

Vergleichende elektronenmikroskopische Untersuchungen am Drüsenepithel und am sog. lobulären Carcinom der Mamma

A. SCHÄFER und R. BÄSSLER

Pathologisches Institut der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
(Direktor: Prof. Dr. H. BREDT)

Eingegangen am 12. September 1968

Comparative Electron Microscopic Examinations of the Epithelium of the Normal Female Mammary Gland and Lobular Carcinoma

Summary. In comparative electron microscopic examinations of the acini of the normal female mammary gland and lobular carcinoma different types of cells may be classified: A-cells are rich in ribosomes and basally located. B-cells contain fewer ribosomes, are luminally located, and have a prismatic shape. Myoepithelial cells are characterized by their localisation, function and myofilaments.

In lobular carcinoma clear cells prevail which belong to the type B-cells of the normal acinus. The A-cells, myoepithelial cells and epithelial cells of the ducts do not proliferate. Signs of proliferation are bridgelike and budlike units of epithelial cells. The interior of the cytoplasm of the proliferated cells is poorly differentiated and the number of regular cell organelles is reduced. Besides, atypical differentiation products can be seen as fibrillar structures and a great number of cytosomes which probably correspond to microbodies and lysosomes. The basement membrane which surrounds the acini of lobular carcinoma is thickened, the enveloping connective tissue is condensed and contains many active fibroblasts.

Zusammenfassung. In vergleichenden elektronenmikroskopischen Untersuchungen am Drüsencinus einer normalen weiblichen Mamma und eines lobulären Carcinoms werden verschiedene Zelltypen beschrieben: A-Zellen sind ribosomenreich und überwiegend basal lokalisiert. B-Zellen enthalten weniger Ribosomen, sind luminal lokalisiert und haben prismatische Form. Myoepithelzellen sind durch ihre Topik, Funktion und durch den Gehalt an Myofilamenten charakterisiert.

Im lobulären Carcinom überwiegen helle Zellen, die dem B-Typ des normalen Acinus zugehören. Die A-Zellen, Myoepithelzellen und Epithelzellen der Ausführungsgänge nehmen nicht an der Proliferation teil. Als Zeichen der Proliferation treten brücken- und kospenförmige Epithelzellverbände auf. Das Cytoplasma der proliferierten Zellen besitzt ein wenig differenziertes Inventar und eine verminderte Zahl regulärer Zellorganellen. Außerdem treten in Form von fibrillären Strukturen und einer großen Anzahl von Cytosomen, die Microbodies und Lysosomen entsprechen dürften, atypische Differenzierungsprodukte auf. Die Basalmembran, die die Tumorläppchen umgibt, ist gegenüber der normalen Mamma verbreitert, das Mantelgewebe ist verdichtet und enthält reichlich aktive Fibroblasten.

Die in Drüsennäppchen oder Milchgängen der Mamma auftretenden Epithelproliferationen sind eine häufig zu beobachtende Begleiterscheinung von Dysplasien, die flächenhaft, knospenförmig aber auch hirschgeweihartig ausgeprägt sein können. Experimentell gelingt es, durch kleine Oestrogendosen über längere Zeit gegeben, derartige Wucherungen des Drüsenepithels hervorzurufen, die auch beim Menschen als Ausdruck einer besonderen hormonalen Stimulation aufgefaßt werden und wovon Formen der Gynäkomastie und Pubertätsmakromastie

wie auch die fibrös-cystische Mastopathie zeugen (GESCHICKTER, 1941, 1945). — Eine Sonderstellung nehmen dagegen jene Proliferationen ein, die Drüsenlobuli oder terminale Milchgänge gänzlich ausfüllen und deren Prognose nach FOOTE und STEWART (1941), NEWMAN (1963, 1966), McDRITT, HUTTER, FOOTE und STEWART (1967) rechtfertigt, von einem sog. lobulären Carcinom zu sprechen. Dieser gewöhnlich lokale, aber auch multizentrisch auftretende Proliferationsprozeß entwickelt sich in der Regel vor der Menopause und kann nach einem zeitlichen Intervall von Monaten oder Jahren in ein invasives Carcinom mit nachfolgender Metastasierung umschlagen. Weitere pathologisch-anatomische und klinische Gesichtspunkte zu diesen Fragen sind von GODWIN (1952), HAAGENSEN (1962); BENFIELD, JACOBSON und WARNER (1965), LEWINSON (1964), NAZARI, BENITEZ, ROBBINS und BYRNE (1967) und von BÄSSLER (1968) mitgeteilt worden.

Im Rahmen elektronenmikroskopischer Untersuchungen von Dysplasien und Geschwülsten der menschlichen Brustdrüse soll im Vergleich zur Feinstruktur normaler Drüsenläppchen das elektronenmikroskopische Bild eines nicht-invasiven lobulären Carcinoms beschrieben werden. Im Vordergrund steht das Verhalten des Epithels während der Proliferation, die Ausbildung verschiedener Zelltypen und die Beziehungen des Tumors zu Basalmembran und Mesenchym.

Material und Methode

Elektronenmikroskopische Untersuchungen wurden an Probeexcisionen aus weiblichen Brustdrüsen vorgenommen, von denen sowohl Tumorgewebe wie auch normales Gewebe sofort nach der Entnahme fixiert und eingebettet worden ist. Die Fixierung erfolgte in 4,5%igem Glutaraldehyd in Cacodylatpuffer pH 7,3. Spülung in 0,2 m Cacodylat-Sucrose-Puffer. Einbettung in Durecupan ACM (Fluka). Anfertigung der Schnitte auf Porter-Blum MT2. Schnittkontrastierung mit Uranylacetat und Bleicitrat. Siemens Elmiskop I.

Als normales Vergleichsmaterial diente Gewebe aus der Mamma einer 20 Jahre alten Frau.

Lobuläres Carcinom: 45 Jahre alte Frau (J.-Nr. 3941/67) bemerkte 8 Wochen vor der Probeexcision eine knotige Verhärtung in der rechten Mamma. Keine Rückbildung, sondern geringgradige Vergrößerung des Knotens, der gut begrenzbar ist. — Das Operationspräparat ist mandarinengroß, mittelfest-elastisch und von grauweißer Farbe. Auf dem Ausschnitt neben weißem Bindegewebe eine ungewöhnlich erscheinende scharf konturierte Felderung.

Histologisch ein in allen Teilen nahezu übereinstimmendes Gewebsbild, das durch Vergrößerung der Drüsenläppchen und Erweiterung der kleinen Drüsengänge infolge proliferierter Epithelzellen gekennzeichnet ist. Diese sind weitgehend isomorph. Läppchen- und Ganglichtungen sind verschlossen. Herdförmig cribriforme Strukturen mit PAS-positiven Abscheidungen, die z. T. ringförmig die neu entstandenen Hohlräume umgrenzen. Keine Mitosen; keine auffällig chromatinreichen Zellkerne. Die verbreitete Basalmembran umgibt die lobulären Zellproliferationen, die an keiner Stelle infiltrativ oder destruktiv in das Mesenchym vordringen. Dieses ist komprimiert, bildet schmale Septen mit dichten Filzen kollagener und retikulärer Fibrillen.

Ergebnisse

I. Die Feinstruktur der normalen menschlichen Brustdrüse

Die Feinstruktur des normalen Epithels der weiblichen Mamma wurde in vergleichenden Untersuchungen von HAGUENAU und ARNOULT (1959), WAUGH und VAN DER HOEVEN (1962), BARTON (1964) und TOKER (1967) mit zum Teil widersprüchlichen Befunden dargestellt. Mit Hilfe von eigenen Untersuchungen an einer nicht dysplastisch veränderten weiblichen Brustdrüse soll deshalb zu einigen Fragen Stellung genommen werden.

Die *Endstücke* der Drüse sind von einer Epithelzellform ausgekleidet, die auf Grund ihres transparenten Cytoplasma dem Typ der *B-Zellen* (HAGUENAU und ARNOULT, 1959) zugeordnet werden können, wobei allerdings die Dichte ihres Cytoplasmas auf Grund eines differenten Ribosomengehaltes der einzelnen Zellen Schwankungen unterliegt. Die Differenzierungen der Zelloberfläche bestehen aus Mikrovilli, interzellulären Verzahnungen, Desmosomen und Schlußleisten. Auch das Caryoplasma der runden bis ovalen Zellkerne hat infolge seiner weitgehend gleichmäßigen Chromatinverteilung an der Transparenz teil. Im Cytoplasma befinden sich neben einem umschriebenen, zwischen Zelloberfläche und Kern lokalisierten Golgiefeld, wenig kleinen Mitochondrien mit dichter Matrix und einzelnen kurzen Ergastoplasmalamellen, keine weiteren Differenzierungsprodukte. Insbesondere fehlen die von HAGUENAU und ARNOULT (1959) beschriebenen fibrillären Strukturen und kontrastreichen Einlagerungen.

An der Basis der Drüseneindstücke befindet sich in geringer Anzahl eine Zellform, deren Cytoplasma durch seinen hohen Gehalt an Ribosomen gekennzeichnet ist, daher dunkel erscheint und dem Typ der *A-Zellen* (HAGUENAU und ARNOULT, 1959) entspricht. Ihr Kern erscheint länglich mit gelappter Oberfläche und einem dichten, teils scholligen Caryoplasma. Diese Zellen sind stark verzweigt und schieben sich mit ihren Fortsätzen zwischen B-Zellen und Myoepithelzellen, so daß in einem Schnitt häufig nur ein Zellfortsatz ohne den zugehörigen Kern vorhanden ist. An ihrer Oberfläche sind die Fortsätze der A-Zellen durch Desmosomen mit den umgebenden Zellen verhaftet, wobei jedoch häufig Dehiszenzen des Inter-cellularraumes bestehen, in die fingerförmige Plasmaausstülpungen der dunklen Zellen hineinragen. Ihr Cytoplasma enthält in größerer Zahl als die B-Zellen große, in Gruppen beieinanderliegende Mitochondrien, deren Matrix heller erscheint als in den B-Zellen. Außer kurzen Ergastoplasmalamellen und einem kleinen Golgi-Apparat enthält das Cytoplasma der A-Zellen keine weiteren Differenzierungsprodukte.

Als dritte Zellform befinden sich zwischen der Basalmembran und den beschriebenen Epithelzellen die *Myoepithelzellen*, die durch ihre langgestreckte und sternförmig verzweigte Form, ihren länglichen und an der Unterseite geribbten Kern, sowie ihren dichten Faserfilz von 50—80 Å dicken Myofilamenten gekennzeichnet sind, die mit Hemidesmosomen an der Basalmembran inserieren. An der basalen Zellmembran der Myoepithelzellen sind in Form von eingestülpten Bläschen mit einem Durchmesser von 500—600 Å reichlich Pinocytosevorgänge erkennbar.

Die *Basalmembran*, die die Drüseneformationen umgibt, besteht aus einer 550—720 Å breiten feingranulierten Lamina densa, die durch eine 400—450 Å breite transparente Lamina rara von der basalen Zellmembran der Myoepithelzellen getrennt ist (Abb. 5a). Das *Mantelgewebe* erscheint in unmittelbarer Umgebung der Epithelzellen sehr transparent und enthält in locker gefügter Form einzelne quergestreifte Kollagenfibrillen und wenige kurze 100—120 Å dicke micellähnliche Fäserchen. Auf eine etwa 3 μ breite zellfreie Zone schließen sich langgestreckte und verzweigte, parallel zur Epithelbasis liegende Fibroblasten an, die keine Fibrillogenese erkennen lassen. Daneben findet man einzelne Capillaren und peripher an den Fibroblastensaum angrenzend dicht gefügte Bündel kollagener Bindegewebsfasern.

Während in den Drüsenendstücken der weiblichen Mamma der Typ der B-Zellen mit transparentem Cytoplasma bei weitem vorherrscht, findet man in den *Ausführungsgängen* nur ganz vereinzelt diese Zellen. Im zweischichtigen Epithel der Gänge herrscht eine Zellform vor, die in ihrer Morphologie am ehesten den A-Zellen entspricht (Abb. 6a). Es handelt sich um schmale zylindrische Zellen, die im Gegensatz zu den A-Zellen in den Drüsenendstücken nicht verzweigt sind, aber wie jene ein gleichmäßig dichtes, ribosomenreiches Cytoplasma besitzen. Die Zelloberfläche weist interzelluläre Verzahnungen, Desmosomen, Schlußleisten und kurze, plumpe mikrovilliartige Ausstülpungen in das Ganglumen auf. Das Aussehen der Zellkerne mit ihren gelappten und eingebuchteten Oberflächen und ihrem scholligen Chromatingerüst mit einer leichten Kernwandhyperchromatose entspricht dem der A-Zellen der Drüsenendstücke. Daneben sind einzeln und in Gruppen liegende Mitochondrien mit heller Matrix und einem zwischen Kern und luminaler Zelloberfläche lokalisierten Golgiapparat, agranuläres endoplasmatisches Reticulum in Form von Vesikeln und einzelne Lamellen Ergastoplasmata vorhanden. *Myoepithelzellen*, die in geringerer Anzahl vorhanden sind, besitzen weniger Filamentbündel als die Myoepithelzellen der Drüsenendstücke und sind durch geweihartig verzweigte Cytoplasmafortsätze im circumductulären Mantelgewebe verankert.

Diesen 3 Zelltypen gegenüber beschrieb TOKER (1967) 5 Zellformen. Wir möchten die Diskrepanz dieser Befunde mit dem differenten Untersuchungsmaterial erklären, das bei TOKER von einer 22jährigen Frau im 4. Monat der Schwangerschaft, bei uns von einer 20jährigen nichtschwangeren Frau stammt.

II. Die Feinstruktur des lobulären Carcinoms (l.C.)

Die Mehrzahl der weitgehend isomorphen Tumorzellen gehört einem Zelltypus an, der durch sein transparentes Cytoplasma als *helle Zelle* gekennzeichnet ist (Abb. 1). Diese Zellen bilden, indem sie sich gegenseitig abplatten, ein wabenförmiges Muster oder kleiden in einer mehr zylindrischen Form einen Teil der neu entstandenen Hohlräume aus, die für das cribiforme Bild im Lichtmikroskop verantwortlich sind. Die Zelloberfläche weist zahlreiche Fortsätze auf, die einerseits am apicalen Pol der Zellen als Mikrovilli in das Lumen hineinragen, andererseits mit Nachbarzellen Seit-zu-Seit-Verzahnungen bilden und mit zahlreichen Desmosomen einen festen Zusammenhalt der Zellen bewirken. Die Intercellularfugen sind gegenüber den Lumina durch Schlußleisten abgedichtet. Am apicalen Pol der hellen Zellen befinden sich häufig bis zu 2 μ große mikrovillihaltige vacuolenartige Einstülpungen und bizarre bäumchenartig verzweigte Cytoplasmafortsätze.

Im Caryoplasma der runden bis ovalen, glatt konturierten *Zellkerne* sind die Ribosomen weitgehend gleichmäßig verteilt, eine Kernwandhyperchromatose ist nur in wenigen Zellen (Abb. 1) zu erkennen. Die großen Nucleoli sind häufig in Mehrzahl vorhanden und weisen deutlich knäuel- bzw. netzförmige Innenstrukturen auf.

Das transparente Cytoplasma enthält in gleichmäßiger Verteilung einzelne und in Rosettenform gruppierte freie Ribosomen, wobei geringe Unterschiede in der Dichte des Cytoplasma durch den wechselnd hohen Gehalt an Ribosomen bedingt sind. Unter den im allgemeinen in geringer Anzahl vorhandenen übrigen Zell-

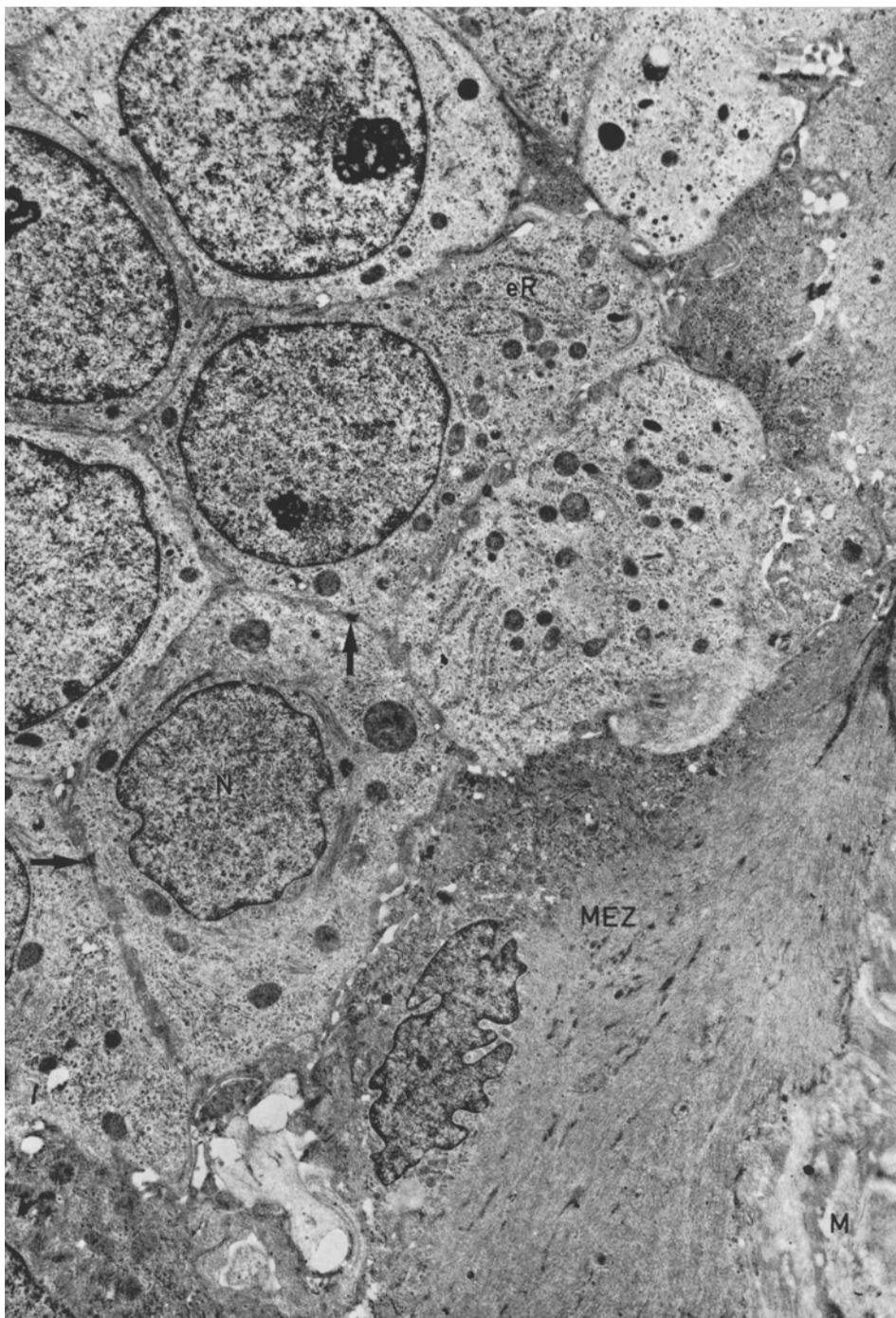


Abb. 1. Myoepithelzelle (*MEZ*) an der Basis eines Tumorläppchens zwischen hellen Zellen und Mantelgewebe (*M*). Reichlich Desmosomen zwischen den hellen Zellen (Pfeile). Ein Kern (*N*) ist von Filamentbündel umhüllt. Fragmente von endoplasmatischem Reticulum (*eR*).

Arch.-Nr. 1832/67, EM-Vergr. 3000 \times , Abb. 8700 \times

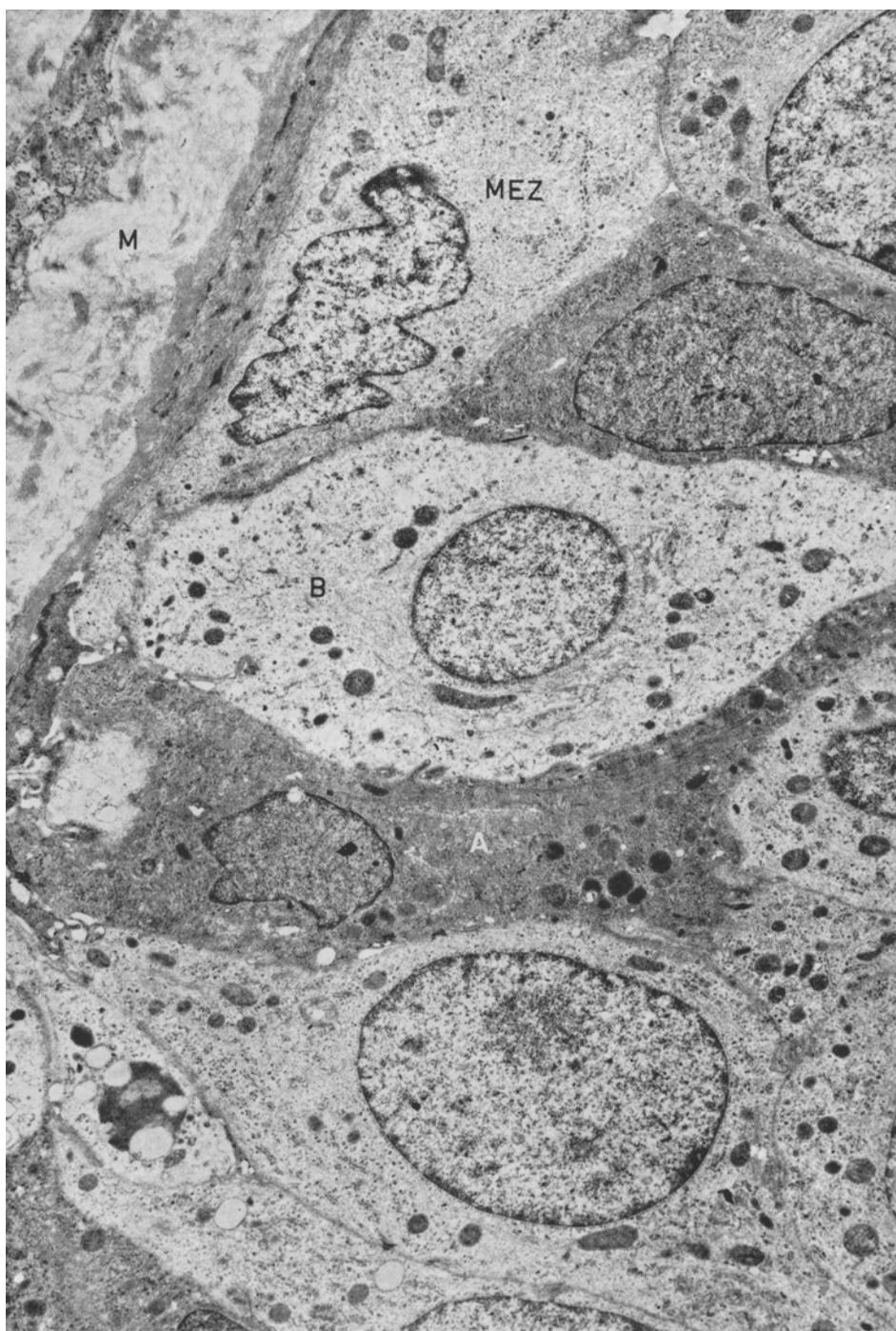


Abb. 2. Zwei dunkle Zellen (A) an der Basis eines Tumorläppchens zwischen einer Myoepithelzelle (MEZ) und hellen Zellen (B). Mantelgewebe (M). Arch. Nr. 1829/67, EM-Vergr. 3000 \times , Abb. 8100 \times

organellen befinden sich wenig kleine Mitochondrien mit elektronendichter Matrix und schlauchförmige Fragmente von granulärem endoplasmatischem Reticulum.

Folgende Differenzierungsprodukte wurden in den Tumorzellen, nicht aber in normalen Epithelzellen der Milchdrüse beobachtet:

a) *Intracytoplasmatische Fibrillen*, die als fadenförmige Strukturen von 50 bis 60 Å Dicke entweder in Form von Bündeln konzentrisch die Zellkerne umhüllen oder in gelockerter Form als filzartiges Geflecht auch andere Zellorganellen umgeben (Abb. 3a, c). Strukturelle Beziehungen zu den Desmosomen an der Zelloberfläche konnten nicht beobachtet werden.

b) Globuläre Zelleinschlüsse, die wir als *Cytosomen* bezeichnen möchten (DAVID, 1964), stellen runde bis ovale Partikel dar, die entweder bei einem Durchmesser von 100—250 m μ gruppenweise oder als größere Exemplare mit einem Durchmesser von 250—500 m μ mehr solitär im Cytoplasma deponiert sind (Abb. 3a, b). Bei stärkerer Vergrößerung erkennt man, daß ihre Matrix aus dicht beieinander liegenden Granula mit einem maximalen Durchmesser von 200 Å besteht und daß sie z. T. mit einer dünnen, 50—60 Å breiten Membran umhüllt sind. Bei einem Teil der Cytosomen treten vacuolen- und vesikelförmige Aufhellungszonen, in anderen starke Verdichtungen und Homogenisierung der granulären Matrix auf. Diese Zelleinschlüsse sind sowohl in Zellen der tieferen Wandschichten als auch in Zellen, die an ein Lumen angrenzen vorhanden, wobei in letzteren eine deutliche Anhäufung im apicalen Cytoplasma zu erkennen ist.

Eine spärlicher vorkommende Zellform, deren Kerne meist in der Nähe der Läppchenbasis lokalisiert sind, kann auf Grund ihres dichten Cytoplasma als *dunkle Zelle* angesprochen werden (Abb. 2). Diese Zellen scheinen von den hellen Zellen komprimiert zu werden, wobei lang ausgezogene und verzweigte Fortsätze entstehen. Die Dichte des Cytoplasma der dunklen Zellen ist durch den im Vergleich mit den hellen Zellen wesentlich höheren Gehalt an Ribosomen bedingt, während das übrige Inventar des Cytoplasma mit dem der hellen Zelle weitgehend übereinstimmt.

In den Lumina von Drüseneindstücken, die noch nicht oder erst teilweise mit Epithelzellen angefüllt sind, treten als *Ausdruck der Proliferation* Epithelzellverbände auf, die brücken- und knospenartige Formationen bilden (Abb. 4a). Ihr Aussehen ähnelt weitgehend dem der hellen Zellen, mit denen sie in enger topischer Beziehung stehen. Die Verbindung zwischen den einzelnen Zellen der Epithelbrücken und -knospen erfolgt durch Desmosomen und intercelluläre Verzahnungen, die freien Oberflächen besitzen mikrovilliartige kurze Fortsätze. Zwischen perinucleären Ribosomengruppen und peripheren Ergastoplasmafragmenten befinden sich viele granulierte globuläre Zelleinschlüsse unterschiedlicher Größe und Elektronendichte, die in ihrem Aussehen den beschriebenen Cytosomen entsprechen (Abb. 4b). Während in den Zellen der Epithelbrücken der Golgiapparat in Form von Dictyosomen und Vesikeln stärker ausgebildet ist als in den übrigen Zellen, sind Mitochondrien nur in geringer Anzahl vorhanden. Ein lockeres Geflecht feiner Fibrillen umgibt die Zellorganellen. Auf Grund ihrer weitgehend adäquaten morphologischen Eigenschaften möchten wir diese Zellform der Gruppe der hellen Zellen zuordnen und als proliferativ aktive Zellen betrachten.

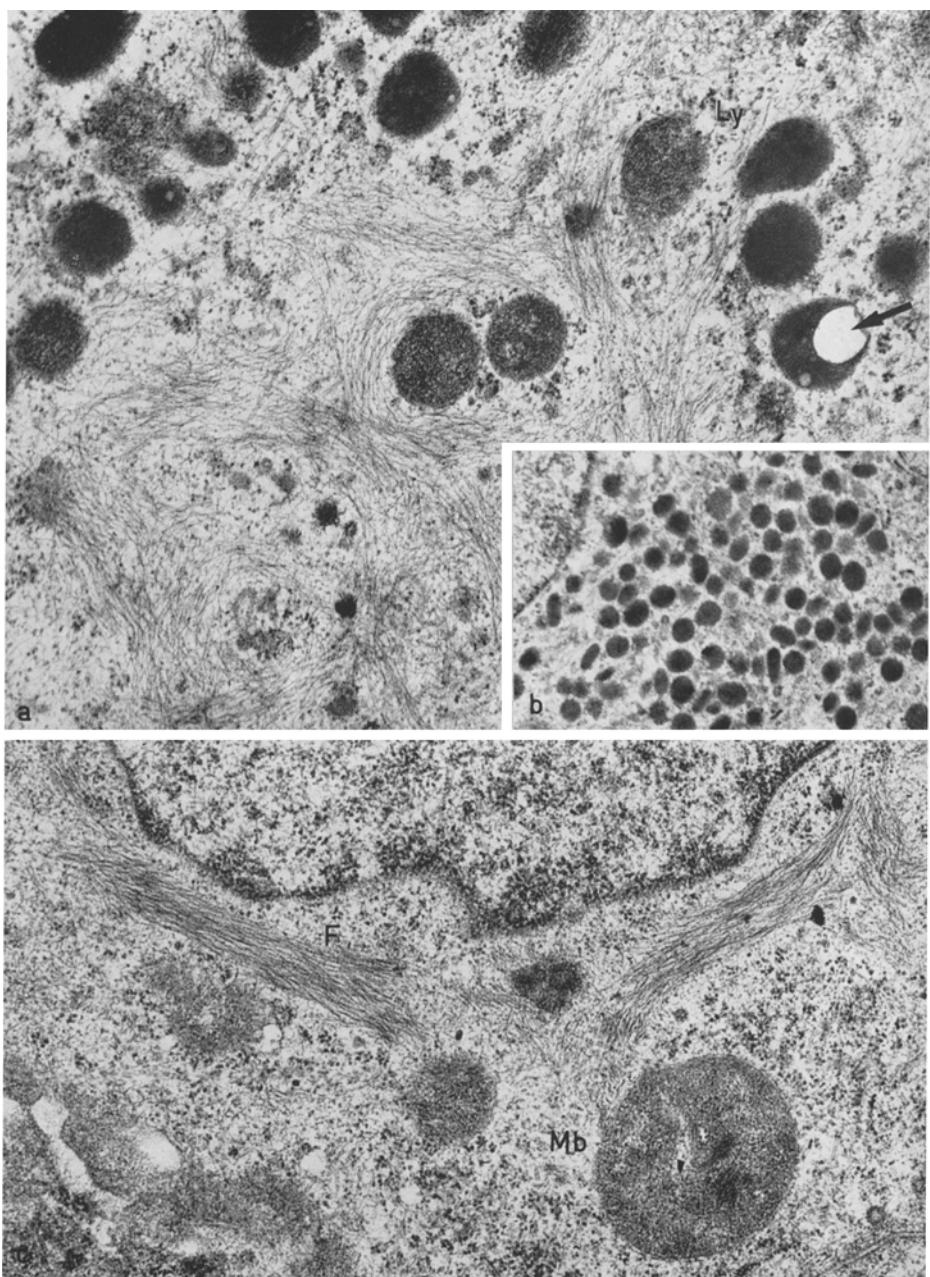


Abb. 3. a Lysosomen (*Ly*) mit Aufhellungen in der Matrix (Pfeil), von filzartigen intracytoplasmatischen Fibrillen umgeben. Arch.-Nr. 1706/67, EM-Vergr. 15200 \times , Abb. 31900 \times , b Gruppe von 100—250 m μ dicken Cytosomen. Arch.-Nr. 1659/67, EM-Vergr. 5000 \times , Abb. 17000 \times . c Perinukleäre intracytoplasmatische Fibrillen (*F*) und Microbodies (*Mb*) bei stärkerer Vergrößerung. Arch.-Nr. 1832/67, EM-Vergr. 3000 \times , Abb. 30000 \times

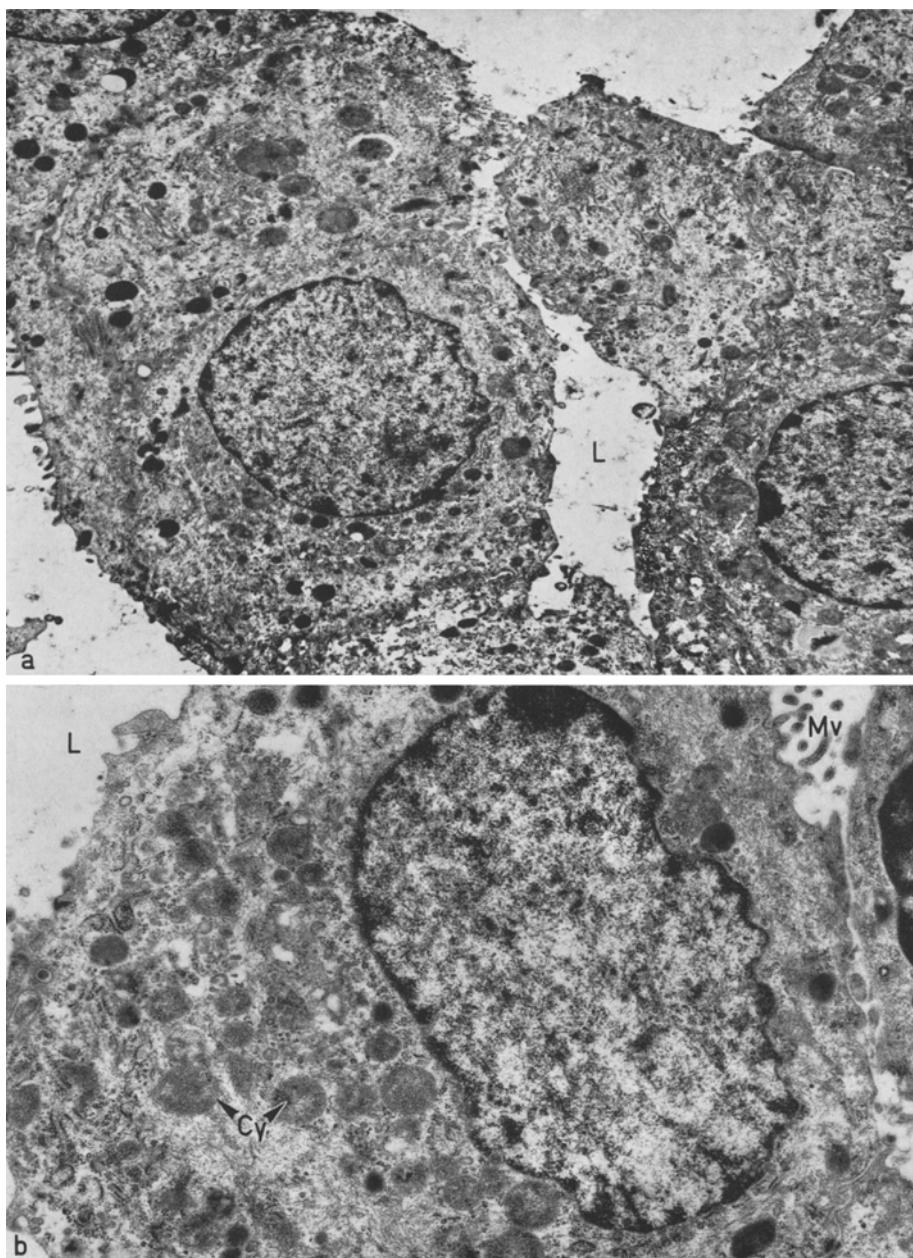


Abb. 4. a Proliferierte Zellen einer Epithelbrücke im Lumen (*L*) eines Acinus bei l.C. Arch.-Nr. 2010/67, EM-Vergr. 3000 \times , Abb. 7500 \times . b Zellen aus einer Epithelbrücke bei stärkerer Vergrößerung. Lumen (*L*), Mikrovilli (*Mv*). Zahlreiche Cytosomen (*Cy*). Arch.-Nr. 2005/67, EM-Vergr. 6000 \times , Abb. 14400 \times

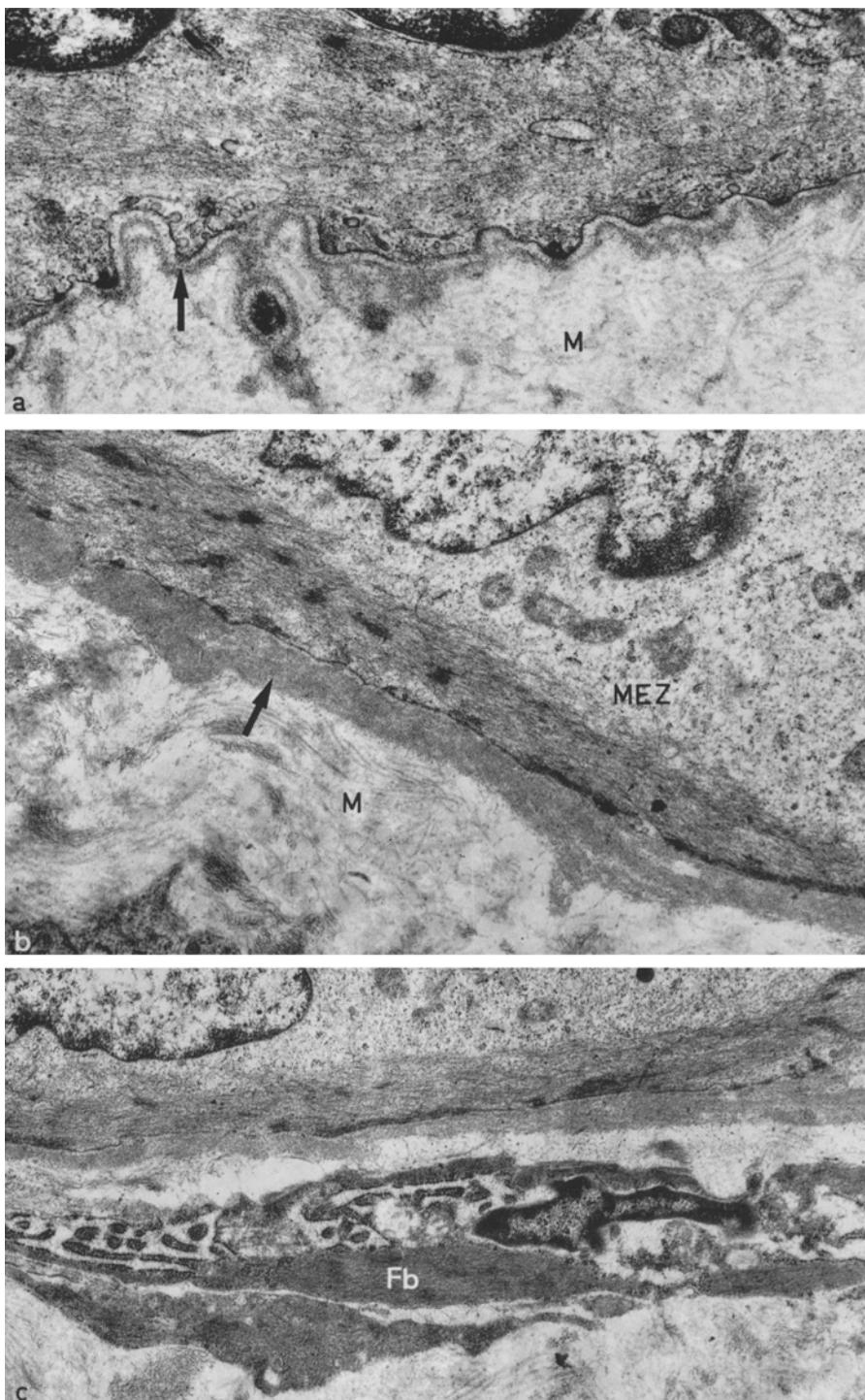


Abb. 5 a—c

Basal besitzen die mit Tumorzellen ausgefüllten Acini eine strukturelle Organisation, die vollkommen der Basalstruktur normaler Drüsenealveolen entspricht, indem gut ausgebildete *Myoepithelzellen* netzförmig zusammenhängen und die Endstücke umgreifen (Abb. 1). Auf Grund ihrer charakteristischen Feinstruktur, die mit den bisherigen Untersuchungsergebnissen über Myoepithelzellen der Brustdrüse übereinstimmen (TAKAHASHY, 1958; LANGER und HUHN, 1958; HAGUENAU, 1959; BÄSSLER, SCHÄFER und PAEK, 1967), sind sie leicht zu differenzieren und als langgestreckte Zellen zwischen Basalmembran und Epithel lokalisiert. Im Gegensatz zu den Filamenten in den hellen Zellen, die meist die Kerne umhüllen und keine strukturellen Beziehungen zur Zelloberfläche zu erkennen geben, lassen die Myofilamente der Myoepithelzellen das den Kern enthaltende Cytoplasmaareal frei und verlaufen als geschlossene Schicht entlang der basalen Zellmembran, wo sie an Hemidesmosomen inserieren.

Die Drüsennäppchen beim I.C. sind von einer *Basalmembran* umgeben, deren Lamina densa in ihrer Breite zwischen 3000 und 6000 Å schwankt und somit wesentlich breiter als die normaler Drüsenealveolen ist, während die Lamina rara interna eine konstante Breite von 350—400 Å aufweist (Abb. 5 b). Auch das mesenchymale *Mantelgewebe* beim I.C. ist von qualitativen und quantitativen Veränderungen betroffen. Das Bindegewebe, das an die mit proliferierten Zellen angefüllten Läppchen angrenzt, ist im Vergleich zur normalen Mamma stark verdichtet und besteht aus einer breiten Schicht dicht gefügter, wellenförmig verlaufender, kollagener und retikularer Bindegewebefasern, die meist direkt der Basalmembran anliegen. Zahlreiche aktive Fibroblasten mit stark erweitertem endoplasmatischen Reticulum und einem wechselnd breiten, filzartigen Oberflächenbelag parallel zur Längsachse der Zelle gerichteter 120—150 Å breiter Fibrillen, bei denen es sich um Primärfibrillen handeln dürfte (GIESEKING, 1966), weisen auf eine gesteigerte Kollagenfasersynthese hin (Abb. 5 c).

Die *Epithelzellen* der *Ausführungsgänge* haben eine zylindrische Gestalt bewahrt, während ihr Cytoplasma einige Abweichungen vom normalen Bild aufweist (Abb. 6 b). An ihrer luminalen Oberfläche befinden sich ausgedehnte Cytoplasmaprotrusionen, die entweder halbkugelig oder in Form von bizarren, bäumchenartigen Verzweigungen sich in das Ganglumen vorwölben und häufig mikrovilliähnliche, vacuolenförmige Einstülpungen beherbergen. Das Cytoplasma selbst ist durch ausgedehnte transparente Lücken und Spalten, die z. T. erweiterte Hohlräume des endoplasmatischen Reticulums darstellen, aber auch ohne Membranbegrenzung sind, aufgelockert. Die Mitochondrien erscheinen angeschwollen, ihre Matrix zeigt fleckförmige Aufhellungen, wobei ihre Randbezirke verdichtet sind und reichlich Cristae mitochondriales enthalten. Besonders im circumnukleären Cytoplasma befinden sich reichlich Bündel feiner Fibrillen. In geringer Anzahl treten auch Cytosomen auf, die sich von denen der hellen Zellen vor allem durch ihre stärkere Elektronendichte und homogene Matrix unterscheiden.

Abb. 5. a Basis eines Acinus einer normalen Mamma. Arch.-Nr. 1128/68, EM-Vergr. 12000 ×, Abb. 25000 ×. b Basis eines Acinus bei I.C. Arch.-Nr. 1831/67, EM-Vergr. 7000 ×, Abb. 18200 ×. c Aktiver Fibroblast (*Fb*) an der Basis eines Acinus bei I.C. mit einem filzartigen Belag von Primärfibrillen. Arch.-Nr. 1820/67, EM-Vergr. 5200 ×, Abb. 16100 ×.

Myoepithelzelle (*MEZ*), Lamina densa der Basalmembran (Pfeil), Mantelgewebe (*M*)

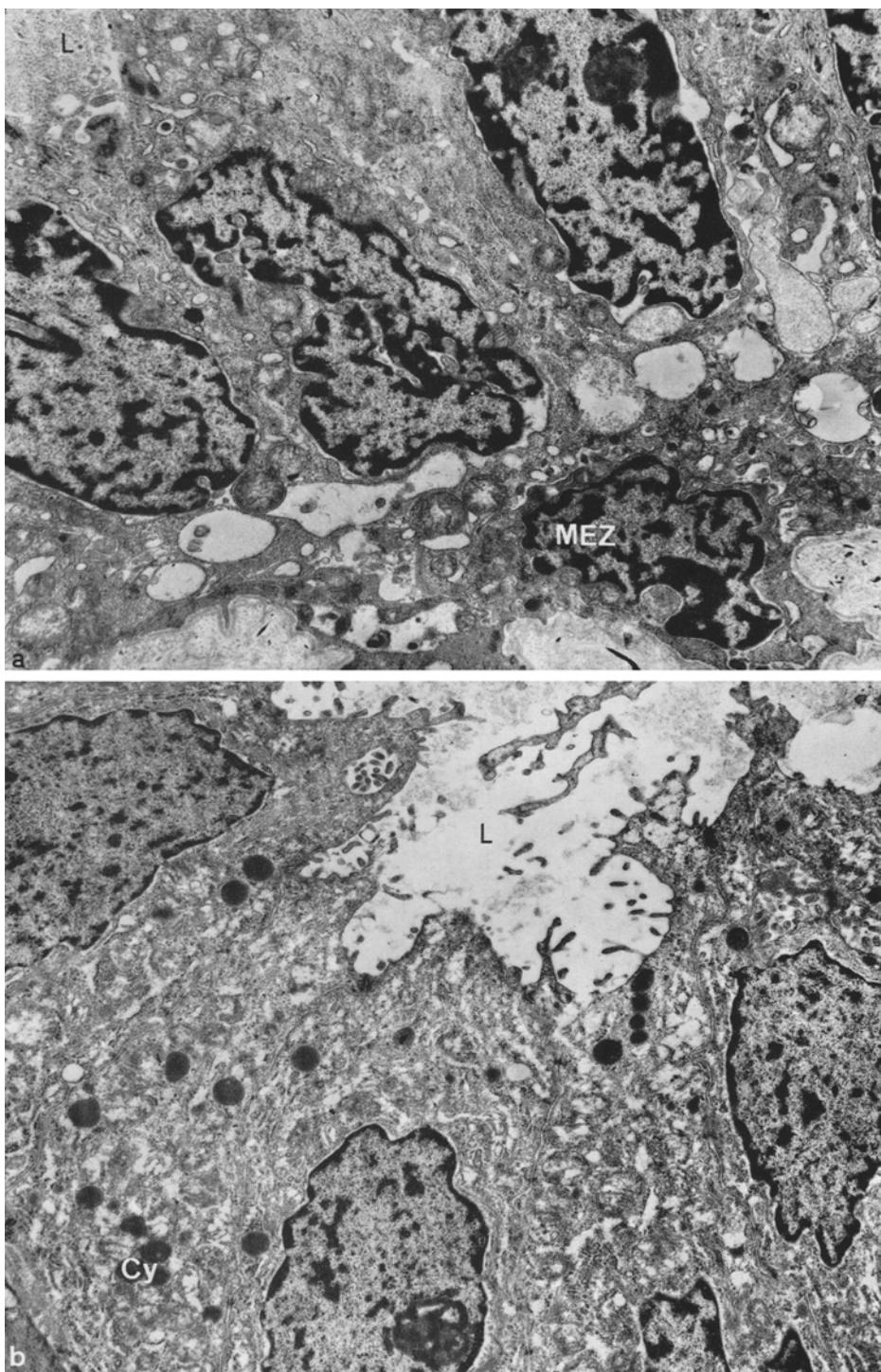


Abb. 6 a u. b

Sowohl in den Ausführungsgängen als auch in den multiplen Lumina der Drüsenläppchen sind amorphe feingranuläre Präcipitate und Teile aufgelöster Zellen vorhanden, die der lichtmikroskopisch wahrnehmbaren PAS-positiven Reaktion des Lumeninhaltes entsprechen. Dieser entsteht vermutlich aus der aktiven Sekretionsleistung einzelner Epithelzellen und aus der Destruktion desquamierter Zellen, wobei sich auch die apikalen Fortsätze z. T. ab- und auflösen scheinen.

Besprechung der Befunde

Bisherige Untersuchungen am Epithel der Brustdrüse des Menschen, an Dysplasien und Geschwülsten haben zu einer Unterscheidung mehrerer Zelltypen geführt, die durch Besonderheiten ihrer Form, Topik, Funktion und Feinstruktur gekennzeichnet sind:

1. Als sog. *A-Zelle* wird nach HAGUENAU und ARNOULT (1959) eine ribosomenreiche, basal oder intermediär im Zellverband lokalisierte polymorphe Zelle verstanden, deren Kern chromatinreich und gelappt ist. Der Basophilie des Cytoplasmas entspricht nach CASPERSSON (1950) die eiweißsynthetisierende Aktivität.

2. Die *helle B-Zelle* oder die quantitativ überwiegende *Hauptzelle* ist prismatisch, enthält gleichmäßig verteilt Ribosomen in lockerer Verteilung, so daß das Grundplasma transparent bleibt. Zellmembranen sind glatt oder teilweise verzahnt und besitzen Desmosomen.

3. *Myoepithelzellen* bilden der Basalmembran aufliegend bandförmige Zellkörper mit dichten Filamentbündeln, die den circumnucleären Raum aussparen und an der Basalmembran mit Hemidesmosomen inserieren.

Zu diesen in Acini und kleinen Milchgängen regelmäßig anzutreffenden Formen sind oberflächlich lokalisierte, sog. *Superfizialzellen* zu zählen, die optisch dunkel erscheinen, einen pyknotischen Kern besitzen und häufig von Nachbarzellen komprimiert werden und an das Drüsenlumen gelangen. Das ribosomenreiche Cytoplasma enthält Lücken und Spalträume, aufgequollene Mitochondrien, Cytosomen und Filamente. Die unterschiedlich ausgeprägten Metamorphosen der Zellstrukturen sind als Ausdruck einer Zellmauserung zu verstehen, wobei die Häufigkeit dieser aus dem Verbande sich lösender Superfizialzellen die Intensität des Zellersatzes anzeigt. Hierfür sprechen die Befunde bei Gynäkomastie (BÄSSLER und SCHÄFER, 1968).

Weitere Epithelzelltypen sind von TOKER (1967 a und b) bei Morbus Paget und im Gangepithel der Mamma während der Schwangerschaft mitgeteilt worden.

Dieser Deskription und cytomorphologischen Analyse ist die Dynamik des Zellersatzes gegenüberzustellen, wodurch sich insbesondere bei pathologisch gesteigerter Proliferation die Vielzahl gradueller Unterschiede und Grenzformen der beschriebenen Typen erklären läßt. Das betrifft vor allem den Ribosomen-

Abb. 6. a Epithelzellen eines Ganges der normalen Mamma. Lumen (*L*), Myoepithelzelle (*MEZ*). Arch.-Nr. 1163/67, EM-Vergr. 5200 \times , Abb. 9300 \times . b Epithelzellen eines Ganges bei I.C. mit bizarren bäumchenartigen Vorwölbungen in das Ganglumen (*L*). Cytosomen (*Cy*). Arch.-Nr. 1646/67, EM-Vergr. 3400 \times , Abb. 19200 \times

19 b Virchows Arch. Abt. A Path. Anat., Bd. 346

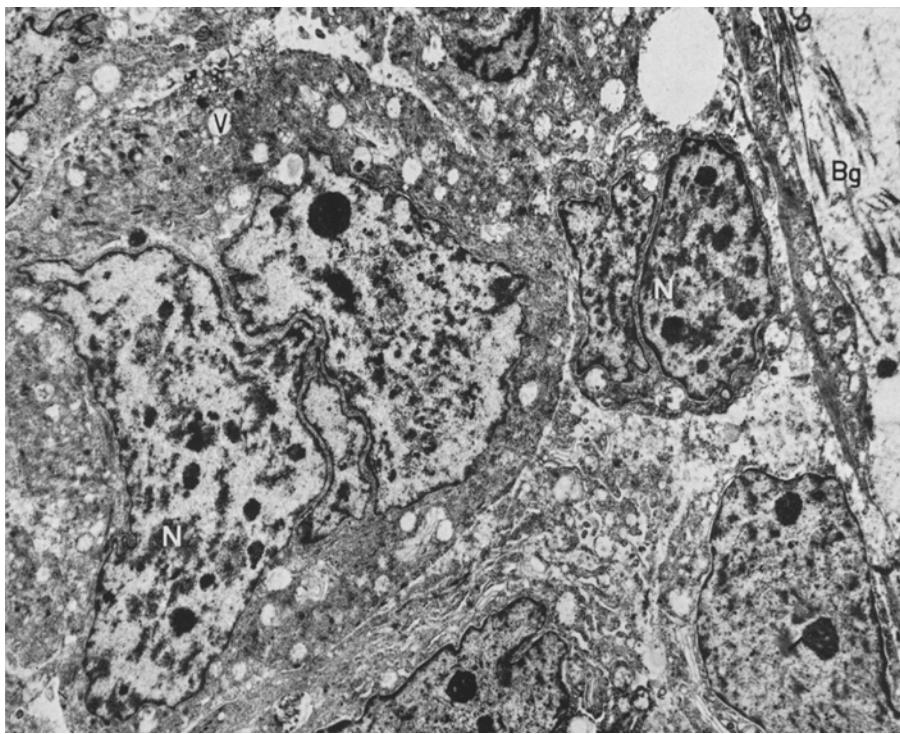


Abb. 7. Zellen aus einem Tumorzapfen eines scirrhösen Mammacarcinoms. Polymorphe Zellkerne (N). Das Cytoplasma ist angefüllt mit Vesikeln und Vacuolen (V). Bindegewebe (Bg). Arch.-Nr. 1779/67, EM-Vergr. 2800 \times , Abb. 5600 \times

gehalt, Mitochondrien und fibrilläre Differenzierungsprodukte, so daß aus dieser Sicht morphologische Unterschiede um so weniger hervortreten werden, je intensiver die Zellerneuerung wird. Der elektronenmikroskopische Vergleich zwischen dem Epithel eines „normalen“ Drüsencinus, dem I.C. mit geringgradiger Proliferationstendenz und einem scirrhösen Carcinom macht dieses Verhalten deutlich (Abb. 7).

Die bei dem I.C. proliferierten isomorphen Epithelzellen, die die Drüsennäppchen vollkommen ausfüllen, besitzen lichtmikroskopisch ein helles transparentes Cytoplasma und entsprechen elektronenoptisch in ihrer Vielzahl dem hellen B-Zellen-Typ mit einem variablen Ribosomengehalt. Die dunklen A-Zellen liegen zumeist solitär an der Basis des Zellverbandes und haben ebenso wenig wie die abgeflachten Myoepithelien an dem Proliferationsprozeß teilgenommen. Damit ist das I.C. als *ein Tumor der B-Zellen aufzufassen*, wobei die geringe Proliferationsintensität der an natürliche Näppchengrenzen gebundenen Geschwulst eine Identifizierung des Zelltyps weitgehend ermöglicht.

Die in Restlichtungen auftretenden Epithelknospen und -brücken ähneln den Epithelproliferationen bei Gynäkomastie (BÄSSLER und SCHÄFER, 1968). Die

Zellen liegen im Verband und lassen Grade regressiver Alterationen des Cytoplasmas erkennen. Topik und morphologische Übergänge zeigen an, daß es sich auch hierbei um B-Zell-Formen handelt.

Die proliferierten Zellen im I.C. weisen im Vergleich zu normalen Epithelzellen Besonderheiten ihrer Feinstruktur auf. Ihr Cytoplasma beherbergt ein wenig differenzierteres Inventar, wobei die Anzahl der regulären Zellorganellen vermindert ist (SCHULZ, 1957; FÄSSKE und THEMANN, 1960) und in Form von fibrillären Strukturen und einer großen Zahl von Cytosomen neue, atypische Differenzierungsprodukte auftreten. Auf Grund eines Vergleichs zwischen sklerosierender Adenose und infiltrierendem Carcinom sehen WELLINGS und ROBERTS (1963) die intracytoplasmatischen Fibrillen als Charakteristicum für viele Carcinomzellen an. Desgleichen fand BERGER (1964) intracytoplasmatische Filamente nur in Carcinomzellen, nicht aber in Epithelzellen bei fibrös-cystischer Mastopathie. HAGUENAU und ARNOULT (1959), sowie BARTON (1964) beschrieben intracytoplasmatische Filamente sowohl in Epithelzellen der normalen Mamma als auch in Carcinomzellen, während wir selbst sie nicht in normalen Zellen, wohl aber außer dem I.C. auch beim scirrhösen Carcinom der Mamma (SCHÄFER, 1967) und bei der Gynäkomastie (BÄSSLER und SCHÄFER, 1968) beobachten konnten. Offensichtlich bleibt unter physiologischen Bedingungen die Fibrillogenese auf die basale Zellschicht, die Myoepithelzellen beschränkt, während sie unter dem Einfluß eines anhaltenden Proliferationsreizes auch auf diejenigen Epithelzellen übergreift, die im ruhenden Acinus keine Fibrillen erzeugen. Diese Befunde sprechen für die Auffassung, daß *allen* Epithelzellen der Milchdrüse die Potenz der Faserbildung innenwohnt und nur unter bestimmten pathologischen Bedingungen realisiert werden kann (BÄSSLER, 1968).

Die als Cytosomen (DAVID, 1964) bezeichneten Zelleinschlüsse stellen eine inhomogene Gruppe von Zellorganellen dar, denen die ovale Gestalt und elektroendichte Matrix gemeinsam ist. Diejenigen unter ihnen, deren Matrix fein granuliert ist, ähneln am meisten den als *Microbodies* beschriebenen Zellorganellen (RHODIN, 1954; ROUILLER und BERNHARD, 1956). Sie sind in auffallend großer Zahl in den proliferierenden Zellen der Epithelbrücken, in kleinerem Umfange auch in den übrigen hellen und in den dunklen Zellen vorhanden und zeigen somit ein umgekehrtes Verhalten wie die Mitochondrien, die in den proliferierenden Zellen zu fehlen scheinen. Diese Befunde lassen sich den Ergebnissen bisheriger Untersuchungen zuordnen, wonach Microbodies besonders reichlich bei regenerativen und entzündlichen Vorgängen, bei der Cancerisierung und im Embryonalgewebe zu finden sind (TUJIMURA, 1958a, b und c; WEISSENFELS, 1958; BASSI, 1960; CLEMENTI, 1960; MAN, 1960; SHERIDAN, 1960; BEACROFT, 1961) und wonach ein Übergang dieser Zellorganellen in Mitochondrien möglich ist (ROUILLER und BERNHARD, 1956; MÖLBERT, 1957).

Zur Gruppe der *Lysosomen* (DE DUVE, 1957) gehörig möchten wir diejenigen Cytosomen betrachten, die eine Homogenisierung und Verdichtung ihrer Matrix oder vacuolare Aufhellungen erkennen lassen. Sehr ähnliche Zelleinschlüsse wurden von WAUGH und VAN DER HOEVEN (1962) bei einer Reihe von Dysplasien der Mamma (lobuläre Hyperplasie, cystische Mastopathie und Fibroadenom) ge-

funden, nicht aber in der Brustdrüse während der Schwangerschaft. Auch in infiltrativ wachsenden Zellen des scirrhösen Carcinoms der Brustdrüse kann man sehr reichlich lysosomenähnliche Cytoplasmaeinschlüsse beobachten (SCHÄFER, 1967).

Die Beziehungen der proliferierten Epithelzellen zur *Läppchenbasis* werden durch das Verhalten der basal lokalisierten Zellen bestimmt: Diese Zellformen scheinen nicht an der Proliferation teilzunehmen und vor allem die Myoepithelzellen weisen keinerlei von der Norm abweichende Besonderheiten auf. Hervorzuheben sind Alterationen der *Basalmembran*, die bei dem I.C. im Vergleich zum normalen Acinus um ein Vielfaches an Breite zugenommen hat und als breites Band von feingranulärer und -fibrillärer Struktur die Drüsengläppchen umgibt. Das circumlobuläre Bindegewebe ist durch dichte Flechtwerke retikulärer und kollagener Fibrillen ausgezeichnet und enthält überdies aktivierte Fibroblasten. Die Gesamtheit dieser Reaktionen des Mantelgewebes (BERKA, 1911) weist auf die Beteiligung des Mesenchyms bei Proliferationen im Lobulus oder Gangsystem hin.

Fräulein S. WALTER, leitende techn. Assistentin im elektronenmikroskopischen Laboratorium, sei für elektronenmikroskopische Präparationen und Photoarbeiten vielmals gedankt.

Literatur

- BARTON, A. A.: An electron microscope study of human breast cells in fibroadenosis and carcinoma. Brit. J. Cancer **18**, 682—685 (1964).
- BÄSSLER, R.: Das sog. lobuläre Karzinom der Mamma. Dtsch. med. Wschr. (1969) (im Druck).
- , Neuere Aspekte der normalen und pathologischen Feinstruktur der Mamma. Hippocrates **39**, 237—244 (1968).
- , u. A. SCHÄFER: Elektronenmikroskopische und experimentelle Untersuchungen zur Morphologie der Gynäkomastie. Verh. dtsch. Ges. Path. (1968) (im Druck).
- — u. S. PAEK: Elektronenmikroskopische und histochemische Untersuchungen zur Morphologie und Funktion myoepithelialer Zellen. Verh. dtsch. Ges. Path. **51**, 301—307 (1967).
- BASSI, M.: Electron microscopy of rat liver after carbon tetrachloride poisoning. Exp. Cell Res. **20**, 313—323 (1960).
- BEACROFT, W. G. C.: The liver in infective hepatitis. Nature (Lond.) **190**, 549—550 (1961).
- BENFIELD, J. R., M. JACOBSON, and N. E. WARNER: In situ lobular carcinoma of the breast. Arch. Surg. **91**, 130—135 (1965).
- BERGER, H.: Beitrag zur elektronenoptischen Zelldifferenzierung des soliden Mammacarcinoms und der Mastopathia cystica des Menschen. Z. Krebsforsch. **66**, 73—86 (1964).
- BERKA, F.: Die Brustdrüse verschiedener Altersstufen und während der Schwangerschaft. Frankfurt. Z. Path. **8**, 203 (1911).
- CASPERSSON, T.: Cell growth and cell function. New York 1945.
- CLEMENTI, F.: Variazioni biochimiche e ultrastrutturali epatiche durante carenza proteica. Atti Accad. med. lombarda **15**, 405—421 (1960).
- DAVID, H.: Submikroskopische Ortho- und Pathomorphologie der Leber. Berlin 1964.
- DUVE, C. DE: Les lysosomes: un nouveau groupe de granules cytoplasmiques. J. Physiol. (Paris) **49**, 113—114 (1957).
- FASSKE, E., u. H. THEMANN: Die elektronenmikroskopische Struktur menschlicher Carcinome. Beitr. path. Anat. **122**, 313—344 (1960).

- FOOTE, F. W., and F. W. STEWART: Lobular carcinoma in situ. A rare form of mammary cancer. Amer. J. Path. **17**, 491—496 (1941).
- GESCHICKTER, C. F.: Diseases of the breast, 2nd ed., Philadelphia-London-Montreal 1948.
- GIESEKING, R.: Mesenchymale Gewebe und ihre Reaktionsformen im elektronenoptischen Bild. Stuttgart 1966.
- GODWIN, J. T.: Chronology of lobular carcinoma of the breast. Cancer (Philad.) **5**, 259—266 (1952).
- HAAGENSEN, C. D.: Lobular carcinoma of the breast. Clin. Obstet. Gynec. **5**, 1093—1110 (1962).
- HAGUENAU, F.: Le cancer mammaire de la souris et de la femme étude comparative au microscope électronique. Path. et Biol. **7**, 989—1015 (1959).
- , et J. ARNOULT: Le cancer du sein chez la femme. Bull. franç. Cancer. **46**, 177—211 (1959).
- LANGER, E., u. S. HUHN: Der submikroskopische Bau der Myoepithelzelle. Z. Zellforsch. **47**, 507—516 (1958).
- LEWINSON, E. F.: Lobular carcinoma in situ of the breast: The feminine mystique. Milit. Med. **129**, 115—123 (1964).
- MAN, J. C. H. DE: Observations with the aid of the electron microscope on the mitochondrial structure of experimental liver tumors in the rat. J. nat. Cancer Inst. **24**, 795—819 (1960).
- MCDRIVITT, R. W., R. V. P. HUTTER, F. W. FOOTE, and F. W. STEWART: In situ lobular carcinoma. J. Amer. med. Ass. **201**, 82—86 (1967).
- MÖLBERT, E.: Das elektronenmikroskopische Bild der Leberparenchymzelle nach histotoxischer Hypoxidose. Beitr. path. Anat. **118**, 203—227 (1957).
- NAZARI, A., L. BENITEZ, S. ROBBINS, and J. J. BYRNE: In situ lobular cancer of the breast. Int. Surg. **47**, 140—143 (1967).
- NEWMAN, W.: In situ lobular carcinoma of the breast: Report of 26 women with 32 cancers. Ann. Surg. **157**, 591—599 (1963).
- Lobular carcinoma of the female breast. Ann. Surg. **164**, 305—314 (1966).
- RHODIN, J.: Correlation of ultrastructural organization and function in normal and experimentally controlled changes of proximal convoluted tubule cells of mouse kidney. Dissertation Karolinska Institute Stockholm 1954.
- ROUILLER, C., and W. BERNHARD: "Microbodies" and the problem of mitochondrial regeneration in liver cells. J. biophys. biochem. Cytol. **2**, Suppl., 355—360 (1956).
- SCHÄFER, A.: Zur Feinstruktur des nicht-infiltrierenden Milchgang-Karzinoms. Zbl. allg. Path. path. Anat. (1968) (im Druck).
- SCHULZ, H.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen eines Mammacarcinoms der Ratte. Oncologia (Basel) **10**, 307—329 (1957).
- SHERIDAN, M.: Fine structural changes seen in the liver of scorbutic and partially starved guinea pigs. Anat. Rec. **136**, 276 (1960).
- TAKAHASHI, N.: Electron microscopic studies on the ectodermal secretory glands in man. II. The fine structures of the myoepithelium in the human mammary and salivary glands. Bull. Tokyo med. dent. Univ. **5**, 177—192 (1958).
- TOKER, C.: Observations on the ultrastructure of a mammary ductule. J. Ultrastruct. Res. **21**, 9—25 (1967).
- Further observations on Paget's disease of the nipple. J. nat. Cancer Inst. **38**, 79—92 (1967).
- TUJIMURA, H.: Electron microscopic studies on the D.A.B. (p-dimethylaminoazobenzene) induced hepatoma. I. Fine structure of rat liver cells. Med. J. Osaka Univ. **9**, 115—133 (1958a).

- TUJIMURA, H.: Electron microscopic studies on the D.A.B. (p-dimethylaminoazobenzene) induced hepatoma. II. Fine structure of rat liver cells in the course of development of D.A.B. induced hepatoma. Med. J. Osaka Univ. **9**, 135—145 (1958b).
- Electron microscopic studies on the D.A.B. (p-dimethylaminoazobenzene) induced hepatoma. III. Fine structure of the hepatoma cells. Med. J. Osaka Univ. **9**, 147—162 (1958c).
- WAUGH, D., and E. VAN DER HOEVEN: Fine structure of the human adult female breast. Lab. Invest. **11**, 220—228 (1962).
- WEISSENFELS, N.: Über die Entstehung der Promitochondrien und ihre Entwicklung zu funktionstüchtigen Mitochondrien in den Zellen von Embryonal- und Tumorgewebe. Z. Naturforsch. **13b**, 203—205 (1958).
- WELLINGS, S. R., and R. ROBERTS: Electron microscopy of sclerosing adenosis and infiltrating duct carcinoma of the human mammary gland. J. nat. Cancer Inst. **30**, 269—287 (1963).

Dr. A. SCHÄFER
Priv.-Doz. Dr. R. BÄSSLER
Pathologisches Institut der Johannes Gutenberg-Universität
65 Mainz, Langenbeckstr. 1