurden Mäuse eines Inzuchtstammes infiziert. Einheitliches Virus wird dabei das Material bezeichnet, welches an einem Zeitpunkt aus einem virushaltigen Mäuseimpftumor entnommen und zur Infektion zahlreicher Würfe neugeborener Mäuse verwendet wurde. Eine angemessene Zahl von genetisch einheitlichen, vergleichbaren Mäusen sollte dabei die Grenzen der Viruseinwirkung auf das zur Hämoopoese fähige Gewebe festlegen.

Diese Versuchsanordnung ist erforderlich, um einen Einblick darüber zu bekommen, welche Transformationspotenzen für das blutbildende Gewebe natürlich vorkommendes Virus besitzt. Diese Frage kann nicht mit den bekannten gereinigten und hochaktiven Leukämieviruslinien entschieden werden, die jeweils nur eine, für sie charakteristische Leukämieform induzieren.

Neben der Auswertung der histologisch-histochemischen Ergebnisse sind unsere übrigen Befunde, wie die Leukämierate und Manifestationszeit, unwesentlich, weil sie lediglich Erfahrungen anderer Autoren mit Leukämievirus aus anderen Mäusegeschwülsten bestätigen. Hervorgehoben sei, daß in 3 verschiedenen Versuchsreihen übereinstimmende Ergebnisse erzielt wurden (Tabelle 2).

Unsere Untersuchungsergebnisse zeigen, daß durch natürliches, ungereinigtes Leukämievirus 5 verschiedene Leukämieformen hervorgerufen werden können. Dies betrifft zunächst die wechselnde Ausreifung innerhalb der Granulopoese mit reifzelligen, myeloblastären und tumorartigen, sarkomähnlichen Leukosen. Darüber hinaus kann auch eine völlig andere Zellrasse, die Reticulumzelle, von der Viruswirkung betroffen sein. Mit einem Anteil von 15% an den Gesamt-leukosen sind die Reticulosarkomatosen mehr als eine zufällige Entwicklung.

Die histologisch erfolgte Abgrenzung der 5 Leukämieformen wird durch histochemische Untersuchungen entscheidend gestützt und bestätigt, weil der Ausfall der Fermentreaktionen dem Reifegrad bzw. der Abkunft der leukämiebildenden Zellen entspricht. Dabei beweist insbesondere das Ergebnis mit der für die Granulopoese spezifischen Chloracetat-Esterase, daß die als Reticulosarkomatosen oder

lymphatische Leukämien bezeichneten Veränderungen von einem anderen, dem lymphoreticulären Zellsystem abstammen.

Wir hatten 1958 darauf hingewiesen, daß bei Leukämieinduktion durch natürliches Virus nach der Graffi-Methode vorwiegend myeloische Leukämien entstehen. Damals verwendeten wir Ehrlichschen Mäusetumor als Virusmaterial und fanden auch bereits Myelosarkomatosen. Unsere nunmehr mit Inzuchtmäusen und Virus aus einem anderen Mäuseimpftumor, dem Landschütz-Sarkom durchgeführten Untersuchungen erweitern diese Befunde. Es ergibt sich deshalb die Frage, die wir einleitend für die Isolierung von Viruslinien gestellt hatten, ob ein Mäusetumor mehrere Virusarten gleichzeitig enthält. Alleine durch unsere Versuchsanordnung ist dies nicht eindeutig zu beantworten. Es müßten dazu vor allem die immunologischen Eigenschaften, besonders die Antigenwirkung des Leukämiegewebes untersucht werden. Dazu sind jedoch Transplantationslinien der gefundenen Leukämieformen eine notwendige methodische Voraussetzung. Die Überführung in eine Transplantationsleukämie bedeutet jedoch eine Selektion und den Verlust von Virus, weshalb die Frage nach primär verschiedenen Leukämievirusarten im Ausgangsmaterial auch damit nicht zu klären ist.

Trotz der genannten Einschränkungen sind wir überzeugt, daß unsere induzierten Leukämieformen durch ein Virus mit polyvalenter Wirkung auf die Granulopoese und reticulogene Zellreihe verursacht werden. Für diese Auffassung sprechen folgende experimentelle Erfahrungen.

GROSS zeigte, daß sein gereinigtes Virus der lymphatischen Mäuseleukämie, Passage-A-Virus, bei bestimmten Mäuselinien (BALB) unter den Leukämien bis zu 60% myeloische neben lymphatischen verursacht [GROSS (4)], bei thymektomierten Mäusen induzierte Gross-Virus ebenfalls Myelosen neben den sonst allein auftretenden Lymphadenosen [GROSS (2, 3)]. GIMMY et al. fanden myeloische, lymphatische und reticulogene Leukosen bei Ratten, die mit dem Graffi-Virus der myeloischen Mäuseleukämie beimpft waren. FEY et al. zeigten, daß Leukämie-Virus von GRAFFI neben myeloischen auch reticulogene und lymphatische Leukosen verursacht, wenn es nach heterologer Mäuse-Ratten-Passage auf die Maus zurückgeführt wird. GRAFFI et al. beobachteten Reticulumzellen-Leukämien, wenn ihre gereinigte Viruslinie zeitweilig auf Mäuseembryonalzellen gezüchtet worden war.

Es kommt also unter gewissen experimentellen Bedingungen sowohl dem Gross-Virus der lymphatischen wie dem Graffi-Virus der myeloischen Mäuseleukämie eine breitere histogenetische Wirkungsweise zu. Diese Erfahrungen stützen unsere Auffassung, daß die 5 verschiedenen Leukämieformen unseres Experimentes durch eine Virusart mit transformativer Potenz für beide Zellreihen verursacht werden.

Die Annahme einer polyvalenten Wirkung von natürlichem Leukämievirus steht der immunologisch gesicherten Feststellung von der Existenz verschieden wirksamer Arten von Leukämievirus (ROWE; MOLONEY) nicht entgegen. Während jene gereinigten Viruslinien grundsätzlich eine ziemlich begrenzte Cytotropie mit Transformation eines Zellsystems aufweisen, zeigen unsere Ergebnisse, daß natürlich vorkommendes Virus ein breiteres Wirkungsspektrum hat, welches neben der Granulopoese auch das lymphoretikuläre Zellsystem mit einbezieht. Die Erfahrung, daß gereinigtes isoliertes Virus unter den oben zitierten, besonderen

experimentellen Bedingungen ebenfalls zu verschiedenen Leukämieformen führt, bestätigt unsere Vorstellung. Somit ergibt sich aus unseren Befunden, daß natürlich vorkommendes Leukämievirus einer Infektionsquelle verschiedene Formen der Leukämie verursachen kann. Die leukämogene Potenz einer Viruslinie ist also nicht notwendig mit einer typischen morphischen Wirkung verbunden.

Zusammenfassung

Durch natürlich vorkommendes Virus eines Mäuseimpftumors können bei neugeborenen Inzuchtmäusen 5 verschiedene Leukämieformen induziert werden. In mehreren Versuchsreihen entstanden Myelosen (34 %), Myeloblastenleukämien (34 %), Myelosarkomatosen (11 %), Reticulosarkomatosen (16 %) und lymphatische Leukämien (5 %). Durch histochemische Nachweise von Peroxydase und Naphthyl-ASD-Chloracetat-Esterase wird die histologische Einteilung gesichert. Somit ist nachgewiesen, daß durch *ein* natürlich vorkommendes Virus bei Inzuchtmäusen eines Stammes 2 verschiedene Zellsysteme, das myeloische und lymphoretikuläre, von der leukämogenen Virustransformation betroffen werden. Natürlich vorkommendes, ungereinigtes Leukämievirus hat also ein vielfältigeres Wirkungsspektrum als gereinigte, aktivierte Viruslinien, die jeweils nur ein Zellsystem betreffen.

The Action of Naturally Occurring Leukemia Virus Obtained from the Landschutz Sarcoma of Agnes Bluhm Mice

Summary

Five different forms of leukemia can be induced in newborn inbred mice by means of a naturally occurring virus of a transplantable mouse tumor. In several series of experiments there were induced: myelosis (34 %), myeloblastic leukemia (34 %), myelosarcomatosis (11 %), reticulosarcomatosis (16 %), and lymphatic leukemia (5 %). The histological classification is corroborated by the histochemical demonstration of peroxidase and naphthyl — ASD — chloracetate-esterase. Consequently, it can be shown, that with a naturally occurring virus of inbred mice of one strain, two different cell systems, the myeloid and the lymphoreticular, may be involved in the leukemogenic viral transformation. Naturally occurring impure leukemia virus has, therefore, a more widespread range of action than purified activated viral lines which attack only one cell system.

Literatur

- BATHER, R.: Observations on murine monocytic leukaemia induced by a virus isolated from S₃₇ sarcoma. *Brit. J. Cancer* **15**, 114 (1961).
 FEY, F.: Untersuchungen zur Charakterisierung der durch zellfreie Tumorerfiltrate erzeugten Leukämien der Maus. *Acta biol. med. germ.* **1**, 15 (1958).
 — J. GIMMY u. A. GRAFFT: Hämatologische und histologische Untersuchungen an Mäuseleukämien, die durch zellfreie Filtrate aus leukämischen Rattengeweben induziert wurden. *Acta biol. med. germ.* **3**, 598 (1959).
 FRANKS, W. R., A. MCGREGOR, M. M. SHAW, and J. SKUBLICK: Development of leukosis by cell-free filtrates of solid tumors or in mice surviving immune to these tumors. *Proc. Amer. Ass. Cancer Res.* **3**, 19 (1959).
 FRIEND, CH.: Leukemia of adult mice caused by a transmissible agent. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **68**, 522 (1957).

- GEORGI, A.: (1) Morphologische Befunde bei der experimentellen Filtrationsleukämie der Maus. *Naturwissenschaften* **45**, 444 (1958).
- (2) Leukämie und leukämoide Reaktion im Experiment. *Verh. dtsch. Ges. Path.* **43**, 351 (1959).
- (3) Experimentelle und morphologische Untersuchungen zur Ätiologie der Säugetierleukosen. *Beitr. path. Anat.* **124**, 183 (1961).
- GIMMY, J., F. FEY u. A. GRAFFI: Hämatologische und histologische Untersuchungen an Rattenleukosen, die durch zellfreie Filtrate von Mäuseläukämien erzeugt wurden. *Arch. Geschwulstforsch.* **16**, 118 (1960).
- GRAFFI, A.: Zur Virusaetiologie verschiedener Mäuseleukämien. *Acta haemat. (Basel)* **20**, 49 (1958).
- L. BAUMBACH, T. SCHRAMM u. D. BIERWOLF: Untersuchungen zur Frage der Züchtbarkeit des Virus der myeloischen Leukämie der Maus in der Gewebekultur. *Z. Krebsforsch.* **65**, 385 (1963).
- H. BIELKA u. F. FEY: Leukämieerzeugung durch ein filtrierbares Agens aus malignen Tumoren. *Acta haemat. (Basel)* **15**, 145 (1956).
- GROSS, L.: (1) High susceptibility of 1 to 14 days old C3H mice to "Passage A" leukemic filtrates. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **97**, 300 (1958).
- (2) Biological and pathogenic properties of a mouse leukemia virus. *Acta haemat. (Basel)* **23**, 259 (1960).
- (3) Development of myeloid (chloro-) leukemia in thymectomized C3H mice following inoculation of lymphatic leukemia virus. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **103**, 509 (1960).
- (4) Pathogenic potency and host range of the mouse leukemia virus. *Acta haemat. (Basel)* **29**, 1 (1963).
- LEDER, L. D.: Über die selektive fermentcytochemische Darstellung von neutrophilen myeloischen Zellen und Gewebasmastzellen im Paraffinschnitt. *Klin. Wschr.* **42**, 553 (1964).
- MOLONEY, J. B.: (1) Biological studies on a lymphoid-leukemia virus extracted from sarcoma 37. I. Origin and introductory investigations. *J. nat. Cancer Inst.* **24**, 933 (1960).
- (2) The murine leukemias. *Fed. Proc.* **21**, 19 (1962).
- MOLONEY, W. C., K. MCPHERSON, and L. FLIEGELMANN: Esterase activity in leukocytes demonstrated by the use of Naphthol-As-D-Chloracetate substrate. *J. Histochem. Cytochem.* **8**, 200 (1960).
- RAUSCHER, F. J.: A virus-induced disease of mice characterized by erythrocytopoiesis and lymphoid leukemia. *J. nat. Cancer Inst.* **29**, 515 (1962).
- ROWE, W. P.: Resistance of mice infected with Moloney leukemia virus to Friend virus infection. *Science* **141**, 40 (1963).
- TENNANT, J. R.: Derivation of a murine lymphoid leukemia virus. *J. nat. Cancer Inst.* **28**, 1291 (1962).

P. D. Dr. A. GEORGI,
Pathologisches Institut der Universität
8 München 15, Thalkirchner Str. 36