

(Aus dem Pharmakologischen und dem Pathologischen Institut der Universität Berlin.)

## Chirurgische Behandlung von Tiergeschwülsten\*.

Von

H. Druckrey, H. Hamperl, H. Herken und B. Rarei.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 26. Januar 1939.)

Vor einigen Jahren machten wir<sup>1</sup> bei Versuchen mit dem *Jensen-Rattensarkom* die Beobachtung, daß solche Tiere, denen das *Jensen-Sarkom* operativ entfernt war, sich einer wiederholten Beimpfung gegenüber auffällig verschieden verhielten. Die Mehrzahl der Ratten erwies sich nach der Geschwulstexstirpation gegen eine erneute Beimpfung mit dem *Jensen-Sarkom*, das sonst fast in 100% der Fälle angeht, als *absolut resistent*. Einige wenige Ratten bekamen dagegen *Metastasen*, die wir sonst beim *Jensen-Sarkom* nie auftreten sahen<sup>1</sup>.

Im gleichen Jahr berichteten *Roussy, Oberling* und *Guérin*<sup>2</sup> über ähnliche Versuche ebenfalls am *Jensen-Sarkom* und *Flexner-Jobling-Carcinom* der Ratte. Ein wichtiges Ergebnis dieser Versuche war, daß nach operativen Eingriffen an der Geschwulst, besonders nach *unvollständiger* Exstirpation, gehäuft *Metastasen* auftraten. Ein wesentlicher Unterschied zwischen den dort mitgeteilten Untersuchungen und unseren eigenen besteht darin, daß die genannten Autoren auch bei den *nicht operierten* Sarkomratten nicht selten *Metastasen* beobachteten, während wir bei unseren Stämmen niemals spontane *Metastasen* fanden, obwohl wir im Laufe von mehr als 8 Jahren mehrere tausend Versuchstiere untersuchten.

Immerhin besteht zwischen beiden unabhängig voneinander gewonnenen Ergebnissen insoweit volle Übereinstimmung, als sie zeigen, daß durch den operativen Eingriff bei den genannten Impfgeschwülsten der Ratte eine *Metastasierung* zumindest stark begünstigt werden kann. Darüber hinaus ergaben unsere Versuche, daß durch den gleichen, insbesondere wiederholten Eingriff an der *Jensen-Sarkom* Ratte, nämlich durch die Exstirpation der Geschwulst auch eine *Resistenz* erzeugt werden kann, die die genannten Autoren nicht beobachteten. Solche Versuche scheinen uns deswegen von Interesse, weil sie zeigen, daß *die operative Entfernung einer Geschwulst nicht nur als „lokaler Eingriff“ gewertet werden kann, sondern so entscheidende Wirkungen haben kann,*

\* Die Durchführung dieser Untersuchungen erfolgte mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

wie das Auslösen einer Metastasierung zum einen und die Auslösung einer völligen Resistenz zum anderen.

Aus diesem Grunde haben wir unsere seinerzeitigen Versuche wiederholt und in mehrfacher Hinsicht ausgedehnt. Dabei wählten wir die Versuchsanordnung so, daß sie den Verhältnissen der chirurgischen Krebsbehandlung am Menschen möglichst entsprach. So kam es auch darauf an, die Untersuchungen nicht auf Impfgeschwülste zu beschränken, deren Beziehungen zu den im Organismus selbst entstandenen Geschwülsten noch keineswegs geklärt sind; wir haben deshalb auch Versuche an Geschwülsten vorgenommen, die wir durch eine einmalige Injektion von Benzpyren — ebenfalls an Ratten — erzeugten.

### 1. Methoden und Voruntersuchungen.

Als Tiermaterial dienten uns Ratten bekannter gemischter Herkunft. Die gebrauchten Impfgeschwülste waren das *Jensen-Sarkom*, das *Flexner-Jobling-Carcinom* und das „Carcinom“ *Walker 256*. Die Verimpfung erfolgte stets durch subcutane Injektion von 0,5 ccm eines Breies, der durch bicarbonat- und glucosehaltige Ringerlösung im Verhältnis 1:4 verdünnt war. Auf weitgehende Keimfreiheit wurde der größte Wert gelegt, weil wir immer wieder die Erfahrung machten, daß infizierte oder nekrotische Geschwülste ebenso umfangreiche wie unspezifische Allgemeinwirkungen haben<sup>3</sup>. Deshalb bemühten wir uns stets, den Ausgangstumor zunächst möglichst rein zu züchten. Für die Verimpfung wurden nur die nekrosefreien Randpartien kleiner Geschwülste benutzt. Unter solchen Bedingungen wachsen die Impfgeschwülste zwar meist langsamer, als nach Verimpfung nekrotischen Materials, aber gleichmäßiger. Es erwies sich als unbedingt zweckmäßig, in einer Serie nicht mehr als 15—20 Tiere zu beimpfen, sonst sinkt die Ausbeute oft beträchtlich aus nicht weiter untersuchten Gründen (siehe Tab. 1). Das *Jensen-Sarkom* und *Walker-„Carcinom“* ging praktisch in 100% der Fälle an, das *Flexner-Jobling-Carcinom* durchschnittlich in nur etwa 75%, wobei die Ausbeute beträchtlich schwankte. Die Exstirpation der Geschwülste erfolgte, wenn diese etwa taubeneigroß geworden waren, soweit möglich, aseptisch. Zwischen der Operation und Wiederbeimpfung lagen stets etwa 7—10 Tage. Blieb die Wiederbeimpfung ohne Erfolg, so wurde mehrfach nachgeimpft. — Benzpyren injizierten wir (in ölicher Lösung) etwa 10 mg pro Tier subcutan oder intramuskulär. Die genannten Impfgeschwülste und Benzpyrengeschwülste sind uns aus längerer Erfahrung an mehreren tausend Ratten gut bekannt. Besonders sei erwähnt, daß wir bei keiner der gebrauchten Geschwülste jemals eine spontane Metastasierung beobachtet haben. Die pathologisch-anatomische Untersuchung der Geschwülste wurde im *Pathologischen Institut* der Charité vorgenommen. Unsere Untersuchungen stützen sich auf Beobachtungen an mehr als 250 Versuchs- und vielen hundert Kontrolltieren.

Zunächst erschien es notwendig, die Bedeutung der mit der Operation notwendig verbundenen *unspezifischen* Eingriffe für die „Resistenz“ zu untersuchen. Zu diesem Zwecke wurden verschiedene Serien von Ratten, insgesamt 46 Versuchstiere zum Teil mehrfach im Abstand von einigen Tagen lediglich für 15 Minuten mit Äther narkotisiert, zum Teil dreimal im Abstand von 14 Tagen laparotomiert oder durch andere Eingriffe (Muskelschnitte, Hautexzision) operativ behandelt. Bei einer

weiteren Gruppe von Ratten wurde durch intraperitoneale Injektion von 2 ccm einer 1 proz. Senföl-Lösung in Öl eine anhaltende Peritonitis erzeugt.

Etwa 1 Woche später wurden sämtliche Tiere mit *Jensen*-Sarkom geimpft. Bei allen Tieren ging die Geschwulst an und zeigte zumindest das gleiche Wachstum, wie bei den Kontrollen. Metastasen beobachteten wir nicht. Das Ergebnis deckt sich hinsichtlich der Wirkung der Narkose mit den Beobachtungen von *Zakrzewski*<sup>4</sup>, der ebenfalls keine Hemmung des Wachstums, sondern eher noch eine Beschleunigung fand. Die genannten Eingriffe für sich haben also sicher keine so entscheidende Wirkung, daß sie als störendes Moment für unsere Versuche in Frage kommen.

## 2. Exstirpation der Geschwulst.

### a) Versuche am *Jensen*-Sarkom.

89 junge Ratten wurden in 8 Gruppen mit *Jensen*-Sarkom geimpft; bei 83 Tieren ging die Geschwulst an und zeigte das typische schnelle Wachstum. Die restlichen 6 Ratten wurden aus dem Versuch ausgeschaltet. Als die Tumoren über Taubeneigröße herangewachsen waren, wurden die gut abgekapselten Geschwülste in Äthernarkose operativ entfernt. Die Operationswunden heilten gut. Etwa eine Woche später erfolgte eine zweite Impfung. Diese blieb schon bei einem Teil der Tiere negativ. Bei dem Rest wuchsen wieder Geschwülste, die wiederum exstirpiert wurden. Nach erneuter Impfung ging nur noch bei wenigen Ratten ein Tumor an. Nach der dritten Operation waren alle noch lebenden Tiere resistent. Mehrfach wiederholte Beimpfung mit *Jensen*-Sarkom, das bei gleichzeitig geimpften Kontrolltieren ausgezeichnet anging und wuchs, hatte jetzt in keinem Fall mehr Erfolg. Selbst nach 9 Monaten wiederholte Impfung auch mit großen Mengen Impfmateriel blieb absolut negativ. Insgesamt wurden 53 von 54 überlebenden Ratten resistent, davon 19 nach der ersten, 28 nach der zweiten und die restlichen 6 nach der dritten Beimpfung.

Lediglich bei einem Tier war ein Rezidiv an der Impfstelle und eine Metastase in der Leistenbeuge entstanden. Rezidiv und Metastase wurden sorgfältig exstirpiert. Trotzdem ergab die Sektion des später gestorbenen Tiers ausgedehnte Metastasen in der Lunge, im Zwerchfell und in den Mesenterialdrüsen.

Das Gesamtergebnis, das aus der nachstehenden Tab. 1 hervorgeht, ist außerordentlich klar und deckt sich vollkommen mit unseren früheren Ergebnissen. Durch den „lokalen Eingriff“ der Exstirpation des *Jensen*-Sarkoms ließ sich also in unseren Versuchen mit großer Sicherheit, nämlich bei 53 von 54 überlebenden Ratten, eine absolute und anhaltende „Resistenz“ gegen diese Geschwulst erzeugen; die Operation hatte also über die bloße Beseitigung der Geschwulst hinaus noch

Tabelle 1. Ergebnis der operativen Behandlung des Jensen-Sarkom der Ratte.

Versuch vom	Zahl der mit <i>Jensen</i> -Sarkom geimpften Tiere					
	Gesamt	Sarkom angegangen	Gestorben	Rest	Davon	
					Resistent	Metastasen
24. X. 1936	10	10	4	6	6	—
8. XII. 1936	12	12	8	4	4	—
1. V. 1937	4	4	—	4	4	—
26. V. 1937	1	1	—	1	1	—
6. VII. 1937	6	6	—	6	6	—
21. VII. 1937	2	2	—	2	2	—
1. IX. 1937	4	4	—	4	4	—
13. I. 1938	50	44	17	27	26	1
	89	83	29	54	53	1

wichtige Allgemeinwirkungen. Andererseits ist, wenn auch nur in einem Falle, durch den Eingriff eine ausgedehnte Metastasierung eingetreten, die wir bei nichtoperierten, mit dem *Jensen*-Sarkom geimpften Ratten niemals beobachtet haben. Dies Ergebnis weicht in quantitativer Hinsicht beträchtlich von den oben erwähnten Befunden von *Roussy*, *Oberling* und *Guérin*<sup>2</sup> ab, die gerade beim *Jensen*-Sarkom und besonders nach mehrfacher Exstirpation der Geschwülste sogar bei 75% der Tiere Metastasen fanden. Diese interessante Differenz könnte dadurch bedingt sein, daß entweder das in den beiden Laboratorien gebrauchte Tumorzellmaterial oder Tiermaterial oder beides genetisch verschieden war; gerade die folgenden Versuche werden zeigen, eine wie hohe Bedeutung solchen Unterschieden zukommt.

b) Versuche mit dem *Flexner-Jobling*-Carcinom.

Um die Frage zu prüfen, ob eine solche „Allgemeinwirkung“ der operativen Geschwulstentfernung etwa nur beim *Jensen*-Sarkom auftritt, oder ob dem Befund eine allgemeinere Bedeutung zukommt, haben wir denselben Versuch auch mit dem *Flexner-Jobling*-Carcinom an der gleichen Tierart unternommen.

Die Operation wurde in der gleichen Weise, jedoch mit noch größerer Sorgfalt ausgeführt, wie beim *Jensen*-Sarkom. Die Carcinome waren stets gut abgekapselt, dennoch ließ sich ein gewisser Unterschied gegenüber dem Sarkom vor allem darin erkennen, daß bei der Operation häufig leicht sulzige, zu den regionalen Lymphdrüsen ziehende Stränge erkennbar waren, die uns bei Eingriffen am *Jensen*-Sarkom nicht aufgefallen sind.

Das Gesamtergebnis dieser Versuche ist in Tab. 2 dem Versuchsergebnis mit dem *Jensen*-Sarkom gegenübergestellt (im Interesse der

Tabelle 2. Ergebnis der operativen Behandlung des Flexner-Jobling-Carcinom der Ratte dem Ergebnis der Versuche am Jensen-Sarkom der Ratte gegenübergestellt.

Versuche mit	Zahl der Ratten					
	Gesamt	Davon		Rest	Davon	
		Geschwulst angegangen	intercurrent gestorben		Resistent	Metastasen
<i>Jensen-Sarkom</i> . .	89	83	29	54	53 = 98%	1 = 2%
<i>Flexner-Jobling-Carcinom</i> . . .	44	32	8	24	7 = 29%	17 = 71%

klaren Wiedergabe haben wir die einzelnen Versuchsserien nicht mehr gesondert aufgeführt). *Qualitativ* zeigen beide Versuche das gleiche Ergebnis: in beiden Fällen führte die Operation entweder eine völlige Resistenz herbei oder sie löst eine Metastasierung aus. In *quantitativer* Hinsicht ergab sich indessen ein völlig verschiedenes Verhalten beider Tumorarten. Während beim *Jensen-Sarkom* fast alle Tiere völlig „geheilt“ und resistent wurden, und nur ein Tier — allerdings ausgedehnte — Metastasen bekam, konnte das *Flexner-Jobling-Carcinom* nur bei wenigen Tieren operativ endgültig beseitigt werden. Die meisten Tiere bekamen Rezidive und Metastasen. Diese Metastasen traten zunächst in den regionären Lymphdrüsen auf, und zwar besonders dann, wenn an der Impfstelle

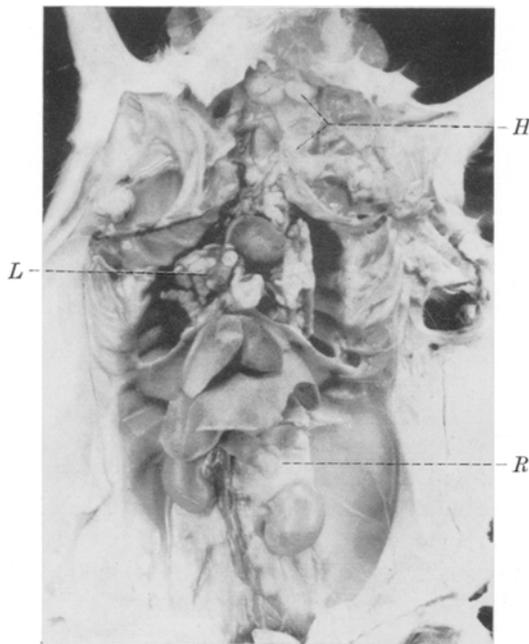


Abb. 1. Metastasen eines *Flexner-Jobling-Carcinoms* nach operativer Entfernung der Impfgeschwulst in den Lungen (L), Halslymphknoten (H) und im Retroperitoneum (R) usw. (Magendarmtrakt bei der Obduktion entfernt).

ein Rezidiv entstanden war. In jedem Falle wurden auch die Rezidive und inguinalen bzw. axillaren Metastasen chirurgisch entfernt, und zwar so frühzeitig wie möglich. Dennoch gelang es in keinem Fall, die generalisierte Aussaat aufzuhalten, sie trat nach Ausräumung

der befallenen Drüsen nur mit um so größerer Sicherheit ein. 7 Ratten, die die wiederholten Eingriffe länger überlebten, zeigten ausgedehnte Metastasen in vielen inneren Organen (Lunge, Leber, Niere, Herzmuskel, Milz und vor allem in den mesenterialen und paravertebralen Lymphdrüsen [Abb. 1 und 2]). Oft war der ganze Bauch und Brustraum mit Metastasen vollkommen angefüllt, wobei meist hochgradiger Ascites vorhanden war. Das nicht operierte *Flexner-Jobling*-Carcinom haben wir dagegen nie metastasieren sehen.

Ein Vergleich dieses Ergebnisses mit den oben bereits erwähnten Befunden von *Roussy*, *Oberling* und *Guérin*<sup>2</sup> ergibt wiederum interessante

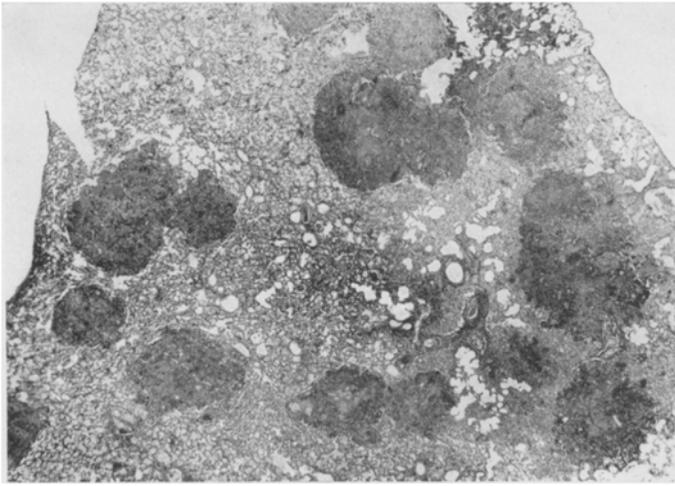


Abb. 2. Lungenmetastasen nach operativer Entfernung eines *Flexner-Jobling*-Carcinoms.

Abweichungen quantitativer Art. Diese Autoren fanden gerade beim *Jensen*-Sarkom nach operativen Eingriffen ein gehäuftes Auftreten von Metastasen, während das *Flexner-Jobling*-Carcinom bei ihnen wesentlich seltener metastasierte. Bei uns liegen dagegen die Dinge gerade umgekehrt; der erste Geschwulststamm entwickelte nur höchst selten eine Aussaat, das Carcinom dagegen mit großer Häufigkeit. Diese Verschiedenheit in den Ergebnissen kann nicht dadurch bedingt sein, daß dort oder hier einmal die Geschwülste vorübergehend ein besonderes Verhalten gezeigt haben und daß die Untersuchungen zufällig gerade in dieser Zeit stattgefunden haben. Vielmehr stützen sich die Ergebnisse auf eine jahrelange Erfahrung, während der die Ergebnisse stets reproduzierbar blieben. Es liegt daher die Annahme nahe, daß die in beiden Laboratorien verwendeten Geschwulststämme trotz ihres gleichen Namens und trotz ihrer letzten Endes gleichen Abkunft genetisch verschieden sind. Daß genetisch verschiedene Stämme sich hin-

sichtlich des Operationserfolges so völlig verschieden verhalten können, ist ja gerade ein wesentliches Ergebnis unserer Versuche.

Die Ursache für das andere Verhalten des *Flexner-Jobling-Carcinoms* kann nicht auf ein infiltratives Wachstum dieses Tumors bezogen werden, vielmehr wächst diese Geschwulstart ebenso gut abgekapselt und läßt sich ebenso leicht exstirpieren, wie das *Jensen-Sarkom*. Es bliebe also nur anzunehmen, daß beim *Flexner-Jobling-Carcinom* trotz des abgekapselten Wachstums relativ leicht Zellen auf dem Lymphwege ver-

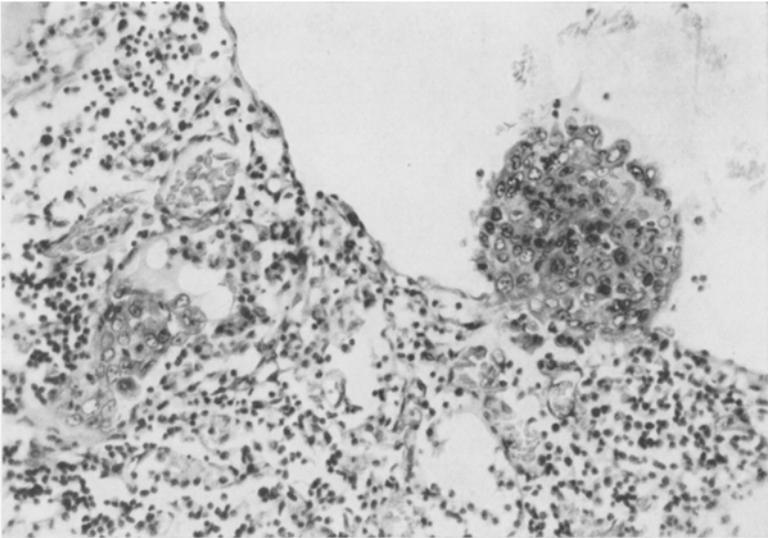


Abb. 3. Tumorzellen in den Sinus einer Lymphdrüse bei einer *Flexner-Jobling-Carcinomratte*.

schleppt wurden, beim *Jensen-Sarkom* dagegen nicht. Dafür würde die oben erwähnte Beobachtung sprechen, daß bei diesem Carcinom häufig sulzige Stränge, die zu den Drüsenräumen zogen, beobachtet wurden. Allerdings fanden wir in diesen Strängen histologisch keine Tumorzellen. Wir haben dann später bei den Tieren die Achselhöhle und Leistenbeuge palpiert und beim *Flexner-Jobling-Carcinom* häufig vergrößerte Drüsen tasten können, nicht aber beim *Jensen-Sarkom*. Bei der histologischen Untersuchung von Lymphdrüsen der mit *Flexner-Jobling-Carcinom* geimpften Ratten ließen sich dann auch Tumorzellen in den Lymphdrüsen nachweisen (Abb. 3).

Nach dieser Feststellung exstirpierten wir bei einigen Tieren die Lymphstränge und vergrößerten Drüsen gleichzeitig mit der Geschwulst, jedoch mit dem Erfolg, daß jetzt nur um so sicherer eine ausgedehnte Metastasierung auftrat. Es müssen also schon frühzeitig bösartige Zellen verschleppt worden und über die regionären Drüsen hinaus-

gelangt sein. Die Aussaat erfolgte zunächst auf dem Lymphwege, denn wir fanden stets zuerst Drüsenmetastasen und erst später, nach ihrer Exstirpation, traten Organmetastasen auf. Daß die regionären Lymphdrüsen die verschleppten Geschwulstzellen abfangen und den Organismus vor generalisierter Aussaat schützen, geht sehr klar aus einer Arbeit von *Auler* und *Schilling*<sup>5</sup> hervor, die in Tierversuchen beobachteten, daß sonst nicht metastasierende Impfgeschwülste an solchen Tieren zu einer Aussaat führen, bei denen vorher die Lymphdrüsen ausgeräumt waren.

c) *Versuche mit Benzpyren-Geschwülsten.*

Nach diesen Ergebnissen mit Impfgeschwülsten haben wir als Beispiel einer im Organismus selbst entstandenen Krebsgeschwulst Sarkome benutzt, die wir durch eine einmalige subcutane Injektion von Benzpyren bei Ratten erzeugten. Etwa 4 Monate nach der Injektion

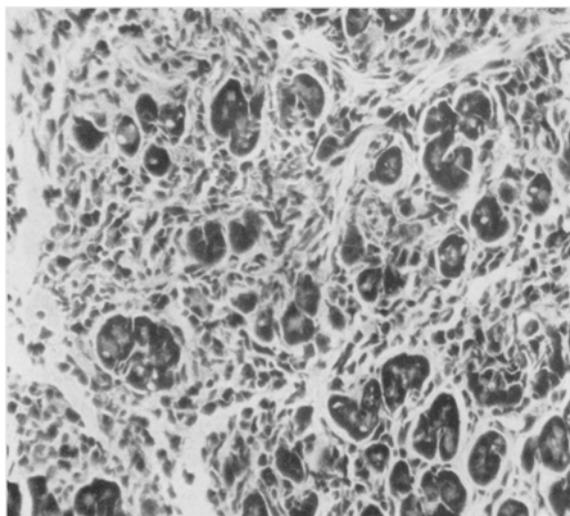


Abb. 4. Nach operativer Entfernung eines primären, durch einmalige Injektion von Benzpyren erzeugten Sarkoms aufgetretene Metastase: Durchwachsung des Pankreas.

von 10 mg in öliger Lösung entstanden an der Applikationsstelle die ersten Sarkome, die nun schnell wuchsen und bei den Kontrollen in wenigen Wochen bis Monaten zum Tode führten. Metastasen haben wir bei *unbehandelten* Benzpyren-Geschwülsten nie beobachtet<sup>6</sup>, obwohl wir ein Gesamtmaterial von mehreren hundert Ratten übersehen.

Das durch Benzpyren erzeugte Sarkom wurde, nachdem es etwa Taubeneigröße erreicht hatte, in derselben Weise chirurgisch entfernt, wie wir es bei den Versuchen mit den Impfgeschwülsten beschrieben haben. Bei der Operation zeigte sich, daß die Benzpyrengeschwülste

nicht so abgekapselt waren, wie die Impfgeschwülste, sondern oft infiltrierend wuchsen. Aus diesem Grunde exstirpierten wir sie besonders sorgfältig und *stets weit im Gesunden*, wobei wir uns bemühten, auch das Gewebe der Injektionsstelle mit den noch vorhandenen Benzpyrenresten mitzuentfernen.

Trotz sorgfältigster Operation beobachteten wir oft Rezidive. Diese wuchsen infiltrativ in die Muskulatur der Bauchdecken und des Rückens ein. Nach ihrer sorgfältigen Exstirpation traten meist wieder Rezidive auf. Es war fast unmöglich, die Geschwulstentwicklung chirurgisch zu beherrschen. Von 40 operierten Tieren wurde nur eines „geheilt“. Bei 7 Ratten, die die wiederholten Eingriffe überlebten, entwickelten sich in allen Fällen ausgedehnte innere Metastasen, vor allem in den mesenterialen, paravertebralen und Halslymphdrüsen, ferner im Peritoneum, dem Zwerchfell, in den Speicheldrüsen, dem Pankreas (Abb. 4) der Milz und Leber. Bei mehreren Tieren waren die Leibeshöhlen von hunderten von erbsgroßen traubig zusammenhängenden Knötchen angefüllt (Abb. 5). Solche Aussaat fanden wir auch

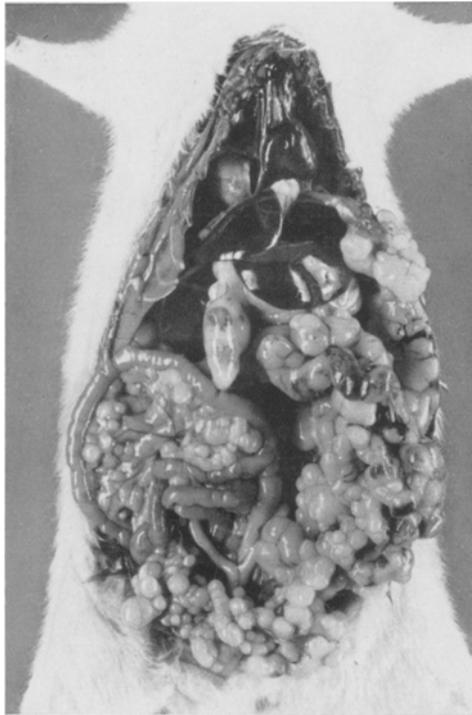


Abb. 5. Ausgedehnte kleinknotige Metastasen nach operativer Entfernung eines durch Benzpyren erzeugten Sarkoms.

dann, wenn sich ein subcutaner Tumor nicht mehr entwickelt hatte, die Tiere also *äußerlich keine Geschwulst* hatten. Metastasen in den axillären oder inguinalen Lymphdrüsen sahen wir bei Benzpyren-Tumoren nur selten, obwohl eine generalisierte Aussaat bereits bestand. Reste des Primärtumors waren dabei stets tief in die Bauchdeckenmuskulatur eingewachsen, so daß die Verschleppung von Geschwulstzellen wohl ausschließlich auf dem Wege der inneren Lymphbahnen erfolgt sein dürfte.

Die Metastasen entsprachen in ihrem histologischen Charakter dem primären Benzpyrensarkom. Schon das spricht dafür, daß es

sich um echte Metastasen handelt und nicht um *neue*, durch resorbiertes oder verschlepptes Benzpyren erzeugte Geschwülste.

Die operative Entfernung des Tumors hatte also auch im Falle der durch einen cancerogenen Stoff erzeugten Geschwülste grundsätzlich die gleiche Allgemeinwirkung, wie bei den Versuchen mit den beiden Impfgeschwülsten. Wenigstens insoweit, als die Operation von einer Metastasierung gefolgt war. Diese steht auch hier anscheinend mit der Operation in *ursächlichem* Zusammenhang, denn bei *nicht operierten* Ratten mit Benzpyrentumor haben wir, wie bereits oben gesagt, bisher trotz Beobachtung eines Tiermaterials von mehr als 300 Ratten ebensowenig Metastasen gesehen, wie bei den vorher besprochenen Impfgeschwülsten. Die Frage der *Resistenz* konnte bei den Benzpyrentumoren nicht geklärt werden, weil nur ein Tier überlebte. Eine Untersuchung darüber, ob ein solches Tier nun gegen eine erneute Behandlung mit Benzpyren resistent geworden ist, ist schon deshalb zwecklos, weil die dazu notwendige Behandlungsdauer über die Lebenserwartung der vorbehandelten Ratten hinausgeht.

#### d) *Besprechung der Befunde.*

Die geschilderten Versuche lassen drei wesentliche Sachverhalte erkennen:

*Erstens* zeigen sie, daß die chirurgische Entfernung einer Geschwulst nicht nur als lokaler Eingriff gewertet werden kann, *sondern ganz entscheidende Allgemeinwirkungen hat*. Es kann eine *Heilung* mit völliger Resistenz die Folge sein, oder die am meisten befürchtete Verschlimmerung, nämlich die *Metastasierung* geradezu ausgelöst werden. Daß sonst, d. h. ohne Operation, *keine* Metastasen auftreten, kann verschiedene Ursachen haben. Es kann einfach daran liegen, daß die Tiere an ihrem schnell wachsenden Primärtumor in so kurzer Zeit zugrunde gehen, daß sie die Entwicklung von Metastasen aus den inzwischen verschleppten Geschwulstzellen nicht mehr erleben, wenn nicht ihre Lebensdauer künstlich durch Exstirpation des Primärtumors verlängert wird. Daß diesem Umstand eine wesentliche Bedeutung zufällt, wird aber durch folgende Beobachtungen unwahrscheinlich gemacht: gerade beim *Flexner-Jobling-Carcinom* gibt es häufig Fälle, in denen die Impfgeschwulst sehr langsam wächst und oft erst nach mehreren Monaten zum Tode führt. Diese Tiere hätten also sehr wohl die Metastasierung noch erleben können und doch trat sie bei ihnen nie auf; andererseits gingen in unseren Versuchen *operierte* Tiere früher an einer Aussaat zugrunde, als eine Reihe nichtoperierter Tiere am Primärtumor. Hier ist also die Operation als wesentliche Ursache für die Metastasierung anzusehen und nicht die Lebensverlängerung.

Diese verhängnisvolle Wirkung der Operation kann darauf beruhen, daß trotz sorgfältigster Exstirpation bei bestimmten Geschwülsten, auch wenn sie abgekapselt sind, doch bösartige Zellen an der Operationsstelle verbleiben. So kann man jedenfalls die in einigen Fällen auch aufgetretenen Rezidive erklären. Die wesentliche Ursache für die Metastasierung haben wir damit aber sicher nicht erfaßt, denn im Falle des *Jensen-Sarkoms* wurden Ratten auch noch nach Entfernung aufgetretener Rezidive ebenso in praktisch allen Fällen resistent, wie nach Exstirpation eines zum zweitenmal geimpften „Primärtumors“.

Schließlich könnte man annehmen, die häufigere Metastasierung nach operativen Eingriffen sei darauf zurückzuführen, daß durch das blutige Vorgehen am Tumor eine stärkere Ausschwemmung bösartiger Zellen in die *Lymphbahnen* hinein stattfand. Dann müßten sich aber *Jensen-Sarkom* und *Flexner-Jobling-Carcinom* ähnlicher verhalten. Unsere Befunde sprechen dafür, daß beim *Flexner-Jobling-Carcinom* schon vor der Operation Geschwulstzellen auf dem Lymphwege verschleppt waren, die jedoch erst nach der Operation zur Entwicklung kommen. In diese Richtung deutet schon der oben erwähnte Befund, daß wir gerade beim *Flexner-Jobling-Carcinom*, das ja nach der Operation besonders häufig metastasiert, auch häufig sulzige vom Tumor zu den regionären Drüsen ziehende Stränge fanden. Entscheidend gestützt wird diese Auffassung durch den gelegentlichen histologischen Nachweis von Geschwulstzellen in regionären Lymphdrüsen (Abb. 3).

Weiter deuten unsere Versuche darauf hin, daß sich ein Teil der auf dem Lymphwege verschleppten Geschwulstzellen bereits vor der Operation sogar schon *jenseits* der regionären Drüsen befunden haben muß, ohne allerdings zur Entwicklung gekommen zu sein, denn wir fanden bei solchen Ratten, bei denen wir nicht nur das primäre *Flexner-Jobling-Carcinom* exstirpierten, sondern auch die regionären Drüsenräume ausräumten, eine nur um so ausgedehntere Aussaat. Warum die sicher schon frühzeitig verschleppten Geschwulstzellen<sup>6a</sup> stets erst dann Metastasen bilden, wenn der Primärtumor operativ entfernt wurde, bleibt zunächst eine noch ungeklärte Frage. Wir haben auf Grund unserer Befunde den Eindruck, als ob die Primärgeschwulst einen gewissen hemmenden Einfluß auf die Vermehrung an sich bereits verschleppter Geschwulstzellen hat. In gleiche Richtung deuten auch die Befunde von *Schäirer*<sup>7</sup> sowie die von *Roussy*, *Oberling* und *Guérin*<sup>2</sup>.

Das Auftreten der Metastasen nach der Operation kann nicht darauf bezogen werden, daß, wie es in den meisten Fällen geschah, nach der Exstirpation erneut Tumorzellen geimpft wurden, denn die verwendeten Impftumoren wachsen ja nach unserer Erfahrung gesetzmäßig nur lokal. Außerdem haben wir bei einer Anzahl von Ratten, bei denen nur eine Primärgeschwulst bzw. ein Rezidiv entfernt wurde,

ohne daß eine Nachimpfung stattfand, eine ganz entsprechende Aussaat beobachtet.

Die Art des Wachstums der Metastasen war je nach ihrer Art in charakteristischer Weise verschieden. Stets unterschieden sie sich vom Primärtumor darin, daß sie nicht mehr vollkommen abgekapselt waren wie dieser, sondern infiltrierend wuchsen. Das Verhalten der Metastasen in den *axillären* oder *inguinalen Lymphdrüsen* glich dem des Ausgangstumors insofern noch weitgehend, als diese Metastasen stets in der Einzahl auftraten und noch das gleiche schnelle Wachstum zeigten wie die Primärgeschwulst. Die Metastasen in den *inneren Lymphdrüsen* des Mesenteriums, der retroperitonealen, mediastinalen und submaxillaren Räume wuchsen ebenfalls schnell, bildeten aber nicht mehr solitäre Tumoren, sondern zeichneten sich gerade durch die Ausbildung multipler Knoten aus, wie es einer „generalisierten Aussaat“ entspricht. Die *Organmetastasen* traten ebenfalls in der Mehrzahl auf, wuchsen aber stets höchst *langsam*. Das fiel uns besonders bei Lungenmetastasen auf, die selten über Erbsgröße hinaus wuchsen. Die verschleppten Geschwulstzellen finden also in den verschiedenen Organen auch höchst *verschiedene* Entwicklungsbedingungen vor. Die besondere Resistenz der Lunge gegen Metastasen des *Jensen-Sarkoms* ist von *Schäirer*<sup>7</sup> im einzelnen untersucht.

Die Metastasierung erfolgte in unseren Versuchen, wie oben gesagt, zunächst stets auf dem *Lymphwege* und erst *nach* der Ausbildung und besonders nach der Operation von Drüsenmetastasen auch auf dem *Blutwege*. Die Exstirpation der regionalen Drüsen förderte in unseren Versuchen nur die generalisierte Aussaat. Damit werden frühere Befunde von *Auler* und *Schilling*<sup>5</sup> bestätigt. Gutes haben wir von der Ausräumung der Drüsen beim *Flexner-Jobling-Carcinom* nie gesehen.

Das *zweite Ergebnis* unserer Versuche ist der Nachweis, daß verschiedene Geschwülste sich hinsichtlich des Operationserfolges völlig verschieden verhalten, gleiche Geschwulstarten aber weitgehend ähnlich. Das legt den Gedanken nahe, daß das verschiedene Verhalten in einer verschiedenen genetischen Konstitution der Tumorstämme begründet ist, denn das Tiermaterial war das gleiche. Beim *Jensen-Sarkom* war eine absolute Heilung auch dann noch möglich, wenn die Exstirpation nicht „total“ erfolgt war und Rezidive entstanden, die dann noch entfernt werden mußten. Metastasen kamen nur einmal vor. Die Prognose für die Operation war also stets günstig. Von 54 Tieren wurden 53 geheilt. Völlig anders lagen die Dinge beim *Flexner-Jobling-Carcinom*, bei dem nur wenige Tiere durch die Operation „geheilt“ werden konnten. Die meisten bekamen nach der Operation Metastasen und gingen an diesen unter Umständen sogar früher zugrunde, als die nichtoperierten Tiere am Primärtumor. Von 24 Tieren

wurden 7 geheilt. Die „Heilungsaussichten“ sind also höchst bescheiden. Völlig ungünstig war die „Prognose“ der Benzpyrengeschwülste. Von 40 operierten Tieren überlebte nur eins.

Zum *dritten* liefern unsere Untersuchungen geradezu experimentelle Methoden, um mit großer Ausbeute Tiere zu gewinnen, die in einem Falle gegen eine Geschwulst sicher „resistent“ sind, im anderen Falle solche, die mit großer Wahrscheinlichkeit Metastasen bekommen. Das Vorhandensein solcher Methoden ist von nicht zu unterschätzender Bedeutung für das Studium sowohl der Ursachen für die Entstehung der Resistenz und für die Entwicklung von Metastasen, als auch für ihre therapeutische Beeinflussung.

### 3. Spezifität der Resistenz.

Diejenigen Ratten, die in unseren Versuchen mit dem *Jensen-Sarkom* und *Flexner-Jobling-Carcinom* völlig resistent geworden waren, haben wir dann für weitere Versuche benutzt, um die Frage zu klären, ob die beobachtete Resistenz sich auch auf andere Geschwulstarten erstreckt, also unspezifisch ist, oder ob bei diesen Tieren eine Impfung mit einer *anderen* Geschwulstart noch gelingt (spezifische Resistenz).

Tabelle 3. Ausdehnung der gegen eine oder zwei Geschwulstarten erzeugten Resistenz auf eine andere Geschwulstart.

Zahl der Ratten	Versuch				Kontrolle		
	Resistent gegen	Beimpft mit	Impferfolg		Zahl der Tiere	Impferfolg	
			positiv	negativ		positiv	negativ
32	<i>Jensen</i>	<i>Flexner-Jobling</i>	12	20	18	16	2
5	<i>Jensen</i>	<i>Walker</i>	2	3	6	5	1
2	<i>Jensen</i> u. <i>Walker</i>	<i>Flexner-Jobling</i>	0	2	3	3	0
14	<i>Jensen</i> u. <i>Flexner-Jobling</i>	<i>Walker</i>	3	11	7	5	2
6	<i>Flexner-Jobling</i>	<i>Walker</i>	3	3	7	4	3
59			20 =34%	39 =66%	41	33 =81%	8 =19%

Die durch die oben beschriebene chirurgische Geschwulstentfernung experimentell erzeugte Resistenz wurde zunächst durch mehrmals wiederholte Impfung mit demselben Geschwulstmaterial auf ihre Zuverlässigkeit geprüft. Zum Versuch wurden nur solche Tiere herangezogen, die sich als absolut resistent erwiesen hatten. Nach einer Zwischenzeit von 7—14 Tagen erfolgte dann die Impfung mit der anderen Geschwulstart. Als Kontrollen dienten möglichst gleichaltrige Ratten. Die Impfung wurde abwechselnd an einem Versuchstier und einem Kontrolltier mit besonderer Sorgfalt vorgenommen, so daß das Impfmateriale auf das Genaueste übereinstimmte.

Die Ergebnisse der Versuche sind in der Tab. 3 enthalten. Sie zeigen, daß es durchaus möglich ist, auf Tiere, die gegen eine Geschwulst völlig resistent sind, eine andere Geschwulst noch mit Erfolg zu verimpfen. Die Ausbeute ist jedoch offenkundig wesentlich geringer als bei nicht vorbehandelten Kontrolltieren. Diese „Resistenz“, die sich auch gegen andere Geschwulstarten richtet, tritt besonders bei den Versuchsgruppen in Erscheinung, die vorher gegen *zwei* Tumorstämme resistent gemacht waren. Hier gingen bei 16 Tieren nur 3 Geschwülste an.

Diese Versuche stehen in guter Übereinstimmung mit den Befunden *Klinkes*<sup>8</sup>. Dieser Autor konnte an Ratten und Mäusen, die durch mehrfache erfolglose Beimpfung mit einer Geschwulst „hoch immun“ gegen diese geworden waren, doch eine sichere Anfälligkeit gegen andere Geschwulstarten nachweisen. Die Anfälligkeit gegen diese war jedoch deutlich geringer als bei nicht vorbehandelten Kontrolltieren. Die „erworbene Immunität“ gegen eine bestimmte Geschwulst erzeugte also auch in diesen Versuchen einen gewissen relativen Schutz gegen andere Geschwulstarten. Dennoch erwies sich bei *Klinke* diese Methode geeignet, Geschwulststämme „immunbiologisch“ zu differenzieren oder zu identifizieren. Daß durch die Verimpfung lebender Zellen eine beträchtliche *unspezifische* Resistenz erzeugt werden kann, zeigen besonders Versuche von *Zakrzewski*<sup>9</sup>. Er konnte durch Transplantation von *normalem* Gewebe auf Ratten bei diesen eine hohe Resistenz gegen verschiedene Impfgeschwülste hervorrufen.

#### 4. Ursache der Resistenz gegen Impfgeschwülste.

Die schon seit langem bekannte Tatsache, daß bei Versuchstieren oft schon eine „spontane“ Resistenz gegen Impfgeschwülste zu beobachten ist und daß in anderen Fällen eine Resistenz experimentell erzeugt werden kann, hat den Gedanken nahegelegt, diese Resistenz auf die Funktion eines besonderen Gewebes zu beziehen, wobei vor allem das „reticuloendotheliale System“, die Milz und die Lymphdrüsen genannt wurden.

Diese „Abwehr“ gegen die Geschwulst könnte einmal auf *stofflichem* Wege erfolgen, zum andern der unmittelbaren Mitwirkung von *Zellen* bedürfen. Nur im ersten Fall hätte es einen Sinn, Extrakte aus den für die „Abwehr“ verantwortlichen Organen oder Geweben therapeutisch zu verwenden. Soweit dies die Milz betrifft, ist es nun trotz zahlreicher Versuche<sup>10</sup> niemals gelungen, durch Extrakte aus diesem Organ oder durch Verfütterung von Milzgewebe eine irgendwie geartete Resistenz zu erzeugen. Anderslautende Ergebnisse<sup>11</sup> konnten von vielen Stellen keine Bestätigung finden. Es besteht vielmehr bei fast allen Untersuchern Einhelligkeit in der Auffassung, daß

Milzextrakte in dieser Hinsicht eine irgendwie in Betracht kommende Wirkung *nicht* besitzen.

So blieb die Möglichkeit, daß die beobachtete Resistenz auf eine *celluläre* Leistung z. B. der Milz zu beziehen ist. Die Implantation lebenden Milzgewebes hatte jedoch in von uns durchgeführten Versuchen *keinen* Einfluß auf das Angehen oder Wachstum von Impfgeschwülsten. Dasselbe negative Ergebnis zeitigten auch Versuche, in denen wir die Milz von solchen Ratten, die gegen die gebrauchte Geschwulst absolut resistent geworden waren, transplantierten. Die so behandelten Ratten blieben jedoch gegen eine Geschwulstimpfung ebenso anfällig wie unbehandelte Kontrollen. Es mag sein, daß solche Versuche keine Beweiskraft haben, weil das transplantierte Gewebe nicht ausreicht. Deshalb haben wir eine weitere Versuchsanordnung gewählt: wenn die Milz für die Resistenz eine maßgebliche Rolle spielte, müßte es möglich sein, bei absolut resistent gemachten Ratten durch *Exstirpation* der Milz die Resistenz aufzuheben. Das Resultat dieser Versuche war absolut negativ, alle Ratten blieben trotz der Splenektomie resistent. Wir haben einzelne dieser Versuche in der Zwischenzeit wiederholt und stets das gleiche Resultat beobachtet. Diese Ergebnisse machen es *unmöglich*, die Milz als maßgebliches anatomisches Substrat der Krebsresistenz anzusehen.

Vor kurzem haben wir dann auch versucht, bei Ratten, die gegen das *Jensen-Sarkom* und das *Flexner-Jobling-Carcinom* resistent geworden waren, die Resistenz durch Blockade des „reticuloendothelialen Systems“ aufzuheben. Die Tiere erhielten mehrmals 0,5 ccm einer 1proz. Lösung von Lithiumcarmin oder Trypanblau intravenös oder intraperitoneal injiziert. Anschließend wurde eine reichliche Menge *Jensen-Sarkom-Brei* subcutan geimpft. Trotzdem bekam keine von den 9 untersuchten Ratten ein Sarkom, während die Geschwulst bei allen gleichzeitig beimpften Kontrolltieren anging. Die Blockade des R.E.S. hatte also keinen Einfluß auf die Resistenz. Weiteres Tiermaterial auf solche Versuche zu verwenden, erschien uns nach den bisherigen Ergebnissen nicht lohnend.

Wir haben unsere früheren Befunde über die Bedeutung der Milz und des R.E.S. hier herangezogen und durch neue Untersuchungen ergänzt, weil wir von vornherein verhindern möchten, daß die von uns beobachtete Resistenz ohne weiteres mit diesen Organen in Beziehung gesetzt wird. Nach unseren Ergebnissen ist es durchaus unwahrscheinlich, daß die Milz oder das R.E.S. eine entscheidende Bedeutung für die Krebsresistenz besitzt; vor allem nicht in dem Sinne, daß diese Organe *übertragbare* und damit therapeutisch verwendbare Stoffe gegen die Geschwulst bilden. Die für solche Hypothesen beigebrachten experimentellen Befunde<sup>11</sup> waren weder beweisend noch reproduzierbar. Solange

nicht exakte Befunde vorliegen, die die Bedeutung der Milz usw. für die Krebsabwehr des Organismus wenigstens wahrscheinlich machen, scheinen uns Hypothesen in dieser Richtung nicht vertretbar.

Die Frage, ob überhaupt die Geschwulstabwehr als Leistung eines bestimmten Organs oder Gewebes aufzufassen ist, veranlaßte uns, in einer früheren Arbeit<sup>1</sup> auch die Bedeutung der Nebennieren und Keimdrüsen zu prüfen. Wir gingen dabei, ähnlich wie bei den Untersuchungen über die Rolle der Milz, von der Vorstellung aus, daß Ratten, die gegen eine Geschwulst sicher resistent gemacht sind, ihre Resistenz verlieren müßten, wenn die Nebennieren bzw. Keimdrüsen exstirpiert würden. Die Tiere blieben jedoch sämtlich auch nach diesen Eingriffen resistent.

Deshalb sind wir der Meinung, daß die Krebsresistenz unserer Ratten nicht auf die spezifische Leistung nur eines Organes bezogen werden kann, sondern eine Funktion des ganzen Organismus ist.

Wir haben uns darauf beschränkt, unsere experimentellen Befunde so wiederzugeben, wie sie sich bei unserer Versuchsordnung ergaben und haben absichtlich davon abgesehen, sie auf die Verhältnisse am Menschen zu übertragen oder Parallelen zu ziehen. Dies geschah nicht deshalb, weil wir etwa tierexperimentelle Befunde in dieser Hinsicht für wertlos halten. Vielmehr sind wir der Meinung, daß gerade der Tierversuch wesentlich für die Vertiefung unserer noch geringen Erkenntnis beitragen kann, vor allem bei der Suche nach *Gesetzmäßigkeiten*. Mit der Übertragung auf den Menschen würden wir aber die uns gesetzte Grenze überschreiten. Wir glauben indessen, daß auch der Kliniker aus unseren Befunden manche Anregung für die Beurteilung von Geschwülsten beim Menschen gewinnen kann.

#### *Zusammenfassung.*

1. Durch wiederholte operative Entfernung einer Impfgeschwulst und Wiederbeimpfung bei Ratten wird ein Teil der Tiere gegen erneute Beimpfungen resistent, bei einem anderen Teil wird dagegen eine Metastasierung ausgelöst, die bei nicht operierten Ratten nie zu beobachten war.

2. Auch bei Ratten mit Benzpyrengeschwülsten war die Exstirpation der Primärgeschwulst mit großer Häufigkeit von einer ausgedehnten Metastasierung gefolgt; nicht operierte Ratten entwickelten dagegen niemals Metastasen.

3. Diese Ergebnisse zeigen, daß die Krebsoperation keineswegs nur als lokaler Eingriff anzusehen ist, sondern entscheidende Allgemeinwirkungen hat.

4. *Verschiedene* Geschwulststämme verhielten sich hinsichtlich des Erfolges einer Geschwulstoperation vollkommen verschieden. Beim

*Jensen*-Sarkom war es bei fast allen Tieren leicht möglich, durch Exstirpation der Geschwulst Heilung und später eine absolute Resistenz zu erzielen, beim *Flexner-Jobling*-Carcinom dagegen gingen die operierten Tiere in hohem Hundertsatz an Metastasen zugrunde; diese kamen beim *Jensen*-Sarkom nach Operation nur höchst selten vor.

5. Der gleiche Geschwulststamm verhielt sich dagegen auch bei mehrfacher Wiederholung der Versuche in verschiedenen Jahren stets völlig gleich. Da stets die gleichen Mischrassen-Ratten zur Anwendung kamen, muß das verschiedene Verhalten der verschiedenen Geschwulstarten nach operativen Eingriffen durch eine verschiedene genetische Konstitution der verwendeten *Geschwulst*-Zellarten bedingt sein.

6. Die Neigung des *Flexner-Jobling*-Carcinoms zu metastasieren, ist wahrscheinlich darauf zu beziehen, daß trotz eines gut abgekapselten Wachstums schon frühzeitig Zellen auf dem Lymphwege ausgeschwemmt werden. In der regionären Drüse konnten Geschwulstzellen histologisch nachgewiesen werden.

7. Die durch Geschwulstoperation erzeugte Resistenz ist gegen den gleichen Tumorstamm eine absolute; gegen andere Geschwulststämme besteht ein beträchtlicher relativer Schutz.

8. Die Resistenz wurde durch eine Exstirpation der Milz, der Nebennieren oder Keimdrüsen oder durch Blockade des reticuloendothelialen Systems in keiner Weise verändert. Implantation der Milz einer resistenten Ratte auf ein nichtresistentes Tier erzeugte keine Resistenz. Eine entscheidende Bedeutung dieser Organe für die Krebsresistenz wird daher abgelehnt.

#### Literaturverzeichnis.

- <sup>1</sup> *Druckrey, H.*, Klin. Wschr. **1936** I, 401 u. 433. — *Herken, H.*, u. *B. Rarei*, Arch. f. exper. Path. **190**, 188 (1938). — <sup>2</sup> *Roussy, G.*, Ch. Oberling u. *M. Guérin*, Bull. Assoc. franç. Étude Canc. **25**, 592—610 (1936). — <sup>3</sup> *Druckrey, H.*, Arch. f. exper. Path. **180**, 367 (1936). — <sup>4</sup> *Zakrzewski, Z.*, Bull. internat. Acad. pol. Sci. Cl. Méd. **1937**, Nr 4/6, 153—166. — <sup>5</sup> *Auler, H.*, u. *V. Schilling*, Z. Krebsforsch. **46**, 241 (1937). — <sup>6</sup> *Brock, N.*, *H. Druckrey* u. *H. Hamperl*, Arch. f. exper. Path. **189**, 709 (1938). — <sup>6a</sup> *Wagner, A.*, Z. Krebsforsch. **48**, 40 (1938). — <sup>7</sup> *Schärrer, E.*, Z. Krebsforsch. **46**, 364 (1937). — <sup>8</sup> *Klinke, J.*, Z. Krebsforsch. **46**, 1 (1937). — <sup>9</sup> *Zakrzewski, Z.*, Bull. internat. Acad. pol. Sci. Cl. Méd. **1937**, Nr 4/6, 167—180. — <sup>10</sup> *Druckrey, H.*, Klin. Wschr. **1936**, Nr 12, 401; Nr 13, 433 — Münch. med. Wschr. **1937**, 943. — <sup>11</sup> *Braunstein, A.*, Z. Krebsforsch. **24** (1927); **32** (1930).