

Ein Beitrag zu den bei Transplantattumoren beobachteten Immunitäts- resp. Resistenzerscheinungen.

Von

Gerhard Domagk und Christian Hackmann, Wuppertal-Elberfeld.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 16. Mai 1935.)

Jensen beobachtete als erster beim Mäusecarcinom, daß ein Teil der geimpften Mäuse eine angeborene Immunität gegen Transplantation dieses Tumors zeigte. Ferner konnte *Jensen* feststellen, daß Tiere, bei denen ein Tumortransplantat nicht angegangen war, sich auch gegen weitere Tumortransplantationen als resistent erwiesen. Später gelang *Michaelis* die Feststellung, daß die erwähnte Immunität nicht allein individuell bedingt war, sondern auch durch die Rasse bedingt sein kann; z. B. zeigte sich, daß ein auf Berliner Mäuse gut transplantabler Tumor bei dänischen Mäusen nur in einem geringen Prozentsatz anging. Ein Mäusetumor, der sich auf Ratten überimpfen ließ und bei diesen eine Zeitlang wuchs, zeigte nach *Ehrlichs* Beobachtungen ein völliges Ausbleiben des Tumorstadiums, wenn man versuchte, diesen Tumor auf solche Ratten zu transplantieren, in denen vorher ein Mäusetumor wohl vorübergehend angegangen, aber dann spontan resorbiert worden war. *Ehrlich* und *Apolant* gelang auch der Nachweis, daß nach Impfung mit einem schwach virulenten Tumorstamm, der in der Regel bei Verimpfung nicht zum Anwachsen eines Tumors führte, die darauf folgende Impfung mit einem virulenten Tumorstamm, der in der Regel bei allen nicht vorbehandelten Tieren anwuchs, ebenfalls in einem hohen Prozentsatz negativ ausfiel. Diese Beobachtungen sind später von anderen Autoren bestätigt und erweitert worden; so sahen *Bashford* und *Russell* z. B. an ihrem Mäuse-Mammacarcinom Nr. 199, daß eine zweite Impfung mit diesem Stamm 10 Tage nach der ersten Impfung nicht anging, wenn der zuerst eingeimpfte Tumor sich in Rückbildung befand. Hingegen trat ein um so rascheres Wachstum bei der zweiten Transplantation ein, wenn auch der erste Tumor gut angewachsen war.

Versuche von *Uhlenhuth*, *Haendel* und *Steffenhagen* ergaben, daß bei Ratten nach operativer Entfernung des Tumors resp. Einschmelzung desselben durch Pyocyanase Schutz gegen eine nachfolgende Transplantation eintrat. *Ebeling* konnte analoge Befunde bei Mäusen erheben. *Caspari* beobachtete in seinen Versuchen bei einem Teil der Tiere Vollimmunität, gleichzeitig wies er auch als erster auf eine zeitweise zu beobachtende Teilimmunität hin, bei den durch eine Vorbehandlung mit Tumormaterial teilweise immun gewordenen Tieren blieb zwar das

Wachstum des Transplantats nicht ganz aus, aber die Transplantate zeigten eine Wachstumshemmung, so daß die Tumoren kleiner blieben oder frühzeitig nekrotisierten oder wenigstens im Anfang des Versuches gegenüber den Transplantaten bei Kontrolltieren im Wachstum zurückblieben. *Caspari*, *Bashford* und *Bridré* vertraten auf Grund ihrer Beobachtungen die Ansicht, daß das Vorhandensein von nekrotischem Gewebe bei der Transplantation die Tumorentwicklung ungünstig beeinflusst. Auf Grund dieser Ansichten ging man in den angelsächsischen Ländern von der Überimpfung der Tumoren durch Brei ab und führte wie auch heute noch hauptsächlich die Überimpfung durch Stückchentransplantation aus. Daß eine Immunität gegen Transplantattumoren mit zellhaltigem Tumormaterial zu erzielen ist, wird von den meisten Autoren, die sich mit diesen Fragen beschäftigt haben, anerkannt. Nur *Nather* und *Schnitzler* nahmen einen anderen Standpunkt ein.

Die Bedeutung eines spezifischen Faktors bei der Geschwulstimmunität glaubte man später hauptsächlich deshalb ablehnen zu können, weil es gelang, eine gewisse Resistenz gegen Transplantattumoren auch mit anderen Geweben als Tumoren zu erzeugen. Man verwendete als Antigen nicht nur Geschwulstzellen, sondern Blut (*Bashford*), Embryonen (*Schoene*), Leberzellen (*Michaelis*), Milz (*Bridré*, *Borrel*) u. a. m.

Wichtig und unerläßlich schien jedoch bei allen diesen Versuchen zu sein, daß lebende Zellen zur Vorbehandlung verwendet wurden, denn mit zellfreiem Blutserum beispielsweise gelang es nicht, eine Geschwulstimmunität zu erzeugen.

Auch sollte es nur gelingen, mit homologem Gewebe eine Resistenz zu erzeugen, da es nicht möglich war, Ratten mit Kaninchen-Sarkomen und Kaninchen mit Ratten-Sarkomen zu immunisieren. *Caspari* und *Lewin* konnten aber später auch mit heterologem Tumormaterial gewisse Immunitätsreaktionen auslösen. Auch auf Grund unserer eigenen Versuche glauben wir, daß es möglich ist, bisweilen mit heterologem Geschwulstmaterial gewisse Resistenzerscheinungen auszulösen, wenn auch nicht in demselben Ausmaß wie mit homologem Tumormaterial.

Von homologen Geweben erwies sich embryonale Haut als am wirksamsten. *Bashford* vertrat die Ansicht, daß praktisch alle Gewebe immunisieren. Auch *Uhlenhuth* und *Seiffert* vertraten einen ähnlichen Standpunkt. Nach *Uhlenhuth* und *Seiffert* wirkt das parenteral zugeführte Zellmaterial um so stärker, je größer die Vitalität des Gewebes ist. Gewebe, die wie Hoden und Leber nach der Transplantation rasch zerstört würden, sollten schlechte Effekte geben. *Itami* untersuchte die Verwendbarkeit der verschiedenen Keimblätter und stellte fest, daß die Gewebe aller 3 Keimblätter imstande waren, zu immunisieren. Von ektodermalen Geweben war nach den Versuchen *Itamis* Mammagewebe

sowie embryonale Haut wirksam, unwirksam hingegen Linse und Gehirn. Von mesodermalen Geweben waren zur Immunisierung brauchbar: Blut, Nieren, Hoden, Herz, Lymphknoten und Thymus, unbrauchbar hingegen Knochen, Knorpel und Skelet- und Uterusmuskulatur. Vom Entoderm erwies sich Leber und Lunge als wirksam, Thyreoida hingegen als unwirksam. *Kamekura* gelang es nicht, mit Lunge, Herz, Leber, Milz, Niere, Nebenniere, Ovarien, Placenta, reifer Mäusehaut, sowie mit Uterus und Ovarien gravider Mäuse zu immunisieren, ihm gelang die Immunisierung nur mit Embryonen.

Woglom vertrat in seiner 1929 gegebenen Übersicht über die Immunität bei Tumoren die Ansicht, daß eine Verallgemeinerung der bis dahin erzielten und zum Teil recht widersprechenden Ergebnisse unmöglich ist. Der einzige gerechtfertigte Schluß aus einem Versuch sei, daß nur das in einem bestimmten Versuch verwendete Material bei der angegebenen Tierart und bei dem angegebenen Tumor die angegebene Wirkung gezeigt habe. Er führt als Beispiel an, daß in seinen Versuchen zeitweise selbst große Dosen embryonaler Haut keine Immunität gegen den *Flexner-Toblingschen* Tumor hervorriefen, obwohl es zu anderen Zeiten leicht gewesen sei, durch Vorbehandlung mit Haut eine Immunität gegen diesen Tumor zu erzeugen. Als Hauptergebnis bleibt seinem Urteil nach nur die Tatsache bestehen, daß Gewebe überhaupt nur dann Immunität erzeugen, wenn sie leben. *Sachs* vertritt die Ansicht, daß für die Annahme spezifischer Immunitätsreaktionen gegen Geschwülste rationelle Unterlagen fehlten. Er rät deshalb, besser nicht von Immunität, sondern von Resistenz zu sprechen. Obwohl auch *Bashford* der Ansicht ist, daß eine gewisse Immunisierung mit vielen Geweben in mehr oder weniger hohem Grade möglich ist, glaubt er andererseits aber doch, daß es einen Grad der Immunität gibt, der spezifisch ist, wenn auch nicht für jeden Tumorstamm, so doch jedenfalls für Tumorgruppen.

Die Theorie *Ehrlichs* von der sog. atreptischen Immunität war unhaltbar, sie wurde schon durch die Versuchsergebnisse von *Uhlenhuth*, *Haendel* und *Steffenhagen*, sowie die erwähnten Versuche von *Bashford* und *Russell* widerlegt.

Bisher konnte der wirksame Faktor von den lebenden Zellen nicht getrennt werden. Die Ansicht, daß nur lebendes Zellmaterial zur Erzielung einer Resistenz geeignet ist, gründet sich auf zahlreiche Beobachtungen. *Rous* und *Murphy* gelang es nicht, eine Tumoresistenz zu erzeugen durch Injizieren von getrocknetem *Rous*-Tumor, indem man versucht hatte, das Agens durch Hitze abzutöten. Auch *Bürgers* Versuche, mit erhitztem *Rous*-Tumor einen Effekt zu erzielen, waren erfolglos. *Lepper* versuchte vergeblich, mit einem Rattensarkom zu immunisieren, das lange erhitzt worden war, um die Zellen abzutöten.

Auch *Rondoni* hat beobachtet, daß erhitztes Tumormaterial nicht mehr immunisiert. Nach Angaben *Haalands* gelang es auch durch Gefrieren die Eignung des Tumorgewebes für eine aktive Immunisierung zu zerstören, *Graff* und *Ranzi* waren nicht imstande, mit einer carbolversetzten Tumoremulsion Erfolge zu erzielen. *Sugiura* und *Benedict* konnten nur durch Vorbehandlung mit lebenden Zellen des *Flexner-Joblingschen* Tumors eine deutliche Wirkung erreichen. Die Wirkung ging verloren, wenn sie die Tumorzellen mit Hitze, Kälte, Antiserum, Äther, destilliertem Wasser und anderen Agentien in der Weise abschwächten, daß sie nicht mehr anwuchsen.

Nach fast allen vorliegenden Untersuchungen soll die Erzeugung einer Immunität resp. Resistenz von der Verwendung lebender Zellen abhängig sein. Nur *Caspari* wies auch den absterbenden Tumorzellen eine immunisierende Fähigkeit zu, *Caspari* verwendete mit einem gewissen Erfolg zur Immunisierung auch noch nekrotisches Tumormaterial, das Temperaturen von 56—59° ausgesetzt worden war, um alle Zellen abzutöten. Die mit diesem Material zu erzeugende Immunität soll allerdings geringer gewesen sein als mit Material, das im Körper selbst nekrotisch geworden war. Durch Kochen hingegen wird auch nach *Caspari* das Tumormaterial für die Immunisierung unbrauchbar. *Clowes* sowie *Caspari* versuchten ebenfalls vergeblich, durch Chemikalien die Tumorzellen so zu schädigen, daß sie nicht mehr angingen, aber noch immunisierten.

Bei Verwendung von nicht sicher abgetöteten, sondern nur im Körper nekrotisch gewordenem Material muß der Einwand bestehen bleiben, daß in dem nekrotischen Material doch auch noch lebende Zellen vorhanden gewesen sein könnten.

Zusammenfassend ergibt sich also, daß durch Kochen, Erhitzen und zahlreiche andere Eingriffe der immunisierende Effekt der sonst zur Immunisierung brauchbaren Gewebe verloren ging.

Auch alle Versuche, mit zellfreiem Tumormaterial resp. Gewebsautolysat zu immunisieren, versagten.

Morpurgo bemühte sich vergeblich, mit dem Autolysat eines Mäusetumors gegen den Tumor, aus dem das Autolysat hergestellt war, zu immunisieren, ebenso *Nather* und andere. *Pitzmann* erzielte mit autolysierter Milz keinen Erfolg. Tumoren, die mit Formalin zum Zwecke der Abtötung der Tumorzellen versetzt worden waren resp. in ihrer Virulenz durch Glycerin geschwächt worden waren, versagten nach den Ergebnissen *Salmons*, der einen schwachen Effekt nur mit einer wässrigen Tumoremulsion sah.

Zu ganz ähnlichen Ergebnissen führten auch die am Menschen gemachten Beobachtungen. Eine aktive Immunisierung gegen maligne Tumoren war bereits im Jahre 1912 von *Leyden* und *Blumenthal* ver-

sucht worden. Sie zerkleinerten Geschwülste und stellten daraus eine zellhaltige Flüssigkeit her, die sie Patienten injizierten. Auch *Dungern*, *Bertrand*, *Delbet*, *Coca*, *Gillmann* und andere versuchten diese Methode, jedoch wurde die Immunisierung mit zellhaltigem Material später verlassen wegen der Gefahr der Entstehung eines neuen Tumors aus den implantierten Zellen, die tatsächlich bisweilen beobachtet wurde, obwohl bei *Kurtzahn* die Impfung eines Mammatumors im Selbstversuch nicht anging. Aber schon *Lewin* wies mit Recht darauf hin, daß dieser eine heroische Selbstversuch nicht allzuviel aussagt, denn auch die meisten Spontantumoren bei Tieren sind nicht transplantabel. Ebenso werden auch beim Menschen wahrscheinlich nur relativ wenige Carcinome eine solche Virulenz besitzen, daß sie transplantabel sind. Von der Verwendung zellhaltigen Tumormaterials zur Impfung mußte man trotzdem selbstverständlich wegen der bestehenden Gefahr der Neuentwicklung einer Geschwulst an der Impfstelle Abstand nehmen, obwohl nach den Angaben in der Literatur in einigen Fällen bemerkenswerte, günstige Erfolge erzielt wurden. Ausführlich ist von *Keysser* über die Brauchbarkeit einer Vaccinebehandlung berichtet worden. Nach *Keyssers* Angaben muß eine wirksame Vaccine sämtliche Substanzen einer Geschwulst enthalten, sowohl Zellen, wie das möglichenfalls vorhandene Agens. Die Verwendung von Teilprodukten, wie wässerigen oder alkoholischen Auszügen oder die in Geschwülsten enthaltenen Fermente lehnt er zur Behandlung ab. Wegen der erwähnten Gefahr empfahl *Blumenthal* später auch beim Menschen die Verwendung von Tumorextrakten, die 1—3 Tage der Autolyse bei 39° überlassen worden waren, um alle Zellen abzutöten. Auch *Fichera*, *Lewin*, *Lunckenbein* und andere verwendeten Tumoraulylysate. *Pribus* und *Kloninger* versuchten, die Autolysate durch Pepsin- und Trypsinzusatz zu verbessern. *Courmont* und *Contamin* unterwarfen die Tumoren, die sie autolysieren wollten, zuerst einer Röntgenbestrahlung; *Graff* und *Ranzi* verwendeten carbolisierte Geschwulstextrakte.

Ebenso wie beim Tier versagte auch beim Menschen die Autolysattherapie zum Zweck einer aktiven Immunisierung. Daß die Immunisierung mit Autolysaten zur Erfolglosigkeit verurteilt sein mußte, konnten wir auch in allen unseren eigenen experimentellen Untersuchungen am Tier feststellen, denn weder bei Verwendung von totem Tumormaterial noch mit Autolysaten von Tumorzellen gelang es uns, einen bemerkenswerten Grad einer Immunität im Tier zu erzielen. Hingegen gelang es uns, hohe Grade der Immunität zu erzeugen, wenn wir beispielsweise bei dem *Ehrlichschen* Adenocarcinom lebende Zellen zur Vorbehandlung benutzten, und zwar in geringerer Zahl als zum Anwachsen des Tumors notwendig war. Die Versuchsergebnisse, die über die Immunität resp. Resistenz bei den üblich verwendeten Transplantat-

tumoren erzielt worden waren, wurden zum Teil als gering bewertet mit dem Hinweis, daß die Transplantattumoren eine geringe Virulenz besäßen und selten oder nie Metastasen bildeten. Später gelang es uns aber selbst bei dem stark zu Metastasierung neigenden *Brown-Pearce*-Tumor des Kaninchens, hohe Grade der Immunität zu erzeugen, wenn wir z. B. 4 Wochen vor der Erfolgsimpfung mit Tumorbrei in den Hoden den Tieren ein erbsengroßes Tumorstückchen in den Hodensack einbrachten, das in der Regel resorbiert wird. Bei Tieren, die auf diese Weise immunisiert worden waren, ging nicht nur eine erneute Hodenbreiimpfung nicht an, sondern selbst intravenöse Injektionen von Tumorzellen, die durch allgemeine Carcinose bei Kontrolltieren gewöhnlich schon nach 2—3 Wochen den Tod herbeiführten, blieben bei gut immunisierten Tieren erfolglos. Unsere Versuchsergebnisse stehen im Gegensatz zu den Ergebnissen *Colliers*, der die Möglichkeit einer Immunisierung beim *Brown-Pearce*-Tumor ablehnt.

Aber nicht nur mit zellhaltigem Material gelang uns die Immunisierung gegen Transplantationstumoren, sondern auch mit sicher zellfreien Preßsäften und Extrakten. Es zeigte sich, daß die Art der Herstellung der zur Immunisierung verwendeten Extrakte von ausschlaggebender Bedeutung ist. Aus Arbeiten anderer Autoren wie auch aus unseren eigenen Versuchen geht hervor, daß die immunisierende Wirkung bei Erwärmen, bei längerem Aufbewahren in Zimmertemperatur, aber auch beim Zusatz von fast allen Konservierungsmitteln verloren geht.

Die Tab. I zeigt als Beispiel, wie die aus Tumoren hergestellten Preßsäfte und Extrakten schon bei Zimmertemperatur resp. bei Brutschranktemperatur ihre Wirksamkeit rasch einbüßen.

Nach 24 Stunden Brutschrankaufenthalt ist die Wirksamkeit oft bereits vollkommen verloren gegangen.

Durch diese Versuche war bereits bewiesen, daß alle früheren Immunisierungsversuche, bei denen Extrakten verwendet wurden, die durch mehrtägiges Autolysieren gewonnen waren, ein negatives Ergebnis zeigen mußten. Bei höherer Temperatur als 37° ging die Wirkung noch rascher verloren, durch Kochen wird sie fast momentan zerstört. Auch beim trocknen Erhitzen von schonend hergestellten Tumorpulvern ging die Wirkung verloren.

Diese geringe Haltbarkeit des immunisierenden Faktors hat offenbar zu der — nach unseren Feststellungen unrichtigen — Ansicht geführt, daß eine Immunisierung gegen Transplantattumoren nur mit zellhaltigem lebendem Material möglich sei. Wie die nachstehend wiedergegebenen Versuche zeigen, gelingt es aber ohne weiteres, *zellfreie* wirksame Extrakten zu erhalten, wenn man bei der Herstellung der Extrakte auf die Empfindlichkeit des wirksamen Faktors Rücksicht nimmt.

Tabelle 1. Mäuse-Vorbehandlungsversuch mit Tumorpreßsäften schonend hergestellt bei tiefen Temperaturen.

Vorbehandlung subcutan am: 29. VI. 1931, 1. VII. 1931, 3. VII. 1931, 6. VII. 1931, 8. VII. 1931.

Impfung mit dem *Ehrlichschen* Mäuse-Carcinom am 20. VII. 1931.

Am 20. VIII. waren bei sämtlichen Kontrollen Tumoren von mehr als Haselnuß- bis Walnußgröße gewachsen.

Die behandelten Tiere zeigten am 20. VIII. bei gutem Allgemeinzustand folgende Befunde.

Vorbehandelt mit:

D 2285 I (1 Tag bei 0° aufbewahrt)	D 2285 II (8 Tage bei 3° aufbewahrt)
0,1 ccm negativ	0,1 ccm klein haselnußgroß
0,1 ccm negativ	0,1 ccm vorzeitig †
0,2 ccm negativ	0,2 ccm erbsengroß
0,2 ccm negativ	0,2 ccm klein haselnußgroß
0,3 ccm negativ	0,3 ccm vorzeitig †
0,3 ccm negativ	0,3 ccm negativ
0,5 ccm klein haselnußgroß	0,5 ccm negativ
0,5 ccm fraglich	0,5 ccm negativ
D 2285 IV (8 Tage bei 18° aufbewahrt)	D 2285 V (1 Tag bei 37° aufbewahrt)
0,1 ccm klein haselnußgroß	0,1 ccm knapp klein haselnußgroß
0,1 ccm gut haselnußgroß	0,1 ccm 1 Tier vorzeitig †
0,2 ccm fast doppelt haselnußgroß	0,2 ccm fast haselnußgroß
0,2 ccm vorzeitig †	0,2 ccm gut haselnußgroß
0,3 ccm negativ	0,3 ccm doppelt haselnußgroß
0,3 ccm doppelt haselnußgroß	0,3 ccm doppelt haselnußgroß
0,5 ccm negativ	0,5 ccm walnußgroß
0,5 ccm doppelt haselnußgroß	0,5 ccm walnußgroß

Die Versuche wurden bei einem Mäusecarcinomstamm ausgeführt, welcher nach unseren Beobachtungen, die sich auf eine große Anzahl von Transplantationen beziehen, zu etwa 90—95% angeht. Auch die für die weiteren Versuche verwendeten weißen Mäuse entstammen jeweils der gleichen Zucht und wurden hinsichtlich Fütterung und Wartung vollkommen gleich gehalten. Die Tumortransplantation erfolgte in der Weise, daß 0,4 ccm eines — aus etwa 14—20 Tage alten Tumoren durch Zerreiben mit Ringerlösung steril hergestellten Tumorbreis intramuskulär in die Hinterschlenkel injiziert wurden. Die Tumoren waren gewöhnlich nach 7—8 Tagen erstmalig festzustellen und erreichten gewöhnlich im Durchschnitt nach 14 Tagen eine Größe, die einem Volumen von 0,8—1,0 ccm entspricht. Die Bestimmung des Tumorummens erfolgte in der Regel 14 Tage nach der Transplantation in der Weise, daß die Tumoren beim lebenden Tier mit verschieden großen, kugelförmigen Körpern aus plastischem Material von bekanntem Volumen verglichen wurden. Das Tumorstadium kann so beim lebenden Tier mit einer völlig ausreichenden Genauigkeit laufend verfolgt werden, da die plastischen Körper sich der jeweiligen Form des Tumors angleichen lassen.

Tabelle 2. Ca.-Versuch vom 1. XI. 1930. D. 1653.

I. Impfung.

15 Tiere wurden mit 0,1, 0,2, 0,3, 0,5 und 0,6 cm s.c. behandelt. Die Hälfte der Tiere wird am Tag der 5. Injektion mit dem *Ehrlichschen* Mäusecarcinom intramuskulär geimpft. Tumorstadium nach 8 Tagen gegenüber den Kontrolltieren deutlich gehemmt. Tumoren zeigen jedoch nach 3 Wochen die gleiche Größe wie die Kontrollen. Die zweite Hälfte der Tiere wird 10 Tage nach Abschluß der Vorbehandlung mit Carcinombrei intramuskulär geimpft.

Nr.	Injektion	Tumorstöße					Gewicht in g am:				
		29. XI.	5. XII.	12. XII.	23. XII.	Anfang	29. XI.	5. XII.	12. XII.	23. XII.	
502	5 × 0,1 s.c.	fraglich	fraglich	negativ	klein haselnußgroß	19	20	19	19		
504	5 × 0,2 s.c.	negativ	negativ	negativ	negativ	19	20	20	21		
506	5 × 0,3 s.c.	negativ	negativ	negativ	negativ	20	22	21	20		
508	5 × 0,5 s.c.	fraglich	negativ	negativ	negativ	18	20	18	21		
510	5 × 0,6 s.c.	negativ	negativ	negativ	negativ	17	18	17	18		
512	3 × 0,1 s.c.	negativ	negativ	negativ	negativ	18	19	19	19		
514	3 × 0,2 s.c.	fraglich	gt. kl. has.	kl. haselnußgr.	fast walnußgroß	17	18	16	17		
516	3 × 0,3 s.c.	negativ	negativ	d. hs.	gut walnußgroß	20	19	20	18		
518	3 × 0,5 s.c.	negativ	negativ	negativ	negativ	18	20	19	16		
520	3 × 0,6 s.c.	negativ	negativ	negativ	negativ	20	19	20	20		
522	1 × 0,1 s.c.	negativ	negativ	kl. haselnußgr.	walnußgroß	15	14	15	13		
524	1 × 0,2 s.c.	negativ	Un. kl. has.	fast walnußgr.	gt. waln. † 23. XII.	15	15	15	14		
526	1 × 0,3 s.c.	negativ	negativ	negativ	negativ	17	14	14	12		
528	1 × 0,5 s.c.	negativ	negativ	negativ	negativ	20	20	18	19		
530	1 × 0,6 s.c.	negativ	Un. pl. has.?	negativ	negativ	23	23	22	20		
<i>Kontrollen.</i>											
541	gt. kl. has.	kl. has.	haselnußgroß	haselnußgroß	walnußgroß	14	13	11	12		
542	kl. has.	f. has.	d. has.	d. has.	walnußgroß	21	23	20	18		
543	gt. kl. has.	gt. kl. has.	fast dopp. has.	fast dopp. has.	walnußgroß	22	21	20	19		
544	kl. has.	haselnußgroß	walnußgroß	walnußgroß	gut walnußgroß	16	18	17	17		
545	fraglich	† 30. XI.				14	10				
546	gt. kl. has.	gt. kl. has.	f. dopp. waln.	f. dopp. waln.	† 12. XII.	15	14	12	10		
547	gt. kl. has.	fraglich	gt. kl. has.	gt. kl. has.	gut walnußgroß	17	14	13	13		
548	gt. kl. has.	† 4. XII.				13	13		12		
549	kl. has.	kl. has.	fast haselnußgr.	fast haselnußgr.	mehr als has.	15	16	15	14		
550	gt. kl. has.	fraglich	mehr als has.	mehr als has.	walnußgroß	20	18	16	15		

Bei der 2. Impfung, die 10 Tage nach Abschluß der Vorbehandlung ausgeführt wird, bleiben von 15 Tieren 10 vollkommen tumornegativ, bei den 5 mal vorbehandelten Fällen ist die Wirkung bei allen Tieren deutlich, bei den größeren Dosen vollständig. Es bleiben des Wachstums, bei der kleinsten Dosis Hemmung des Tumorstadiums. Im Gegensatz dazu sind bei den Kontrollen alle Tumoren angegangen. Die Tumoren der am 23. XII. noch lebenden Kontrollen sind mehr haselnußgroß bis walnußgroß. Durch die Vorbehandlung sind die Tiere in ihrem Befinden nicht sichtlich beeinträchtigt worden (vgl. Gewichtstabelle). — Der Versuch beweist die gute Brauchbarkeit von schonend bei tiefen Temperaturen hergestellten Preßsäften zur Immunisierung. Die Preßsäfte wurden unter den früher dargelegten Bedingungen hergestellt. — Ganz entsprechend sichere positive Ergebnisse erhält man mit wäßrigen Extrakten, die unter entsprechenden Bedingungen schonend hergestellt werden, nie aber mit Autolysaten (Abb. 1, S. 200).

Die Herstellung der zur Immunisierung verwendeten Extrakte erfolgte meist in der Weise, daß aus etwa haselnußgroßen Mäusetumoren durch Zerreiben ein wässriger Extrakt im Verhältnis 1:10 hergestellt wurde. Es ist hierbei zweckmäßig, durch Gefrieren und Wiederauftauen der Tumoren eine bessere Aufschließung des Gewebes zu ermöglichen. Durch $\frac{1}{2}$ stündiges Zentrifugieren mit 3000 Touren wurden



Abb. 1. Vorbehandlung mit wäßrigen, zellfrei und keimfrei filtrierten Extrakten aus Mäusetumor.

größere Gewebsetszen entfernt und dann der Extrakt durch Entkeimungsfilter filtriert. Man erhält so wasserklare Filtrate, die frei von Zellen und Keimen sind.

Von dem Filtrat wurden

0,3 ccm weißen Mäusen im Abstand von einigen Tagen subcutan injiziert, und zwar insgesamt 3—4 mal. Die Tiere vertrugen die Injektionen ohne erkennbare Schädigung. Um zu demonstrieren, wie die Gewichte der behandelten Tiere keine stärkeren Schwankungen zeigten als die nicht vorbehandelten Kontrollen, sind in Tab. 2 (S. 199) als Beispiel die Gewichte während eines Versuches wiedergegeben. In diesem Versuch wurden zur Vorbehandlung keine Tumorextrakte, sondern schonend bei tiefen Temperaturen hergestellte Tumorpresse-säfte verwendet.

Das Ergebnis von Immunisierungsversuchen mit zellhaltigen und zellfreien Mäusetumorenextrakten zeigen die Abb. 1 u. 2. Bei dem Versuch Abb. 2 wurden 40 Mäuse in 4 Gruppen zu je 10 Tieren eingeteilt, die erste und letzte Gruppe blieb unbehandelt als Kontrollen, die Tiere

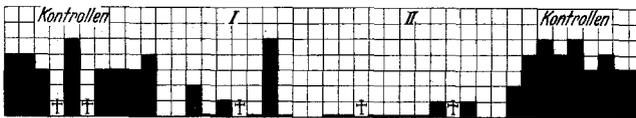


Abb. 2. Vorbehandlung mit wäßrigem Extrakt aus Mäusetumor. I = nichtzellfrei filtriert; II = zellfrei filtriert.

der II. Gruppe wurden mit einem durch ein Papierfilter filtrierten aber *nicht* zellfreien Tumorextrakt in der oben angegebenen Weise vorbehandelt; die III. Gruppe wurde mit zellfreiem Extrakt vorbehandelt. Von den Tieren der I. behandelten Gruppe waren 3, von denen der 2. behandelten Gruppe und den Kontrollen je 1 Tier vor der Transplantation eingegangen. 3 Wochen nach der letzten Injektion wurde allen Tieren Tumorbrei in den rechten Hinterschapel intramuskulär injiziert. Die Abb. 2 zeigt das Ergebnis 14 Tage nach der erfolgten Transplantation.

Das Tumolvolumen ist bei den vorbehandelten Tieren wesentlich geringer im Durchschnitt als bei den Kontrolltieren. Ganz besonders

deutlich ist die immunisierende Wirkung bei den mit zellfreiem Extrakt vorbehandelten Tieren. Diese Erscheinung, daß die zellfreien Extrakte besser wirksam waren als die zellhaltigen, konnte auch bei anderen Versuchsserien noch mehrfach beobachtet werden.

Es hat sich bei zahlreichen, gleichartig durchgeführten Versuchsserien, deren Ergebnisse nicht im einzelnen aufgeführt werden sollen, immer wieder gezeigt, daß eine deutlich immunisierende Wirkung mit zellfreien Tumorextrakten bei der angegebenen Arbeitsweise in jedem Falle zu erreichen war. Wir haben daraufhin weiter versucht, aus den immunisierenden, zellfreien Lösungen die wirksame Komponente durch chemische Maßnahmen in reinerer Form zu gewinnen. Da, wie erwähnt, die Wirksamkeit sehr leicht verlorengeht, verboten sich alle zeitraubenden oder stärker eingreifenden Methoden von selbst.

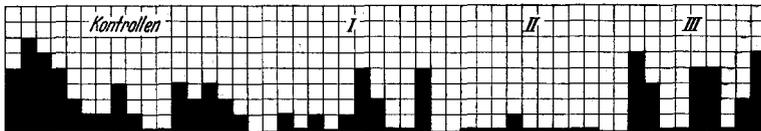


Abb. 3. I — Vorbehandlung mit wäßrigem, zellfrei filtriertem Mäusetumorextrakt; II — Vorbehandlung mit der aus I durch Einleiten von CO₂ gewonnenen Eiweißfraktion; III = Vorbehandlung mit der nach Abtrennung der durch CO₂ fällbaren Eiweißfraktion verbleibenden Restlösung.

Schließlich ergab sich folgende Arbeitsweise:

In die wasserklaren, zellfreien Filtrate von Tumorextrakten wurde ein kräftiger Kohlensäurestrom eingeleitet, wobei eine feinflockige Eiweißfällung entstand. Durch Zentrifugieren wurde die Fällung von der überstehenden Lösung getrennt und nach Aufschwemmung in Ringerlösung zur Vorbehandlung verwendet. Der folgende Versuch zeigt die immunisierende Wirkung dieser Eiweißfraktion im Vergleich mit dem ursprünglichen zellfreien Tumorextrakt und mit der nach der Fällung überstehenden, klaren Lösung. 20 Mäuse blieben unvorbehandelt als Kontrollen, je 10 Tiere wurden mit 0,5 ccm des betreffenden Präparates in 3tägigem Abstand subcutan vorbehandelt. 3 Wochen nach der letzten Injektion wurde sämtlichen Tieren 0,4 ccm Tumorbrei intramuskulär in den rechten Hinterschenkel injiziert. Von den Kontrolltieren waren 4 vorzeitig eingegangen, von den 3 Gruppen der Versuchstiere 2. Diese vorzeitig gestorbenen Tiere wurden in der Tabelle nicht berücksichtigt. Nach 14 Tagen wurde das Tumorumfang bestimmt. Das Ergebnis zeigt die Abb. 3.

Das durchschnittliche Tumorumfang bei den Kontrolltieren betrug 0,6 ccm, bei dem mit zellfrei filtriertem Extrakt vorbehandelten Tieren der Gruppe I 0,33 ccm. Dagegen blieb bei den mit der Eiweißfällung vorbehandelten Tieren der Gruppe II der Tumor ganz aus, bis auf 1 Tier, bei welchem ein kleiner Tumor aufgetreten war. Bei den

Tieren der III. Gruppe, die mit der nach CO_2 -Fällung der Eiweißfraktion verbliebenen Restlösung vorbehandelt worden waren, wuchsen die Tumoren annähernd ebenso wie bei den unbehandelten Kontrolltieren (Durchschnittsvolumen 0,63 ccm). Es war also die gesamte Wirksamkeit in die Fällung gegangen. Eine Wiederholung desselben Versuches zeigt die Abb. 4.

Bei diesem Versuch zeigte die mit dem zellfreien ursprünglichen Filtrat vorbehandelte Gruppe eine sehr deutliche Hemmung des Tumorstwachstums: von 10 Tieren war nur bei 3 ein kleiner Tumor aufgetreten, während alle 20 Kontrolltiere Tumoren bekommen hatten, bei einem Durchschnittsvolumen von 0,88 ccm. Von den mit der Kohlensäure-eiweißfällung vorbehandelten Tieren hatten nur 2 kleine Tumoren bekommen, die Tiere der III. Gruppe dagegen zeigten stärkeres Tumorstwachstum (0,3 ccm Durchschnitt), wenn auch das Tumorstwachstum der Kontrolltiere hier nicht erreicht wurde. Dieser Versuch bestätigte also das Ergebnis des Versuches 5, daß der für die Immunisierung verantwortliche Faktor durch Einleiten von CO_2 sich aus dem

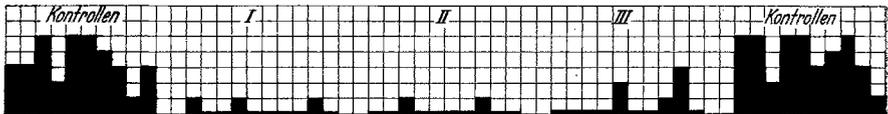


Abb. 4. I = Vorbehandlung mit wäßrigem, zellfrei filtriertem Mäusetumorextrakt; II = Vorbehandlung mit der aus demselben Extrakt durch Einleiten von CO_2 gefällten Eiweißfraktion; III = Vorbehandlung mit der nach Ausfällung der CO_2 -Eiweißfraktion verbliebenen Restlösung.

wirksamen, klaren Filtrat ausfällen läßt, bzw. mit dem entstandenen Eiweißniederschlag ausfällt. Daß in diesem Versuch die Restlösung noch eine zwar abgeschwächte, aber doch deutlich nachweisbare immunisierende Wirkung zeigt, hängt damit zusammen, daß die Eiweißfällung nicht ganz vollkommen war. Je besser die Eiweißfällung durchgeführt wird, desto unwirksamer wird die Restlösung. Wie weitere gleichartig angestellte Versuche zeigten, ist stets eine in der überstehenden Lösung verbleibende Wirkung nur auf unvollkommene Ausscheidung der Eiweißfällung zurückzuführen.

Ob man die beobachteten Erscheinungen nun als Immunität oder Resistenz bezeichnen will, dürfte nur eine Frage der Übereinkunft sein, denn auch mit zellfreien Extrakten anderer Gewebe, namentlich embryonaler gelang es, die Widerstandsfähigkeit des Organismus gegen das Anwachsen von Transplantationstumoren zu steigern, wenn auch nicht in demselben Ausmaß wie mit Extrakten aus Tumorgewebe. Ferner ist von *Lewin* u. a. schon früher nachgewiesen worden, daß man durch Vorbehandlung mit anderen Substanzen als Gewebszellen oder Gewebsextrakten, z. B. Ölsäure, Nucleinsäure, Caseosan, Yatren u. a. m. eine gewisse Resistenz erzielen kann. Das ist auch gar nicht so ver-

wunderlich, wenn man bedenkt, daß auch bei vielen Infektionskrankheiten durch eine unspezifische Eiweiß- resp. Reiztherapie ein gewisser Erfolg zu erzielen ist. Wie aus früheren Mitteilungen des einen von uns hervorgeht, ist jedoch die durch eine spezifische Vorbehandlung erreichte Resistenz bei Tumoren von ganz anderem Ausmaß als bei unspezifischer Vorbehandlung.

Wir halten es für nicht unwahrscheinlich, daß in jedem Körpergewebe das Zellwachstum hemmende und fördernde Stoffe enthalten sind; in den Tumorzellen und im embryonalen Gewebe überwiegen offenbar die fördernden. Wir nehmen auf Grund unserer experimentellen Untersuchungen an, daß die immunisierende Substanz ein durch CO_2 fällbarer Eiweißkörper ist, weniger wahrscheinlich ist, daß die Substanz lediglich an die betreffende Eiweißfraktion adsorbiert wird. Es spricht ferner einiges dafür, daß es sich um denselben Faktor handelt, welcher bei schon vorhandenem Tumor das Tumorstadium fördert, da wir beobachten konnten, daß Tumorextrakt, der bekanntlich das Tumorstadium bei schon vorhandenem Tumor im Tierversuch stark fördert, diese Eigenschaft nicht mehr zeigt, wenn er enteiweißt ist. Möglicherweise handelt es sich um dieselbe Substanz, die in Embryonal-extrakten vorhanden ist und die für das Wachstum von normalen Zellen in Gewebekulturen notwendig ist. Diese Substanzen können bekanntlich Tumorzellen bei der künstlichen Züchtung *in vitro* entbehren, sie wachsen auch ohne Embryonalextrakt in artfremdem Serum, weil die Tumorzellen diese Substanz entgegen allen anderen normalen Zellen in genügender Menge enthalten und scheinbar auch in der Gewebekultur produzieren. Das sind möglicherweise die Blastine *Centannins* oder die *Trephone Carrels*. In Übereinstimmung mit unseren Beobachtungen steht die Ansicht *Carrels*, daß diese wachstumsfördernden Substanzen außerordentlich zersetzlich sind. Er faßt sie nicht als Hormone auf, sondern als direkte Bausteine des Protoplasmas.

Um der Frage nachzugehen, ob mit den zellfrei hergestellten Extrakten auch aus Säugetiertumoren nach den Ansichten *Heidenhains* und anderer echte Geschwülste zu erzeugen sind, haben wir mehrfach Mäuse mit zur Immunisierung wirksamen, zellfreien Extrakten injiziert und abgewartet, ob Tumoren auftreten würden, zuletzt vor etwa einem halben Jahr 50 Mäuse. Von demselben Mäusestamm wurden 50 Kontrolltiere eingesetzt. Obwohl die Tiere seit über einem halben Jahr in Beobachtung sind, zeigt bisher kein einziges Tier einen Tumor. Die geimpften Tiere sind sehr munter und haben alle an Gewicht zugenommen, zwischen den behandelten und Kontrolltieren ist kein Unterschied im Befinden feststellbar. Einige Tiere, die inzwischen wegen ihres Alters eines natürlichen Todes gestorben sind, hatten ebenfalls keinen Tumor. Bisher haben wir weder bei Mäusen, Ratten und Kaninchen in den seit Jahren durchgeführten Versuchen durch Injek-

tion brauchbarer, zellfreier Extrakte einen Tumor entstehen sehen. Die ersten Immunisierungsversuche mit sicher zellfreien, sterilen Extrakten wurden von uns in den Jahren 1929/30 erfolgreich durchgeführt.

Wir haben in unseren Versuchen immer wieder beobachten können, daß die zur Immunisierung am besten geeigneten Extrakte resp. die besten Fraktionen einen starken Wachstumsreiz ausüben, wenn man solche Extrakte in größeren Dosen Tieren injiziert, die bereits Tumorträger sind. Die spezifisch erscheinende Wirkung von Tumorextrakten sehen wir bei der Immunisierung bzw. Resistenzerzeugung in ihrer wesentlich stärkeren Wirkung gegenüber Extrakten normaler Gewebe; bei Tieren, die bereits Tumoren haben, fördern große Dosen von Tumorextrakten mehr als Extrakte normaler Gewebe.

Bei Anwendung geeigneter Extrakte zur Immunisierung bzw. Resistenzerzeugung bei menschlichen Geschwulstträgern würde man deshalb besonders vorsichtig vorgehen müssen, um nicht einen umgekehrten Effekt zu bekommen als den beabsichtigten.

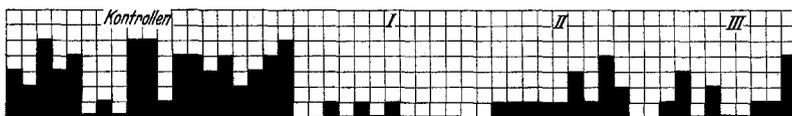


Abb. 5. *I* = Vorbehandlung mit wäßrigem Extrakt aus Mäusetumor. *II* = Vorbehandlung mit wäßrigem Extrakt aus normaler Mäuseleber; *III* = Vorbehandlung mit wäßrigem Extrakt aus normaler Mäuselunge.

Um die Angst zu beseitigen, daß man mit den zellfreien Extrakten dennoch einen invisiblen Erreger übertragen könnte, wäre es möglich, andere zur Extraktherstellung und Immunisierung geeignete Gewebe als Geschwulstgewebe zu verwenden, wenn die mit diesen zu erzielenden Effekte auch nicht so stark wären wie mit Extrakten aus Geschwülsten. Vielleicht stellt sich heraus, daß sie praktisch ausreichend sind. Da sich in allen Versuchen gezeigt hat, daß Zellen und Extrakte aus homologen Geweben den besten Effekt geben, ist die Herstellung solcher Extrakte für den Menschen naturgemäß sehr schwierig, abgesehen vielleicht von Extrakten aus Placenta.

Auch mit zellfreien Extrakten aus normalen Organen läßt sich eine gewisse Resistenz gegen das Angehen von Transplantattumoren erzeugen. Einen derartigen Versuch mit Extrakten aus normaler Mäuseleber und -lunge zeigt die Abb. 5.

Aus diesem Versuch und analogen Versuchen ergibt sich, daß die Extrakte aus Tumoren wesentlich bessere Wirkungen gaben als Extrakte aus anderen (normalen) Geweben.

Die von uns erzielten Versuchsergebnisse sagen also aus, daß es entgegen der bisher herrschenden Ansicht gelingt, mit zellfreien Tumorextrakten einen hohen Grad der Immunität bei Transplantattumoren zu erzeugen.

Auch beim *Jensenschen* Rattensarkom ließen sich nach mehrmaliger Vorbehandlung mit zellfreien Tumorfrischextrakten ebenfalls Immunitätserscheinungen nachweisen. Daß bei dem sehr virulenten, stark zu Metastasierung neigenden *Brown-Pearce*-Tumor des Kaninchens ebenfalls starke Immunitätsreaktionen nachweisbar sind, ist bereits früher berichtet worden. Die Immunitätsreaktionen lassen sich auch bei Kaninchen mit zellfreien Tumorfrischextrakten hervorrufen. Doch scheint nach unseren bisherigen Ergebnissen die Immunität erst etwa 4—8 Wochen nach der Vorbehandlung in Erscheinung zu treten, also etwas später als bei Mäusen. Die Angaben in der Literatur, daß manche Tumoren keine Immunitätserscheinungen erzeugen, wären nachzuprüfen unter Berücksichtigung der neuen Erkenntnisse und Verwendung geeigneter zellfreier Extrakte.

Es wäre wohl denkbar, daß die Ausbildung einer deutlich in Erscheinung tretenden Immunität bei den verschiedenen Tier- und Tumorarten nach verschieden langer Vorbehandlung und in verschiedenen Zeitabständen nach Abschluß der Vorbehandlung eintritt. Vermutlich werden sich bei geeigneter Versuchsanordnung für jeden Tumor Immunitätsreaktionen nachweisen lassen.

Von *Mühlenbein* auf Veranlassung von *Fischer-Wasels* 1932 durchgeführte Versuche mit möglicherweise zellfreien, wässrigen Extrakten aus Mäusetumoren, bei denen die Zellen allein durch Zentrifugieren entfernt worden waren, führten jedenfalls auch zu dem Ergebnis, daß das Wachstum der verwendeten Transplantattumoren durch die vorhergehenden Tumorextraktinjektionen deutlich gehemmt worden war. Da sich anaphylaktische Antikörper nicht nachweisen ließen, wurden die Versuchsergebnisse als Bestätigung der Arbeitshypothese angesehen, wonach die Iso-Immunsierungsfähigkeit der malignen Tumorzelle als durch ihre Plasmafremdheit bedingt angesehen wird.

Über die Verwertbarkeit der erzielten Ergebnisse für Spontantumoren, die bei Tieren und Menschen auftreten, läßt sich naturgemäß noch nichts Sicheres sagen, solange die früheren vergeblichen Versuche nicht unter den neu gewonnenen Gesichtspunkten nachgeprüft worden sind. Es ist die zunächst entscheidend wichtige Frage nachzuprüfen, ob Spontantumoren überhaupt durch eine Immunsierung beeinflussbar sind, denn nach *Bashford* sind sämtliche Immunsierungsversuche machtlos gegen Spontantumoren, im eigenen Wirtsorganismus sei durch solche Immunsierungsversuche nichts zu machen. *Lewin* hat allerdings in dieser Richtung bereits den Einwand gemacht, daß es nichts gegen die Immunsierung aussagt, wenn auch immunsisierte Tiere später einen Spontantumor bekommen, denn auch bei ursprünglich immunsisierten Tieren könnte selbstverständlich nach längerer Zeit der Immunsierungseffekt erlöschen. Es ist unmöglich, diese Fragen theoretisch zu entscheiden, unseres Erachtens wird in dieser

Hinsicht nur ein Experiment die Entscheidung bringen können. Denn auch die Beobachtung, daß Spontantumoren stets auf dasselbe Wirtstier übertragbar sind, sagt unseres Erachtens nichts gegen die Immunität aus. Wären die Tiere immun, so würden sie ja keinen Spontantumor bekommen, und es ist also nicht verwunderlich, wenn die Rückimpfung des Tumors wieder zum Anwachsen des Tumors führt. Beweisend, daß man gegen Spontantumoren nicht immunisieren kann, wäre erst, wenn es gelänge, diesen Spontantumor wieder auf das Tier zurückzupflanzen, nachdem es genügend Zeit gehabt hat, auf Injektionen zellfreier Extrakte hin gegen seinen ursprünglichen Tumor Antikörper zu bilden. Denn nicht immer gelangen wahrscheinlich von einem lokal wachsenden Tumor genügend Mengen Antigene in den Kreislauf, um eine Vollimmunität zu erzeugen. Wir werden versuchen, diese Fragen der Immunität auch bei Spontantumoren zu klären, indem wir eine größere Zahl von Mäusen eines Stammes mit großer Spontantumorneigung durch unsere bei Transplantattumoren wirksam befundenen, zellfreien Extrakte zu schützen versuchen werden.

Unseres Erachtens kommt es darauf an, auf Grund exakter Versuche herauszufinden, welche der zahlreichen schon früher gemachten Befunde wertvoll sind und welche nicht. Nur dann ergibt sich eine neue klare Bahn für die Fortsetzung der Versuche und vielleicht später auch eine Möglichkeit, die richtigen Erkenntnisse für eine aktive Immunisierung auch des Menschen gegen Geschwülste nutzbar zu machen. Feststellungen derart, daß unspezifische Reize mit allen möglichen Substanzen einen geringen Einfluß ausüben, sind ohne Wert für die weitere Entwicklung und haben den Fortschritt nur gehemmt. Ebenfalls hemmend für die Forschung erwies sich der Hinweis, daß ein Arbeiten mit Transplantattumoren ohne Wert sei, weil sie sich zum Teil schon durch Drücken und Quetschen zerstören ließen. Es ist ganz unwahrscheinlich, daß diese Ansicht Berechtigung hat. Sie trifft bestimmt nicht für die meisten Transplantattumoren zu. Außerdem wurde nicht in Erwägung gezogen, daß möglicherweise durch das Quetschen Antigene aus den Tumorzellen in den Organismus gelangt sind und eine Immunitätsreaktion ausgelöst haben könnten. Für diese Deutung spricht möglicherweise die Beobachtung *Hirschfelds*, daß bei Ratten mit 2 gleichartigen Tumoren nach Zerdrücken des einen Tumors und folgender Rückbildung auch später allmählich der zweite Tumor verschwand.

Wahrscheinlich spielt die natürliche Immunität auch beim Menschen eine Rolle. Sonst wäre es ja kaum zu erklären, daß immer nur ein Teil der Menschen an bösartigen Geschwülsten erkrankt und der überwiegende Teil der Menschen verschont bleibt. Daß alle bisherigen therapeutischen Versuche am Menschen mit Tumoraulysatzen versagen mußten, geht aus den heutigen Ergebnissen des Tierversuches

sicher hervor. Da andererseits früher Versuche mit frischer Tumorzellaufschwemmung die Gefahr einer Entstehung eines Impftumors in sich schlossen, mußte man, obwohl mit diesem zellhaltigen, frischen Material einige beachtliche Erfolge erzielt worden waren, selbstverständlich von ihrer Anwendung Abstand nehmen. Ob es sich jetzt mit wirksamen, sicher zellfreien Extrakten möglich sein würde, bessere therapeutische Ergebnisse zu erzielen, muß dahin gestellt bleiben. Unseres Erachtens müßten bei der Prüfung mindestens noch folgende Gesichtspunkte Berücksichtigung finden:

Es wäre erstens die absolute Unschädlichkeit solcher zellfreien, selbstverständlich sterilen Extrakte zu fordern. Wir selbst glauben, daß die Extrakte in den therapeutisch notwendigen Dosen unschädlich sind, da einer von uns sich vor Jahren (1930) selbst solche Extrakte von verschiedenen bösartigen, menschlichen Tumoren injizierte und keinerlei schädliche Wirkung beobachtete. Diese Ergebnisse wären aber notwendigerweise noch von anderen sich für Selbstversuche zur Verfügung stellenden Ärzten zu vervollkommen, zumal in den letzten Jahren mehrfach die allerdings noch unbewiesene Behauptung aufgestellt wurde, daß auch menschliche Tumoren sich zellfrei sogar auf Tiere übertragen ließen. Es wäre auch noch denkbar, daß krebskranke Menschen sich der Injektion von Extrakten ihres eigenen Tumors ganz anders gegenüber verhalten würden als gesunde Individuen. Immerhin glauben wir auch in dieser Hinsicht bereits sagen zu können, daß nach Injektionen unserer zellfreien, sterilen Extrakte die Entstehung von Tumoren an der Injektionsstelle nicht zu befürchten ist. Weiterhin muß berücksichtigt werden, daß eine aktive Immunisierung bei schon manifesten Erscheinungen sehr schwierig sein dürfte, denn die aktive Immunisierung auch bei bakteriellen Infektionen ist eine Kunst, wenn die Krankheit bereits ausgebrochen ist. Einen durchschlagenden Erfolg einer aktiven Immunisierung dürfte man sich beim Menschen erst dann versprechen, wenn die Immunisierung beispielsweise bei hereditär belasteten Personen resp. Personen im krebsfähigen Alter schon prophylaktisch durchgeführt werden könnte. Ob der gleiche Erfolg, wie er im Tierversuch bei Transplantattumoren möglich ist, auch beim Menschen zu erzielen ist, hängt natürlich noch von der entscheidenden Frage ab, ob die am Transplantattumor erhaltenen Ergebnisse überhaupt auf den Menschen übertragbar sind. Immerhin dürfte nach den mitgeteilten Ergebnissen die Aussicht auf einen Erfolg wesentlich günstiger geworden sein als bei der bisherigen Verwendung von Autolysaten.

Die Vermutung ist nicht von der Hand zu weisen, daß bei vielen unserer an sich unvollkommenen therapeutischen Maßnahmen immunisatorische Effekte im Körper ausgelöst werden, sonst wäre es ganz unverständlich, daß vereinzelt auch bei nicht radikalen Operationen für längere Zeit ein Rezidiv und Metastasenbildung ausbleiben kann. Ins-

besondere aber werden wahrscheinlich bei Bestrahlungen mit Röntgen- resp. Radiumstrahlen, auch wenn sie nur zur Zerstörung eines Teiles der Tumorzellen selber führen, immunisatorische Effekte ausgelöst. Vielleicht sind auf diesem Wege auch die günstigeren Ergebnisse der Langzeitbestrahlung mit kleinen Dosen zu erklären. Denn mehrfache kleine Dosen geben bessere Immunisierungseffekte als eine einmalige große Dosis. Jedenfalls sollten die jetzt an Transplantatumoren erzielten eindeutigen Ergebnisse erneut zu einer gründlichen Durchforschung auch dieser Fragen anregen.

Zusammenfassung.

1. Entgegen der bisher herrschenden Ansicht, daß eine Immunität bzw. Resistenz gegen Transplantationstumoren nur mit lebenden Zellen erzielt werden kann, wird bewiesen, daß mit den von uns unter bestimmten Kautelen hergestellten, zellfreien Tumorextrakten bei Tieren ein hochgradiger Schutz gegen Tumoren zu erzielen ist. Aber nicht allein mit zellfreien Extrakten, sondern auch mit Eiweißfällungen, die aus diesen durch Einleiten von Kohlensäure hergestellt sind, läßt sich eine eindeutige Resistenz gegen nachfolgende Tumortransplantation regelmäßig erzeugen.

2. Es wird dargelegt, warum alle früheren Versuche, mit Autolysaten usw. eine gegen Tumoren gerichtete Immunität zu erzeugen, zur Erfolglosigkeit verurteilt sein mußten

3. Für die in letzter Zeit mehrfach geäußerte Auffassung, daß auch Säugetiertumoren allgemein zellfrei übertragbar seien, sogar auf andere Tierarten, hat sich bei unseren Versuchen kein Anhaltspunkt ergeben. Die von uns hergestellten, zur aktiven Immunisierung brauchbaren, zellfreien und sterilen Extrakte erwiesen sich in den zur Immunisierung notwendigen Dosen als unschädlich. In keinem Falle konnte an der Injektionsstelle behandelter Tiere eine Tumorentstehung beobachtet werden. Weder das Allgemeinbefinden noch die Gewichtskurve der behandelten Tiere ließ eine Beeinträchtigung erkennen.

Literaturverzeichnis.

Bashford, Dtsch. med. Wschr. **1913**. — *Bashford* u. *Russell*, Proc. roy. Sci. **82**, 293 (1910). — *Carcinom*, Wissenschaftliche Woche zu Frankfurt a. M. 1935. Berichte Bd. II. Leipzig: Thieme. — *Caspari*, Z. Krebsforsch. **21** (1924). — *Clowes*, Annual Rep. New York State cancer labor. **1910**. — *Domagk*, Verh. dtsh. path. Ges. **1934** — Medizin u. Chemie **2**. — *Domagk* u. *Hackmann*, Verh. dtsh. path. Ges. **1935**. — *Haaland*, Proc. roy. Soc. Lond. **1910**. — *Hirschfeld*, Z. Krebsforsch. **11** u. **16**. — *Joanovic*, Seuchenbekämpfung **1925**. — *Keysser*, Verh. dtsh. Ges. Chir. **1**, 173 (1914); **1921**, 97 — Zur Klinik der bösartigen Geschwülste. Vaccinebehandlung der bösartigen Geschwülste. Handbuch Payr-Zweifel. Leipzig: Hirzel 1923 — Dtsch. med. Wschr. **1923**. — *Lewin*, Die Ätiologie der bösartigen Geschwülste. Berlin: Julius Springer 1928. — *Michaelis*, Dtsch. med. Wschr. **1907**, Nr 20 u. 21. — *Mühlenbein*, Frankf. Z. Path. **1933**. — *Nather* u. *Schnitzler*, Wien. klin. Wschr. **1926**, N 48, 1384. — *Sachs*, Med. Klin. **1931**, Beih. — *The Imperial Cancer Research Fund*, Tenth scientific Report. London 1932. — *Woglom*, Canc. Rev. **4** (1929).