

(Aus dem Institut für pathologische Anatomie und experimentelle Krebsforschung der Königlichen Ungarischen Péter Pázmány-Universität in Budapest. — Direktor: Dr. *Ernst v. Balogh*, o. ö. Professor.)

**Beiträge zum biologischen Verhalten
eines durch heteroplastische Transplantation erzielten
(„E.P.“) Rattencarcinomstammes.**

Von

Dr. Julius Putnoky und Dr. Margarete Háry.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 22. März 1937.)

Im November 1928 erhielt Professor Dr. *Ernst von Balogh* durch Vermittlung des Herrn Dr. *L. Karoliny* einen als „Ehrlichsches Mäusecarcinom“ bezeichneten Mäusetumorstamm von Herrn Professor *Silberstein* aus Wien. Dieser Tumor war schon damals von außerordentlich starker Virulenz, wuchs schnell und ging in einer hohen Prozentzahl an. Diesen Stamm impften wir bis jetzt auf mehr als 2000 Tiere in 300 Passagen weiter.

Der Tumor geht in weißen Mäusen in 96—98% an, er tötet die Tiere in durchschnittlich 19 Tagen, in welcher Zeit die Geschwülste ein Gewicht von 11—21 g erreichen. Wir erhalten diesen Tumorstamm durch Überimpfungen in 10tägigen Abständen. Zur Weiterimpfung gebrauchen wir eine Kanüle mit einem Durchmesser von 3 mm und setzen das stecknadelkopfgroße Geschwulstgewebe unter die Rückenhaut der Mäuse ein. Zu einer erfolgreichen Weiterimpfung genügt sogar ein Stück von 0,0020 g. Ungefähr übereinstimmende Ergebnisse (90%) können auch mit der Einspritzung der Tumorzellemulsion unter die Haut erreicht werden. Zu allererst kann man die wachsende Geschwulst am 3. bis 4. Tage als kleines, erbsengroßes Gebilde fühlen. Vom 5. Tage an wächst sie schnell, und zwar formt sie in der ganzen Länge des verursachten Stichganges ein längliches, zylinderförmiges Gebilde. Ihr Wachstum zeigt ein expansives Gepräge, sie kann leicht aus ihrer Umgebung freigelegt werden. Der Tumor verlötet sich oft mit der Haut, wobei ziemlich häufig das über ihm gelegene Hautstück exulceriert. Eine spontane Zurückbildung kann sozusagen nie wahrgenommen werden. Metastasen sind sehr selten zu beobachten. In den Laboratorien des Londoner Imperial Cancer Research Fund sahen wir makroskopische Lungenmetastasen. *Joseph Romhányi*¹ konnte diesen Tumor in die Bauchhöhle, in die Leber und Niere der Mäuse erfolgreich einimpfen. Histologisch ist dieser Tumorstamm ein undifferenziertes Carcinom mit runden Zellen.

Im Jahre 1928 und 1929 waren wir bestrebt, dieses Mäusecarcinom auf Ratten zu überimpfen. Schon in den ersten Versuchen konnten wir regelmäßig das Angehen des Tumors in mit Milchsäure behandelten Ratten beobachten², aber es war nicht möglich, die entstandenen Geschwülste von Ratten auf Ratten zu transplantieren. Erfolgreich war unser Versuch am 19. IX. 1929. — An diesem Tag transplantierte einer von uns kleine Stückchen eines Mäusecarcinoms unter die Haut von

2 weißen Ratten. Der stark nekrotische, nußgroße Tumor des Tieres Nr. 1 wurde auf 4 Tiere ohne Erfolg weitergeimpft. Im Tiere Nr. 2 entwickelte sich ein Nußgröße übertreffendes Carcinom; wir konservierten einen Teil davon in seinen ursprünglichen Farben, während der andere Teil auf 4 Ratten eingepft wurde. In allen 4 Tieren entwickelten sich nuß- bis apfelgroße Krebse. Das Carcinom des Tieres Nr. 1 dieser Serie konnten wir bisher 300 Generationen hindurch lebensfähig erhalten³. Nach der 8. Generation wurden die Ratten mit Milchsäure nicht behandelt.

Den erhaltenen neuen Rattenkrebsstamm impften wir während der vergangenen 7 Jahren immer von Ratten auf Ratten weiter. (Also es ist nicht nötig zum Erhalten dieses Tumorstammes eine Zick-Zack-Impfung zwischen Mäusen und Ratten zu machen, wie es in den Experimenten von Prof. Dr. G. Klein geschah⁴.) Das Verhalten dieses Tumors wurde in mehr als 5000 Ratten beobachtet. Die Verhältnisse des Tumorwachstums, bzw. die Anzahl der durch die Geschwülste getöteten Tiere wird durch die folgende Tabelle dargestellt:

	Von den mit Tumor geimpften Tieren	
	gingen infolge der Geschwülste ein %	blieben am Leben %
1. bis 50. Passage	59	41
51. „ 100. „	75	25
101. „ 150. „	82	18
151. „ 200. „	74	26
201. „ 250. „	78	22

Um diesen Rattenkrebs am Leben zu erhalten impfen wir ihn jeden 8. Tag weiter. Aus dem Tumor des mit Äther betäubten Tumortieres schneiden wir unter strengsten sterilen Maßnahmen Stücke von 0,3—0,5 g aus. Die Herausnahme nehmen wir immer in der Wachstumszone, an einer nekrosenfreien Stelle der Geschwulst vor. Die ausgeschnittenen Geschwulstteile legen wir in einen zwischen dem Unterhautbindegewebe und der Muskulatur bereiteten Raum von jungen weißen Ratten (jedoch von etwa 100—110 g Körpergewicht). Nach der Einimpfung der Geschwulst erhalten die Tiere bloß aus Brot bestehende Nahrung. Die wachsenden Tumoren können zum erstenmal am 5. Tage getastet werden in Form von massiven, bohngroßen Knoten. Von da an wachsen sie rapid und verursachen in 14—15 Tagen den Tod der Tiere.

Das durchschnittliche Gewicht der voll entwickelten Geschwülste war beim Eingehen der Tiere wie folgt:

1. bis 50. Passage	38 g
51. „ 100. „	35 g
101. „ 150. „	33 g
151. „ 200. „	30 g
201. „ 250. „	54 g

Dies bedeutet durchschnittlich 38 g. Stellen wir das Durchschnittsgewicht der geimpften Tiere auf 110 g, so bilden die Geschwülste 34% davon. Die Wachstumsintensität der Tumoren wird durch untenstehende Daten gezeigt, welche das durchschnittliche Gewicht der zu verschiedenen Zeitabschnitten nach der Impfung des Tumors eingegangenen Tiere darstellten:

Die seit der Einimpfung des Tumors vergangene Zeit	Das Durchschnitts- gewicht der Tumoren	Die seit der Einimpfung des Tumors vergangene Zeit	Das Durchschnitts- gewicht der Tumoren
8. Tag	13 g	15. Tag	38 g
9. „	22 g	16. „	41 g
10. „	23 g	17. „	44 g
11. „	28 g	18. „	47 g
12. „	31 g	19. „	47 g
13. „	35 g	20. „	65 g
14. „	35 g		

Die Geschwülste wachsen expansiv im Unterhautbindegewebe. Aus ihrer Umgebung können sie leicht freigelegt werden. Sie bilden keine Metastasen. Auf ihrer Schnittfläche erscheinen vom 8. Tage an stets Nekrosen in zunehmender Ausdehnung; anfangs sind es nur nadelstichgroße und stecknadelkopfgroße, zerstreute Herde, doch beim Eingehen der Tiere machen sie schon $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$ der Tumorsubstanz aus. Die Haut über den schnell wachsenden Geschwülsten ist infolge Dehnungsatrophie glatt, glänzend, haarlos, mit einem durchschimmernden subcutanen deutlichen Gefäßnetz. Eine Exulceration der Haut tritt selten ein; in solchen Fällen kommt es vor, daß die Geschwulst sich gänzlich abstößt. Das eingepflichte Carcinom fängt in der Regel in allen Tieren an zu wachsen, doch in einem Teil der Tiere beendet der neue Tumor am 8. bis 10. Tage sein Wachstum und bildet sich zurück. Die gut wachsenden und zu einer Rückbildung nicht geneigten Geschwülste sind massiv, sie liegen straff fixiert unter der Haut und können nur schwer bewegt werden. Demgegenüber sind die zur Rückbildung neigenden Tumoren in der Regel von stark behaarter Haut bedeckt, sie sind weicher und leichter zu bewegen.

Nach unseren bisherigen Erfahrungen zeigt dieser Tumorstamm das oben beschriebene Verhalten nur gegenüber hier in Ungarn gezüchteten weißen Ratten. Er konnte in der Kinderklinik (*Mészöly* und *Sonnauer*), in der Dermatologischen Klinik (*Pastinszky*³⁾, in der I. Chirurgischen Klinik (*Matolcsy*³⁾ und in der III. Medizinischen Klinik (*Sellei*²⁾ der Universität in Budapest tadellos am Leben erhalten werden. Es gelang nicht in Deutschland (Dr. *G. Klein*), England (Dr. *W. Cramer*) und Dänemark (Dr. *J. Clemmesen*) ein entsprechendes gutes Wachstum des Tumors zu erreichen. In den Laboratorien des Londoner Imperial Cancer Research Fund gingen die Geschwülste fast in 100% an, bis zum 10. Tage wuchsen sie rapid, doch nachher bildeten sie sich regelmäßig zurück.

Wurde die Weiterimpfung des Tumors mit der Emulsionsmethode versucht, so gingen nur 21% der Tiere durchschnittlich am 20. Tage nach der Einimpfung ein, infolge eines Tumors von 30 g. *Joseph Romhányi*¹⁾ spritzte die Krebszellenemulsion in Gehirn, Brusthöhle, Lunge, Bauchhöhle, Milz, Niere, Leber und Hoden von Ratten ein. Ein Tumorwachstum konnte im Gehirn, in der Bauchhöhle und in der Niere beobachtet werden. Wir konnten unseren Rattenkrebsstamm mit *Berkefeld*-Filtrat nicht überimpfen.

Dieser Rattenkrebsstamm kann auch jetzt mit 100proz. Erfolg von Ratten auf Mäuse zurückgeimpft werden. Ebenso kann auch der ursprüngliche Mäusekrebsstamm gegenwärtig stets auf normale Ratten transplantiert werden.

Der Tumor verursacht bei den Ratten während seines Wachstums eine hochgradige Anämie²⁾. Die Blutkörperchengeschwindigkeit ist schon am ersten Tage nach der Tumoringung erhöht, in den folgenden Tagen geht diese Veränderung wieder zurück; vom 8. Tage an wird die Senkung manchmal allmählich, manchmal plötzlich wieder schneller und erreicht das 2—3fache, oft das 7—8fache des Ausgangswertes (*Zih*³⁾. Am 10. Tage nach der Tumoringung be-

ginnt die Vermehrung der zirkulierenden Blutmenge und diese Vermehrung steht mit dem Wachstum des Tumors in geradem Verhältnis (*Háry*⁹). Wir konnten bei Ratten, in deren Geschwülsten künstliche Nekrosen hervorgerufen wurden, eine gesteigerte Anämie beobachten. Die Emulsionen und Ätherextrakte von ausgedehnt nekrotischen Tumoren verursachten bei gesunden Ratten eine Blutarmut². *Sümeği*¹⁰ konnte feststellen, daß die Anämie unserer Tumorratten durch die höheren Fettsäuren verursacht wird.

In den Tumortieren wurde eine Leber- und Nierenfunktionschädigung beobachtet (*Putnoky* und *Sümeği*¹¹). Als Ursache der Leberschädigung scheinen der Fettumsatz (*Balogh*¹²) des durch Krebs befallenen Organismus und die Eiweißstoffe der nekrotischen Tumoren (*Háry* und *Sárkányi*¹³) eine wichtige Rolle zu spielen. Störungen des Wasser-, Kochsalz-, Cholesterinstoffwechsels (*Sümeği*¹⁴), des Kupfer- und Eisenhaushaltes (*Sümeği*¹⁵, *Joseph Romhányi* und *M. Schmidt*¹⁶), des Fettstoffwechsels (*Háry*¹⁷) entstehen. An das hepato-renale Syndrom (nach *Sümeği*¹⁸) schließt sich die Hyperfunktion der Schilddrüse mit Steigerung des Grundumsatzes, der Adrenalinempfindlichkeit und der Oxygenempfindlichkeit (*Sümeği* und *Toth*¹⁹). In der 1. Woche des Tumorwachstums konnte *Sümeği* eine kompensierte, in der 2. Woche eine inkomensierte Alkalose und vor dem Tode der Tiere eine kompensierte Acidose feststellen²⁰. Das in den Tumorratten festgestellte thyreo-hepato-renale Syndrom nach *Sümeği* scheint für die Tumorkrankheit spezifisch zu sein, da es unmöglich war, diesen Symptomenkomplex durch chemische Substanzen hervorzurufen²⁶.

Infolge des Tumorwachstums vermindert sich die natürliche Resistenz unserer Carcinomratten gegen bakterielle Infektionen (*v. Balogh*^{21, 22}). Eine Erklärung für diese Erscheinung ist nach *E. v. Balogh* in der schweren Anämie und vielleicht in der Leberschädigung zu suchen.

Wie ersichtlich, verursacht also unser mit „E.P.“ bezeichneter Rattencarcinomstamm unter andauerndem Wachstum in 59—82% den Tod der geimpften Tiere. Da die selbständige Zurückbildung eines Teiles der Tumoren hauptsächlich unsere biochemischen Versuche oft unangenehm gestört hatte, versuchten wir den Tierorganismus derart umzustimmen, daß er in größerem Maße für die Aufnahme der Geschwulst und ihre weitere Entwicklung empfänglich werde. Auf Grund der Beobachtungen von *Flexner*, *Jobling*²³ und *Albert Casey*²⁴ gingen wir zu Beginn unserer Versuche folgendermaßen vor: Von dem Brei großgewachsener, viel Nekrosen enthaltender, häufig den Tod des Tieres verursachender Geschwülste verdünnten wir 2,5 g in 15 ccm physiologischer Kochsalzlösung; die erhaltene Emulsion stellten wir an zwei aufeinanderfolgenden Tagen auf je 1 Stunde in ein 56-, 70- und 100°iges Wasserbad, 2 ccm des so gewonnenen Impfstoffes spritzten wir anfangs 10 Tage vor der Transplantation der Geschwulst unter die Oberschenkelhaut der Tiere. Zur Kontrolle stellten wir gleich viel ungeimpfte Tiere in unseren Versuch ein. Die Untersuchungen führten wir an 2 Rattenkrebsstämmen durch (Stamm „E.P.“ und Stamm „T.M.“, beide sind Rattencarcinom, hervorgerufen durch heteroplastische Transplantation von Mäusecarcinom auf Ratten). Jede Versuchsserie wiederholten wir zumindest 3mal, um die Versuchsfehler womöglich zu vermindern.

Die Erfolge unserer ersten Versuchsserien sind in untenstehender 1. und 2. Tabelle zusammengefaßt:

Tabelle 1. „E.P.“ Rattencarcinom.

	Zahl der infolge des Tumors ein- gegangenen Tiere	Lebens- dauer	Tumor- gewicht	Unterschied der Tumorgewichte gegenüber dem Tumorgewicht d. Kontrolltiere
	%	Tage	g	%
Kontrolltiere	69	13	28	—
2 ccm der bei 56° abgetöteten Tumorzellenemulsion, einge- impft 10 Tage vor Tumor- transplantation	69	15	45	60
Bei 70° abgetötete Tumorzell- emulsion, dosiert wie oben.	69	13	38	35
Bei 100° abgetötete Tumorzell- emulsion, dosiert wie oben.	48	14	43	53

Tabelle 2. „T.M.“ Rattencarcinom.

Kontrolltiere	48	11	18	—
2 ccm der bei 56° abgetöteten Tumorzellenemulsion, einge- impft 10 Tage vor Tumor- transplantation	87	16	58	220
Bei 70° abgetötete Tumorzell- emulsion, dosiert wie oben	59	15	20	11
Bei 100° abgetötete Tumorzell- emulsion, dosiert wie oben	20	30	24	33

Demnach beeinflussten die im Wasserbad von 56—70° hergestellten Emulsionen die Transplantationsresultate des einen unserer Rattentumorstämmen nicht, die des anderen verbesserten sie. Demgegenüber setzte der im Wasserbad von 100° gehaltene Impfstoff die Ausbeuten der Tumorphysungen in beiden Tumorstämmen herab. Die erwähnten Impfstoffe übten jedoch auf das durchschnittliche Gewicht der Tumoren einen großen Einfluß aus. In bezug auf die Tumorgewichte der Kontrolltiere konnte nämlich der bei 56° gewonnene Impfstoff das Gewicht der entwickelten Geschwülste um 60- bzw. 220%, der bei 70° gewonnene Stoff um 35 bzw. 11% und schließlich der bei 100° gewonnene Stoff um 53 bzw. 33% steigern.

Eine Erklärung über diese Versuchsergebnisse ist schwer zu finden. Laut *Caspari*²⁵ üben die Nekrohormone ihre Wirkung auf das reticuloendotheliale System aus, indem sie in kleinen Dosen das reticuloendotheliale System reizen, in großen Dosen lähmen. Wiederholte Reizdosen lähmen jedoch schließlich das System, doch kann es noch im gelähmten Zustand auf einen entsprechenden Reiz mit einer Hyperkompensation reagieren. Die gesteigerte Funktion des R.E.S. bedeutet einen Schutz gegenüber Tumoren, das gelähmte R.E.S. eine Schutz-

losigkeit. Da wir in unseren Versuchen die Zunahme des Tumorgewichtes beobachteten, weist dies auf eine verminderte Funktion des R.E.S. hin. Wenn wir auch annehmen, daß 2 ccm des Impfstoffes, 10 Tage vor der Tumortransplantation gereicht, das R.E.S. zu lähmen imstande sind, ist es doch unwahrscheinlich, daß die lähmende Wirkung 10 Tage lang andauern kann, da das R.E.S. eine ziemlich schnelle Regenerationsfähigkeit besitzt. Wenn bei der Einimpfung des Tumors ein gelähmtes R.E.S. vorhanden gewesen wäre, hätten wir auch eine gesteigerte Häufigkeit von erfolgreichen Transplantationen wahrnehmen müssen; dies konnten wir jedoch nur bei einem unserer Tumorstämme verzeichnen. Man konnte auch annehmen, daß der langsam absorbierte Impfstoff auf das R.E.S. eine Reizwirkung ausgeübt hat; da sich dieser Wirkung noch die Reizwirkung der aus dem eingepfunden Tumorstück absorbierten Stoffe anschließt, kann die Summation dieser beiden Einwirkungen die Lähmung des Systems verursacht haben. Wenn diese Annahme richtig ist, wäre die Einsetzung der Geschwulst in Tiere mit gesteigerter R.E.S.-Funktion erfolgt, was sich in einer Verminderung der Impfausbeuten geäußert hätte, doch trat dies nur nach Einfluß des bei 100° gewonnenen Stoffes ein. So können die Versuchsergebnisse mit der Nekrohormontheorie *Casparis* nicht befriedigend erklärt werden.

Wir versuchten dieser Frage näherzukommen mit der Steigerung der Dosis des Impfstoffes, wobei wir 10 Tage vor der Einimpfung der Geschwülste in einen Teil der Tiere 2 ccm, in den anderen Teil 6 ccm des auf 56° erwärmten Stoffes einspritzten. Unsere Überlegung war, daß im Falle die Lähmung des R.E.S. die Resultate der ersten Versuche verursacht hätte, eine starke Hebung der Dosis eine Steigerung dieser Wirkung herbeiführen würde; dies müßte dann eine große Erhöhung des Prozentsatzes von gelungenen Transplantationen und der Tumorgewichte zur Folge haben. Wenn jedoch 2 ccm Impfstoff durch Reizung des R.E.S. wirksam wären, so müßte die stark erhöhte Dosis diese Wirkung in eine Lähmung umschlagen, wobei wir den Resultaten der ersten Versuchserien entgegengesetzte Wirkungen erhalten würden.

Tabelle 3. „E.P.“ Rattentumor.

	Zahl der infolge des Tumors eingegangenen Tiere %	Lebens- dauer Tage	Tumor- gewicht g
2 ccm des bei 56° abgetöteten Stoffes, ein- geimpft 10 Tage vor Tumortransplantation	84	16	29
6 ccm des obigen Stoffes	84	14	32

Tabelle 4. „T.M.“ Rattentumor.

2 ccm des bei 56° abgetöteten Stoffes, ein- geimpft 10 Tage vor Tumortransplantation	92	14	45
6 ccm des obigen Stoffes	92	14	43

Die Daten der 3. und 4. Tabelle zeigen aber, daß die Häufigkeit der positiven Tumortransplantationsresultate in den mit 2 und 6 ccm geimpften Tieren vollkommen übereinstimmte. Das Tumorgewicht wurde aber in einem Geschwulststamm von einer 6 ccm Dosis, im anderen von einer 2 ccm Dosis erhöht. So konnte die erreichte Wirkung mit der Erhöhung der Dosis nicht wesentlich beeinflußt werden.

Im Laufe unserer weiteren Versuche änderten wir die Zeit der Gaben so, daß wir 2 ccm Impfstoff in einem Teil der Tiere 10 Tage, in dem anderen Teil 2 Tage vor der Einpflanzung der Geschwülste, in dem 3. Teil der Tiere jedoch 2 Tage nach der Tumorimpfung einspritzten, wobei die lähmende oder reizende Wirkung hauptsächlich in den beiden letztgenannten Fällen auffallend stark erscheinen mußte.

Tabelle 5. „E.P.“ Rattentumor.

	Zahl der infolge des Tumors eingegangenen Tiere	Lebens- dauer	Tumor- gewicht	Unterschied der Tumorgewichte
	%	Tage	g	%
2 ccm des bei 56° abgetöteten Stoffes, eingeimpft 10 Tage vor der Tumorimpfung . .	69	12	23	—
2 Tage vor der Tumorimpfung	69	11	25	—
2 Tage nach der Tumorimpfung	69	14	34	41

Tabelle 6. „T.M.“ Rattentumor.

2 ccm des bei 56° abgetöteten Stoffes, eingeimpft 10 Tage vor der Tumorimpfung . .	100	12	30	—
2 Tage vor der Tumorimpfung	92	12	36	—
2 Tage nach der Tumorimpfung	100	15	42	27

Die 5. und 6. Tabelle zeigt, daß in den zu drei verschiedenen Zeitpunkten geimpften Tieren die Tumoren in gleicher Häufigkeit angingen. Doch wurden die Krebse in den Tieren, die 2 Tage nach der Transplantation behandelt wurden, viel größer (41 und 27%) als in den beiden anderen Tiergruppen. Sowohl *Sümeği* als auch einer von uns (*Putnoky*) beobachteten schon bei der Gelegenheit früherer Versuche interessante Störungen des Reaktionsmechanismus der Tiere 2—4 Tage nach der Einimpfung der Geschwülste: eine vorübergehende Erhöhung der Zahl der roten Blutkörperchen, die ebenfalls vorübergehende Steigerung des Grundumsatzes und der Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit, die Verminderung der Galaktosetoleranz usw.; dies wird zweifellos von den Stoffen, die aus dem eingesetzten und teilweise abgestorbenen Geschwulstgewebe resorbiert werden, verursacht. Diese Symptome verschwinden in einigen Tagen, doch erscheinen sie im Laufe des weiteren Tumorwachstums zu späteren Zeitpunkten in ernsterer Form wieder. Man kann sich

vorstellen, daß sich diese Wirkung des eingesetzten Tumors dem wahrscheinlich ähnlichen Einfluß des abgetöteten Tumorstoffes anschließt; diese beiden Faktoren bringen im Tierorganismus Veränderungen hervor, welche das Tier für die Aufnahme und für die Entwicklung der Geschwulst besonders empfänglich machen.

Wir versuchten auch diese Wirkung mit der Erhöhung der Menge des Impfstoffes zu beeinflussen.

Tabelle 7. „E.P.“ Rattenkrebs.

	Angehen %	Lebens- dauer Tage	Tumor- gewicht g
2 cem Impfstoff 10 Tage vor der Tumortransplantation	75	10	25
2 cem Impfstoff 2 Tage nach der Tumortransplantation	75	16	32
6 cem Impfstoff 2 Tage nach der Tumortransplantation	75	14	28

Tabelle 8. „T.M.“ Rattentumor.

2 cem Impfstoff 10 Tage vor der Tumortransplantation	87	10	33
2 cem Impfstoff 2 Tage nach der Tumortransplantation	75	12	38
6 cem Impfstoff 2 Tage nach der Tumortransplantation	75	12	39

Die Daten der 7. und 8. Tabelle zeigen, daß die Erhöhung der Dosis in einem Tumorstamm wirkungslos war und in dem anderen die Resultate verschlechterte.

Da bei der Deutung der Wirkung der 2 Tage nach der Einimpfung der Geschwulst verabreichten nekrohormonartigen Stoffe sich auch die Möglichkeit einer sich direkt gegen die Krebszellen wendenden Wirkung aufwarf, versuchten wir diese Frage in folgender Weise zu klären: Wir spritzten 2 cem des auf 56° erwärmten Impfstoffes 10 und 2 Tage vor der Einsetzung der Geschwulst bzw. 2 Tage nach ihr in die Impfstelle des Krebses ein.

Tabelle 9. „E.P.“ Rattencarcinom.

	Angehen %	Lebens- dauer Tage	Tumor- gewicht g
2 cem Impfstoff in die Impfstelle des Tumors geimpft 10 Tage vor der Tumortransplantation	63	15	23
Das gleiche, 2 Tage vor der Tumortransplantation	50	15	24
Das gleiche, 2 Tage nach der Tumortransplantation	46	12	21

Tabelle 10. „T.M.“ Rattencarcinom.

	Angehen %	Lebens- dauer Tage	Tumor- gewicht g
2 cem Impfstoff in die Impfstelle des Tumors geimpft 10 Tage vor der Tumortransplantation	84	12	32
Das gleiche, 2 Tage vor der Tumortransplantation	75	16	40
Das gleiche, 2 Tage nach der Tumortransplantation	72	14	38

Die 9. und 10. Tabelle weist deutlich auf, daß das Angehen des Tumors in den 2 Tage vor und nach der Geschwulsteinpflanzung behandelten Tieren wesentlich seltener eintrat als in den 10 Tage vor dem Eingriff behandelten Tieren. Am schlechtesten waren die Verhältnisse in den nach der Geschwulsteinimpfung behandelten Tieren.

Dieses Versuchsergebnis konnte auf zweierlei Art erklärt werden: 1. war es anzunehmen, daß der Impfstoff an der Impfstelle des Carcinoms die Gewebe in bezug auf die Geschwulst ungünstig beeinflußt; 2. mußten wir an eine sich direkt gegen die Krebszellen richtende ungünstige Wirkung denken. Um diese Frage zu entscheiden, impften wir in unseren weiteren Versuchen einen Teil der Tiere mit in physiologischer Kochsalzlösung emulgierten Tumorzellen, den anderen Teil der Tiere mit in einem nekrohormonartigen Stoff emulgierten Tumorzellen; die zur Kontrolle gebrauchten Tiere impften wir in der gewöhnlichen Weise nur mit Tumorstückchen.

Tabelle 11. „E.P.“ Rattencarcinom.

	Angehen %	Lebens- dauer Tage	Tumor- gewicht g
Mit Tumorstückchen geimpfte Tiere	40	9	25
Mit in NaCl emulgierten Tumorzellen geimpfte Tiere	10	12	18
Mit in einem nekrohormonartigen Stoff emulgierten Tumorzellen geimpfte Tiere	40	16	23

Tabelle 12. „T.M.“ Rattencarcinom.

Mit Tumorstückchen geimpfte Tiere	90	11	31
Mit in NaCl emulgierten Tumorzellen geimpfte Tiere	50	14	21
Mit in einem nekrohormonartigen Stoff emulgierten Tumorzellen geimpfte Tiere	60	13	23

Unsere Beobachtungen erweisen, daß bei unserem einen Tumorstamm die mit dem nekrohormonartigen Stoff bereitete Tumorzellenemulsion mit gleicher Häufigkeit (40%) Geschwülste verursachte wie die Ein-

impfung des Tumorstückes (40%), während zu gleicher Zeit die Zell-
emulsion in NaCl-Lösung viel schlechtere Ergebnisse aufwies (10%).
Auch bei unserem anderen Geschwulststamm erzielten die in dem nekro-
hormonartigen Stoff emulgierten Tumorzellen um 10% häufiger tödliche
Krebse als die Kochsalzemulsion. So müssen wir eine schädliche Wir-
kung, die sich direkt gegen die Geschwulstzellen richtet, ausschließen.

Die von uns gebrauchten abgetöteten Geschwulststoffe beeinflussten
also das Wachstum der Krebse in günstiger Weise. Es war notwendig,
festzustellen, ob diese Wirkung eine charakteristische Eigenschaft des
Krebsgewebes ist oder ob jedes mit Hitze abgetötete Gewebe ähnliche
Wirkungen ausüben kann. Um dies festzustellen, führten wir mit den
oben angeführten Versuchen in allem übereinstimmende Experimente
aus, mit dem Unterschied, daß wir statt des abgetöteten Tumorstoffes
Leber-, Nieren- und Gehirnemulsionen verwendeten.

Die mit dem abgetöteten Lebergewebe ausgeführte Behandlung be-
einflußte das Tumorgewicht nicht. Hingegen gingen in den 2 Tage nach
der Geschwulsteinimpfung behandelten Tieren die Tumoren seltener an
als in den Kontrollen. Eine ähnliche Wirkung übten die abgetöteten
Nierenzellen aus, unabhängig davon, ob die Tiere vor oder nach der Ge-
schwulsttransplantation eingepft wurden. Die mit der Gehirnemulsion aus-
geführten Versuche ergaben keine einheitlichen Resultate, doch war auch
hier hauptsächlich in den nach der Tumoreinimpfung behandelten Tieren
das Angehen der Geschwülste seltener. Die das Wachstum der Geschwülste
fördernde Wirkung ist also die spezifische Eigenschaft des Tumorgewebes,
während normale Gewebe eher eine gewisse Immunität hervorrufen.

Tabelle 13. „E.P.“ Rattentumor.

	Angehen %	Lebens- dauer Tage	Tumor- gewicht g
Nicht vorbehandelte Tiere	68	12	26
2 ccm Leberzellemlusion, 10 Tage vor der Tumor- transplantation eingepft	72	15	26
Dasselbe, doch 2 Tage nach der Tumortrans- plantation eingepft	55	18	28
Nicht vorbehandelte Tiere	69	19	23
2 ccm Nierenzellemlusion, 10 Tage vor der Tumortransplantation eingepft	45	16	28
Dasselbe, doch 2 Tage nach der Tumortrans- plantation eingepft	63	12	21
Nicht vorbehandelte Tiere	75	10	25
2 ccm Gehirnzellemlusion, 10 Tage vor der Tumortransplantation eingepft	80	11	31
Dasselbe, doch 2 Tage nach der Tumortrans- plantation eingepft	60	11	27

Tabelle 14. „T.M.“ Rattentumor.

	Angehen %	Lebens- dauer Tage	Tumor- gewicht g
Nicht vorbehandelte Tiere	86	11	32
2 cem Leberzellemlusion, 10 Tage vor der Tumor- transplantation eingepft	86	12	35
Dasselbe, doch 2 Tage nach der Tumortrans- plantation eingepft	78	14	34
Nicht vorbehandelte Tiere	85	11	36
2 cem Nierenzellemlusion, 10 Tage vor der Tumortransplantation eingepft	63	9	28
Dasselbe, doch 2 Tage nach der Tumortrans- plantation eingepft	75	9	24
Nicht vorbehandelte Tiere	100	10	28
2 cem Hirnemulsion, 10 Tage vor der Tumor- transplantation eingepft	94	10	27
Dasselbe, doch 2 Tage nach der Tumortrans- plantation eingepft	94	11	28

Diese Versuchsergebnisse bieten gegenüber der Nekrohormon- bzw. der sog. vaccineartigen Behandlung der bösartigen Geschwülste große Vorsicht, da statt einer gesteigerten Funktion des reticuloendothelialen

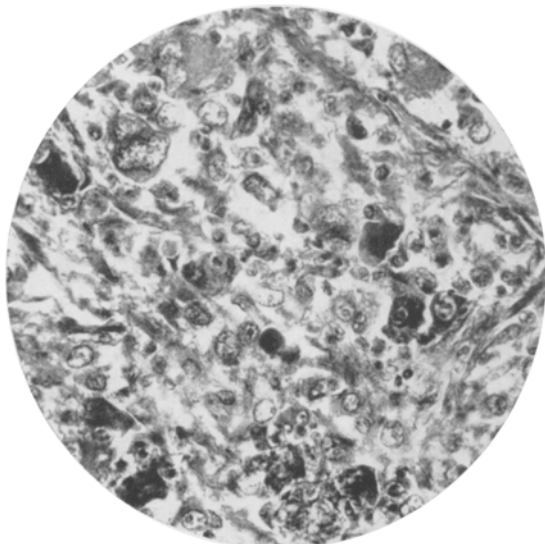


Abb. 1.

Systems, d. h. statt eines gesteigerten Schutzes gegen Geschwülste gerade eben das Entgegengesetzte eintreten kann, nämlich eine Förderung des Tumorwachstums. Es wäre wichtig und interessant, festzustellen, was der Grund dafür ist, daß natives Geschwulstgewebe eine Immunität gegenüber Tumoren verursacht, während es durch Hitze abgetötet eine geradezu entgegengesetzte Wirkung auslöst; des weiteren, was die Gegensätz-

lichkeit zwischen der Wirkung von mit Hitze abgetöteten normalen und ebenso behandelten Geschwulstgewebe verursacht. Schließlich wäre es auch interessant, zu erfahren, welche Veränderungen die nekrohormonartigen Stoffe in der inneren Beschaffenheit des Organismus verursachen.

Eine Beantwortung dieser Fragen könnte vielleicht auch einen Einblick in das Wesen der Geschwulstdisposition gewähren.

Die Immunitätsverhältnisse unseres Rattentumorstammes untersuchte einer von uns (*Putnoky*) in dem Institute des Imperial Cancer Research Fund in London. Die Ergebnisse dieser Experimente werden in englischer Sprache mitgeteilt werden. Wir wollen hier nur erwähnen, daß unsere Untersuchungsergebnisse mit denen von *G. Klein* nicht übereinstimmen, denn wir konnten feststellen, daß unser Rattencarcinom imstande ist, gegen andere Rattentumorstämme eine Immunität hervorzurufen.

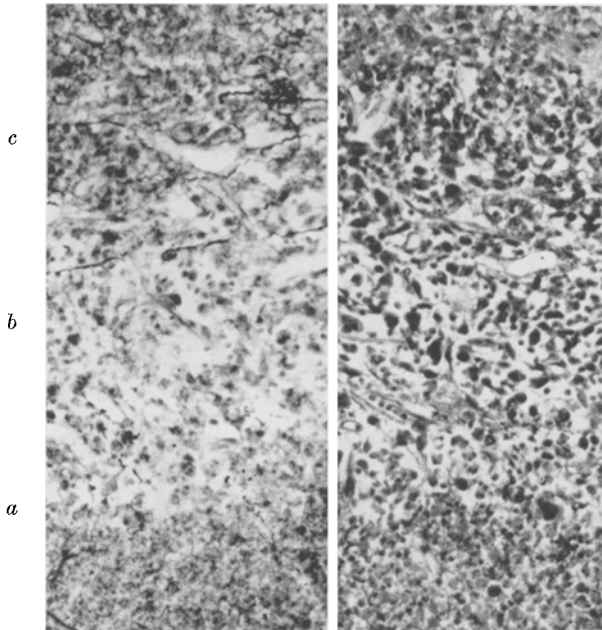


Abb. 2. Transplantat des „E.P.“-Tumors. 48 Stunden nach der Transplantation. Links = Imprägnation; Rechts = Hämatoxylin-cosin-Färbung. *a* = Nekrotische Oberfläche des Implantats; *b* = Auswanderungszone ohne Fibrillen; *c* = Die Geschwulstzellen infiltrieren das umgebende Bindegewebe des Wirtsorganismus, wodurch die Geschwulst ihr neues Stroma erhält. Auch die feineren Silberfasern entsprechen präexistente Fasern.

Histologisch besteht unser Rattentumor aus undifferenzierten runden Zellen (Abb. 1). Die histologische Struktur entspricht vollkommen der des ursprünglichen Mäusecarcinoms. Diese Rattentumorzellen haben die Fähigkeit in Gewebekulturen Trypanblaukörnchen einzuverleiben; die Zellen bindegewebigen Ursprungs tun das nicht. *Georg Rományi* konnte in unserem Institut feststellen, daß in der Wachstumszone der jungen Tumoren keine durch Silberimprägnation nachweisbaren Fibrillen vorkommen; nur später, wenn die Geschwulst die Gewebe des Wirtsorganismus als Stroma benützt, sind Fibrillen in den Tumoren nachweisbar (Abb. 2). Auf Grund dieser Beobachtungen sind wir der Meinung, daß unser Rattentumor ein Carcinom ist.

Wir denken, daß auch andere Tatsachen unsere Auffassung bekräftigen können. Die Struktur des ursprünglichen Mäusetumors spricht nicht gegen ein Carcinom. In den histologischen Präparaten eines spontanen Mäusecarcinoms

(gefunden von Dr. *T. Matolcsy*⁶) konnten wir die allmähliche Umwandlung des Adenocarcinoms in einen undifferenzierten rundzelligen Krebs beobachten. Im letzten Stadium war die histologische Struktur dieses Tumors ganz ähnlich der unseres ursprünglichen Mäusetumors. Bei unserer heteroplastischen Transplantation von Mäusen auf Ratten spielte ein spontaner Rattentumor keine störende Rolle, da keine spontanen malignen Geschwülste in unseren Ratten vorkamen, der Mäusetumor in den Ratten regelmäßig anging, die neuen Tumoren nach einer kurzen Inkubationszeit immer an der Stelle der Transplantation entstanden und die histologische Struktur beider Tumoren identisch ist. Diese Heterotransplantation war kein Zufall. Es war also möglich, das oben erwähnte, von Dr. *T. Matolcsy*⁶ gefundene Mäusecarcinom auf Ratten zu überimpfen. Wir konnten diesen zweiten Rattentumor in mehr als 500 Tieren durch 97 Generationen in Ratten am Leben erhalten. Nachstehende Daten zeigen das Verhalten dieses Tumorstammes:

	Von den mit Tumor geimpften Tieren		Durchschnitts- gewicht des Tumors g
	gingen infolge des Tumors ein %	blieben am Leben %	
28. bis 37. Passage . . .	64	36	30
38. „ 47. „ . . .	67	33	42
48. „ 57. „ . . .	77	23	48
58. „ 67. „ . . .	94	6	62
68. „ 77. „ . . .	95	5	60

Das histologische und biologische Verhalten dieses Rattentumorstammes entspricht vollkommen dem unseres Rattencarcinomstammes.

Unser Rattentumor zeigt immer ein expansives Wachstum; hingegen wachsen die Rattensarkome nach den Angaben des Schrifttums infiltrierend. Unser Tumor verursacht in den Ratten eine hochgradige Anämie und eine intensive Störung der Funktionen von inneren Organen; diese Veränderungen — hervorgerufen durch Sarkome — sind viel geringfügigerer Natur. Unser Rattentumor kann zu beliebiger Zeit in Mäuse zurückgeimpft werden; seine Virulenz ist viel größer in Mäusen als in Ratten. Also die Immunitätsverhältnisse dieses Rattentumorstammes zeigt gewisse Ähnlichkeit mit dem Verhalten eines Mäusetumors. Darum denken wir, daß es uns gelang, ein Mäusecarcinom auf Ratten zu überimpfen und so einen neuen Rattentumor hervorzurufen, den wir bis jetzt 300 Generationen hindurch in Ratten am Leben erhalten konnten. Wir sind der Meinung, daß dieser Rattentumor ein Carcinom ist, und wir können nicht mit *G. Klein* einverstanden sein, der von unserem Rattentumor in seiner kurz vorher in dieser Zeitschrift erschienenen Mitteilung als von einem Sarkom spricht*.

Wir kennen die Ursachen unserer gelungenen Heterotransplantation nicht. Wir glauben, daß die starke Virulenz des ursprünglichen Mäusecarcinoms, die angewandte Technik, die entsprechende Empfänglichkeit unserer Ratten sowie ihre einseitige Diät eine wichtige Rolle in diesen Experimenten spielten.

Zusammenfassung.

1. Der Arbeit liegen Versuche mit einem Ehrlichschen Mäusecarcinom zugrunde, das von *Putnoky* auf Ratten transplantiert worden war

* Vgl. *Z. Krebsforsch.* 44, 240 und auch die Abhandlung von *Klinke*, Versuche zur Tumormunität in diesem Heft, in der der *Ehrlich-Putnoky-Tumor* auch als Sarkom bezeichnet wird. *Dietrich*.

und seither durch viele Überimpfungen auf Ratten fortgezüchtet wurde. Es wächst mit großer Geschwindigkeit und mit einem hohen (82 %) Impferfolg. Außer hochgradiger Anämie bewirkt er auch funktionell festgestellte Leber- und Nierenschädigung.

2. Der mikroskopische Bau dieses Rattentumors zeigt Rundzellen in dichter Lagerung, also höchste Entdifferenzierung. Aber er läßt auch in der 300. Überimpfung sich besonders auf Grund seines biologischen Verhaltens noch als krebsige Neubildung bezeichnen. Damit wird eine vollständige Heterotransplantation des Ehrlichschen Mäusecarcinoms auf Ratten festgelegt.

3. Die Einwirkung der durch Hitze abgetöteten Tumorzellemulsionen auf das Wachstum von zwei Rattentumorstämmen (E.P.- und T.M.-Rattentumor) bestanden darin, daß die Einspritzung von bei 100° abgetöteter Tumoremulsion 10 Tage vor der Tumorüberimpfung das Angehen der Geschwülste verminderte.

4. Durch Vorbehandlung mit der im Wasserbad bei 56° gehaltener Tumoremulsion wurde das Durchschnittsgewicht der Impftumoren (E.P.- bzw. T.M.-Tumoren) in Ratten um 60 bzw. 220%, bei 70° um 35 bzw. 66%, bei 100° um 53 bzw. 33% gegenüber den Kontrolltieren gesteigert.

5. Diese Wirkung konnte durch die Erhöhung der Dosis nicht verstärkt werden.

6. Am wirksamsten erwiesen sich die 2 Tage nach der Tumortransplantation durchgeführten Injektionen.

7. Wurden die Injektionen auf die Stelle der Tumorimpfung gegeben, so gingen die Geschwülste seltener an.

8. Eine Aufschwemmung von lebenden Carcinomzellen in inaktiviertem Tumormaterial erzeugt öfters ein Tumorwachstum als die Aufschwemmung derselben in physiologischer Kochsalzlösung.

9. In den mit erhitzten Emulsionen von Leber-, Nieren- und Gehirnzellen behandelten Ratten gingen die Krebse seltener an als in den Kontrolltieren, aber es war nicht möglich, einen Unterschied zwischen den Tumorgewichten zu beobachten.

Literaturverzeichnis.

- ¹ Verh. ung. path. Ges. **1934**. — ² Z. Krebsforsch. **39** (1933). — ³ Z. Krebsforsch. **32** (1930). — ⁴ Z. Krebsforsch. **44** (1936). — ⁵ Z. Krebsforsch. **42** (1935). — ⁶ Z. Krebsforsch. **41** (1934). — ⁷ Biochem. Z. **239** (1931). — ⁸ Verh. ung. path. Ges. **1936**. — ⁹ Verh. ung. path. Ges. **1936**. — ¹⁰ Beitr. path. Anat. **92** (1933). — ¹¹ Z. Krebsforsch. **41** (1935). — ¹² II. Internat. Kongreß f. Krebsforsch. Sektion B 22. IX. 1936. — ¹³ Frankf. Z. Path. **48** (1935). — ¹⁴ Frankf. Z. Path. **48** (1935). — ¹⁵ Frankf. Z. Path. **48** (1935). — ¹⁶ Frankf. Z. Path. **48** (1935). — ¹⁷ Verh. ung. path. Ges. **1936**. — ¹⁸ Frankf. Z. Path. **48** (1935). — ¹⁹ Frankf. Z. Path. **48** (1935). — ²⁰ Verh. ung. path. Ges. **1936**. — ²¹ Ann. d'Anat. path. **10** (1933) — Verh. dtsh. path. Ges. XXVI. Tagung (Aussprache). — ²² III. Congrès International de Pathologie Comparée. Athènes **3**, 427 (1936) und Verh. ung. path. Ges. **1936**. — ²³ Z. Krebsforsch. **6**, 507. — ²⁴ Ref. Z. Krebsforsch. **44** (1936). — ²⁵ Wiss. Woche Frankfurt a. M. **1934**. — ²⁶ Verh. ung. path. Ges. **1937**.