

Endlich ist nun noch das Virusproblem in seinen Beziehungen zu der Tumorforschung zu betrachten.

Lebewesen als Erreger maligner Tumoren sind oft beschrieben worden. Protozoen, Pilze, Hefen sowie Bakterien wurden als angebliche Krebserreger isoliert. Nie aber haben diese Behauptungen der Nachprüfung standgehalten. Nur einigen Vira, jenen kleinsten lebenden Gebilden, die den Fermenten so nahe stehen, kommt eine Bedeutung für die Tumorgenese in einigen, aber keineswegs in allen Fällen zu. Besonders sind es maligne Tumoren des Geflügels, aber auch von Säugtieren, wie z. B. von gewissen Kaninchenrassen, die durch Einspritzung zellfreier, aber virushaltiger Tumorfiltrate von Tier zu Tier übertragen werden können, eine Tatsache, die in den Jahren 1910/11 von *Peyton Rous* bei dem Hühnersarkom entdeckt wurde. Diese Übertragungen aber gelingen keineswegs in allen Fällen, und wieder scheint der Erbfaktor — die Disposition — eine bedeutende Rolle zu spielen. Eigenartige Immunitätserscheinungen wurden bei den virusbedingten Geschwülsten entdeckt, wie wir sie bei den malignen Tumoren sonst nicht kennen. Das alles aber konnte nicht verhindern, daß, wie üblich, frühzeitig verallgemeinernde Schlußfolgerungen aufgestellt wurden. Übertragungen durch zellfreie Filtrate von Tumoren, die durch cancerogene Stoffe, wie z. B. Benzanthracen, erzeugt worden waren, sind i. allg. nie gelungen. Nur *Mc Intosh*

berichtete über mehrere Erfolge in dieser Richtung, benötigte aber offenbar empfängliche, also disponierte Tiere, um sein Ziel zu erreichen. So bleibt auf diesem Gebiet, das eifrige Bearbeitung findet, vieles noch reichlich unklar. Ebenso undurchsichtig sind heute auch noch Versuchsergebnisse von *Kidd* und *Rous*, *Lacassagne* und *Nyka* und anderen, die durch Pinselungen mit cancerogenen Stoffen zunächst gutartige Hautwucherungen (Papillome) erzeugten. Durch Einspritzung eines zellfreien, virushaltigen Tumorfiltrates in die Blutbahn empfänglicher Tiere gingen diese Papillome dann in maligne Tumoren über. Die Weiterentwicklung auch auf diesem Gebiet bleibt also abzuwarten.

Dieser kurze Überblick über einige Ergebnisse der Tumorforschung dürfte zeigen, daß während der letzten Jahrzehnte zwar große Fortschritte gemacht worden sind, daß wir aber noch einer Fülle ungelöster Probleme gegenüberstehen. Zugleich ist auch zu erkennen, wie vielseitig diese Probleme sind, die in engster Verflechtung ineinandergreifen. Physiker, Chemiker, pathologische Anatomen, Forscher auf dem Vitamin-, Hormon-, Ferment-, Virus- und Vererbungsgebiet liefern ihre Beiträge, um in Zusammenarbeit mit dem Kliniker in hoffentlich nicht zu ferner Zeit die Aufgaben zu lösen, bösartige Geschwülste zu heilen oder, wenn möglich, ihrem Auftreten vorzubeugen.

*Eingeg. 12. Februar 1940. [A. 41.]*

## Neuere Beiträge der biologischen Chemie zum Krebsproblem<sup>1)</sup>

Von Professor Dr. ADOLF BUTENANDT

Kaiser Wilhelm-Institut für Biochemie, Berlin-Dahlem

In dem Thema liegt eine Beschränkung. Es sollen im folgenden einige neuere Beiträge der biologischen Chemie zum Krebsproblem erörtert werden, unter Hinweis auf die sich aus ihnen ergebenden Fragestellungen und Folgerungen. Die Forschung im Gebiet der Krebskrankheiten ist durch eine ungewöhnliche Breite der Problemstellungen gekennzeichnet; daran mag es liegen, daß kaum ein zweites Gebiet eine solche Fülle von theoretischen Vorstellungen über das Wesen der zur Diskussion stehenden Erscheinungen aufzuweisen hat wie dieses; um so notwendiger ist es daher, daß der einzelne Forscher versucht, in der Beschränkung auf bestimmte Problemstellungen seiner Fachrichtung in die Tiefe zu dringen.

Faßt man unter dem Begriff der Krebskrankheit alle bösartigen Neubildungen zusammen, also alle atypischen Geschwülste, die sich dem Ganzheitsbestreben des Organismus nicht mehr fügen, sich seinen wachstumsregulierenden und formgebenden Einflüssen entziehen und in ihrem Wachstum und Stoffwechsel unabhängig vom Organismus geworden sind, so stellen sich dem biologischen Chemiker vor allem 2 Fragen:

1. Durch welche chemisch faßbaren Unterschiede sind die Geschwülste gegenüber normalem Gewebe ausgezeichnet?
2. Wo liegen die Ursachen für ihre Entstehung?

Zu beiden Problemstellungen hat die biologische Chemie in den letzten Jahrzehnten eine Fülle von bedeutungsvollen Befunden erhoben, aber man muß bekennen, daß die Gesamtheit der heute vorliegenden Tatsachen sich noch nicht zu einem geschlossenen Bilde einen läßt.

Auf die Chemie der Tumoren wollen wir erst zum Schluß unserer Betrachtungen eingehen; im folgenden wird zunächst und vornehmlich die Frage nach der Entstehung des Krebses behandelt, soweit sie sich aus den biologisch-chemischen Arbeiten über die experimentelle Erzeugung von Krebs herleiten läßt. Zwei bedeutsame Entdeckungen haben auf diesem Gebiet zwei große, zunächst voneinander unabhängige Arbeitsrichtungen ins Leben gerufen: Die erste Entdeckung erfolgte im Jahre 1911 durch *P. Rous* und hat die Frage nach der Virusätiologie der Tumoren aufgeworfen; die zweite, ins Jahr 1915 fallende Beobachtung, die auf die Namen *Yamagiwa* und *Ishikawa* zurückgeht, führte zur Bearbeitung organisch-chemischer cancerogener Stoffe bestimmter Struktur.

### A. Virusarten als tumorerzeugende Agentien<sup>2)</sup>.

#### I. Über virusbedingte Tumoren der Hühner.

*P. Rous* erhob die Feststellung, daß eine 1910 bei einem Huhn beobachtete, spontan aufgetretene Bindegewebsgeschwulst, ein Sarkom, nicht nur transplantierbar war, sondern auch durch zellfreie Tumorextrakte von Tier zu Tier übertragen werden konnte. Nach intramuskulärer Injektion solcher Filtrate entsteht ein Sarkom vom gleichen Typus wie die Ausgangsgeschwulst. In dieser Versuchsanordnung wandelt demnach ein in dem Sarkom vorhandenes und aus ihm darstellbares „Agens“ normale Zellen des Versuchstieres zu Sarkomzellen ab! Die große Bedeutung dieser Entdeckung ist erst allmählich durchgedrungen, aber alle geäußerten Zweifel an der sicher völlig zellfreien Übertragung des „Rous-Sarkoms“ erscheinen heute ebenso wenig begründet wie die an seiner echten, bösartigen Natur.

Das ursprüngliche *Rous-Sarkom* („*Rous-Sarkom I*“) war zunächst schwer und nur auf junge Hühner gleicher Linie der *Plymouth-Rock-Rasse* zu übertragen. Durch fortgesetzte Passagen ist aus ihm jedoch ein für Hühner beliebiger Rasse sehr bösartiger Tumor geworden, der sich später auch auf andere Hühnervögel (*Fasanen*, *Truthähne*, *Perlhühner*) übertragen ließ. Das Wachstum der Tumoren ist schnell; die Tiere gehen meist unter ausgedehnten Metastasen 3–4 Wochen nach der Impfung ein, und die Übertragungen liefern bis zu 80% positive Ergebnisse. Das *Rous-Sarkom I* ist nicht der einzige bekannte Hühnertumor geblieben, der zellfrei übertragbar ist. Man kennt heute etwa 30 verschiedene Bindegewebsneoplasmen der Hühner, die sich sämtlich voneinander differenzieren lassen; von ihnen gelten 12–13 als zellfrei übertragbar. Die aus diesen Geschwülsten darstellbaren infektiösen „Agentien“ erzeugen jeweils wieder denselben Tumortyp, aus dem sie gewonnen werden. Von den zellfrei übertragbaren Hühnergeschwülsten verdient ein 1911 von *Fujinami* und *Inamoto* beschriebenes Sarkom besondere Erwähnung; es steht dem *Rous-Sarkom I* sehr nahe, ist aber im Gegensatz zu ihm auch auf Enten serienmäßig zellfrei übertragbar. Das hier wirksame Agens ist also imstande, nicht nur gesunde Zellen von Hühnern, sondern auch Entenzellen zu Sarkomzellen abzuwandeln!

Diese Befunde zeigen, daß es bösartige Geschwülste gibt, in denen sich jeweils ein spezifisches Agens findet, das allein, ohne Anwesenheit von Tumorzellen, imstande ist, aus gesundem Gewebe wieder eine Geschwulst desselben Typus zu erzeugen.

<sup>1)</sup> Nach einem Vortrag in der Sitzung des Bezirksvereins Groß-Berlin und Mark des Vereins Deutscher Chemiker im Harnackhaus am 20. März 1940.

<sup>2)</sup> O. Thomsen, „Die Virusarten als tumorerzeugende Agentien“, in Handb. der Virusforsch., Bd. 2, S. 994 ff. J. Springer, Wien 1939.

Das betreffende Agens vermehrt sich erneut in dem induzierten Tumor und ist auch im Organismus des Tumorträgers nachweisbar, insonderheit im kreisenden Blut. Somit verhalten sich diese Agentien in gewissem Sinne wie krankheitserregende, lebende Mikroorganismen; dennoch wird es sich nicht um solche handeln; die Agentien sind filtrierbar, selbst bei stärkster lichtoptischer Vergrößerung unsichtbar und vermögen sich ausschließlich in Gegenwart lebender Zellen zu vermehren. Diese charakteristischen Eigenschaften teilen das Rous-Sarkom-Agens und seine Verwandten mit einer großen Gruppe von „Krankheitserregern“, die man zur Unterscheidung von den Bakterien als „Virusarten“ zusammenfaßt, und es bestehen keine ernststen Bedenken, die zellfrei übertragbaren Hühnersarkome als durch spezifische Virusarten auslösbar und bedingt anzusprechen.

Welche Kenntnis hat man über die Natur der Virusarten und was kann man insbesondere über die Natur des Rous-Sarkom-Virus aussagen? Seit den epochenmachenden Arbeiten des Amerikaners Stanley (1935) ist durch Untersuchungen in den Vereinigten Staaten, in England und in Deutschland in rascher Folge eine ganze Reihe von Virusarten als chemische Stoffe einheitlichen Charakters isoliert und gekennzeichnet worden<sup>3)</sup>. Einige phytopathogene Virusarten wurden in kristallisiertem Zustand dargestellt. Nach diesen grundsätzlichen Erkenntnissen kann es nicht mehr zweifelhaft sein, daß zumindest eine große Gruppe von Virusarten keine submikroskopischen Lebewesen zusammengesetzter Natur, sondern Moleküle eines einheitlichen chemischen Stoffes darstellen. Soweit bisher die Reindarstellung von Virusarten geglückt ist, handelt es sich immer um hochmolekulare Proteine vom Typ der Nucleoproteide, also um Eiweißstoffe, an die Nucleinsäuren als charakteristische Gruppen gebunden sind.

Die Reindarstellung eines Hühner-Sarkom-Virus ist noch nicht geglückt, jedoch liegen zahlreiche überzeugende Beobachtungen am Rous-Sarkom I-Agens vor, nach denen es sich auch bei diesem um einen faßbaren, mit physikalisch-chemischen Methoden charakterisierbaren Stoff handelt. Nach den wohl am weitesten vorgeschrittenen Untersuchungen von A. Claude<sup>4)</sup> kann man es für wahrscheinlich halten, daß die bisher reinsten Zubereitungen zum größten Teil aus einem Nucleoproteid bestehen, das eine Nucleinsäure vom Ribosetyp enthält. Wieweit lipoidlösliche Fraktionen bei der Übertragung eine Rolle spielen, ist noch nicht völlig geklärt. 1 g Tumor lieferte etwa 0,01–2,2 mg der bisher reinsten Zubereitungen; das Agens erwies sich als sehr empfindlicher Stoff, der bei –20° innerhalb von 3 Tagen schon 80–90% seiner physiologischen Wirksamkeit verliert. Die Bearbeitung ist infolgedessen mit großen Schwierigkeiten verknüpft. Bei möglichst tiefen Temperaturen wurden aus Phosphatpufferextrakten (pH 7) der Gewebe die wirksamen Fraktionen besonders erfolgreich mit Ultrazentrifugen hoher Geschwindigkeit abgeselektiert.

## II. Das Shopesche Kaninchenpapillom.

Die zellfrei übertragbaren Hühnersarkome sind nicht die einzigen virusbedingten Tumoren, die man kennt. 1933 machte R. E. Shope eine Entdeckung von großer Tragweite: Bei nordamerikanischen Wildkaninchen (den Cottontails) findet man Spontantumoren der Haut von Papillomcharakter, die durch ein Virus hervorgerufen werden, das reichlich in dem Papillom vorhanden ist und für seine Übertragung von Tier zu Tier verantwortlich gemacht werden kann. Die Papillome finden sich nur in der Haut und zeigen unter natürlichen Verhältnissen gutartigen Charakter.

Nach Shope sowie Rous und Beard läßt sich das Virus leicht durch Einreiben in die frisch rasierte, mit Sandpapier aufgerauhte Haut von zahmen Kaninchen übertragen. Nach 7–30 Tagen entstehen größere oder kleinere Papillome mit starker Neigung zur Verhornung. Es ist nun von besonderer Bedeutung, daß der Prozeß beim zahmen Kaninchen nicht so harmlos verläuft wie bei den Cottontails. Er kann nach 4–5 Monaten ausgesprochen bösartig werden, so daß echte Carcinome mit ausgedehnten Metastasen entstehen. Demnach liegt hier der Fall vor, daß man unter günstigen Bedingungen mit einem Virus aus der Geschwulst eines Wildkaninchens am

zahmen Hauskaninchen Krebsbildung hervorrufen kann. Die nähere Untersuchung hat ergeben, daß die Empfänglichkeit der Kaninchen stark mit der Rasse wechselt (Beard und Rous). In Versuchen an genetisch einheitlichen Kaninchenrassen in unserer Dahlemer Arbeitsgruppe hat R. Danneel im K. W.-I. für Biologie festgestellt, daß z. B. „weiße Wiener“ und „Russkaninchen“ besonders empfänglich sind, während „Albinos“, „Schwarze Alaskas“ und „Deutsche Wildkaninchen“ sehr viel schwerer auf eine Infektion ansprechen. Bei ihnen tritt die Reaktion später auf, bleibt geringer und bildet sich meist zurück. Zwischen beiden Gruppen steht in der Reaktionsstärke das „sandfarbene“ Kaninchen.

Unsere Kenntnis über die Natur des Shope-Papillom-Virus ist weiter fortgeschritten als im Falle des Rous-Sarkom-Virus. Da seine Darstellung in einheitlicher Form gelungen ist, darf das Shope-Papillom-Virus als das chemisch bestuntersuchte tierische Virus bezeichnet werden. Es verträgt 30 min lang eine Temperatur von 65°, ist widerstandsfähig gegen Eintrocknen und kann in Glycerin monatelang aufbewahrt werden. Beard und Wyckoff haben mit Hilfe einer Ultrazentrifuge aus Kochsalzextrakten der Cottontail-Papillome wiederholt ein und dasselbe hochmolekulare Protein darstellen können, das durch konstante physikalische Eigenschaften charakterisiert wurde. Durch sein Verhalten im Schwerfeld der Ultrazentrifuge erwies es sich als einheitlich. 10<sup>-8</sup> g dieses Proteins pro Kubikzentimeter genügen zur Auslösung einer Infektion. Chemisch handelt es sich wahrscheinlich auch hier um ein Nucleoproteid wie bei den übrigen bisher bekannten Virusstoffen, jedoch ist die analytisch-präparative Forschung auf diesem Gebiet noch nicht abgeschlossen.

Die Papillome der zahmen Kaninchen zeigen nun insofern eine wichtige Besonderheit, als in ihnen im Gegensatz zu den Papillomen der Cottontailtiere das die Geschwulst auslösende Virus im allgemeinen nicht mehr nachweisbar ist. Nur in wenigen Ausnahmen ist eine zellfreie Übertragung solcher Papillome von zahmen Kaninchen möglich gewesen (Shope). In den in Dahlem von Danneel durchgeführten Versuchen hat sich auch unter den hier untersuchten genetisch reinen Kaninchenrassen keine gefunden, in deren Geschwülsten eine nachweisbare Vermehrung des Virus stattfand. Durch diese Befunde wurde die prinzipiell wichtige Frage aufgeworfen, ob das Virus nur für die Entstehung der Papillome, nicht aber für ihre Fortentwicklung und insonderheit auch nicht für den Übergang des Papilloms in das Carcinom notwendig sei. Obwohl nun der direkte Nachweis des Virus in der Geschwulst des zahmen Kaninchens meist nicht geführt werden kann, sind einige Autoren der Meinung, daß man doch die Gegenwart des Virus und seine ursächliche Beteiligung an der Fortentwicklung und carcinomatösen Abwandlung der Papillome annehmen darf. Diese Auffassung gründet sich auf die Tatsachen, daß erstens in einzelnen Fällen der direkte Nachweis des Virus in den Papillomen der zahmen Kaninchen möglich war (Shope), und daß zweitens sowohl bei Tieren mit Papillomen als auch bei solchen mit Carcinomen ein spezifischer neutralisierender Antikörper feststellbar ist (Shope; Kidd, Beard u. Rous), der als Reaktionsprodukt auf ein in den Tumoren vorhandenes irgendwie maskiertes, fest verankertes oder in der Konzentration unter der Grenze direkter Nachweisbarkeit liegendes Virus aufzufassen ist. Eine Stütze für diese Auffassung wird in der Tatsache gesehen, daß man Kaninchen sowohl mit infektiösem Material von Wildkaninchen als auch mit nicht infektiösem Material von zahmen Kaninchen durch intraperitoneale Injektion aktiv immunisieren kann, und daß bei diesen Versuchstieren derselbe neutralisierende Antikörper im Blute erscheint (Shope). Es muß noch als zweifelhaft bezeichnet werden, ob die Auffassung von der Anwesenheit eines „maskierten“ Virus in den Papillomen der zahmen Kaninchen zu Recht besteht; sie führte aber zu der grundsätzlich wichtigen Frage, ob man generell auch bei anderen nicht infektiösen Geschwulsttypen die Gegenwart eines nicht direkt nachweisbaren Virus annehmen kann; auf ihre experimentelle und gedankliche Ausweitung kommen wir in anderem Zusammenhang zurück.

Außer den besprochenen Tumoren gibt es noch andere Geschwulsttypen bei Vögeln und Säugetieren, die durch spezielle Virusarten ausgelöst werden. Von ihnen seien das Kaninchenfibrom und das Kaninchenmyxom erwähnt. Ihre nähere Beschreibung im vorliegenden Zusammenhang

<sup>3)</sup> W. M. Stanley, „Isolation and Properties of Virus Proteins“, in *Ergeb. Physiol., biol. Chem., exp. Pharmacol.* **39**, 294 [1937]; „Biochemistry and Biophysics of viruses“, in *Handb. d. Virusforsch.*, Bd. 1, S. 447 ff. J. Springer, Wien 1938.

<sup>4)</sup> *Science*, New York **87**, 467 [1938].

ist an sich erläßlich, da es sich nicht um echte bösartige Geschwülste handelt. Sie haben aber als virusbedingte Neoplasmen eine große Bedeutung für die experimentelle Virusforschung erlangt, und eine kurze Betrachtung des Kaninchenmyxoms ist in vorliegendem Zusammenhang notwendig, weil wir die Kenntnis dieser Krankheit für eine später zu betrachtende Frage benötigen.

### III. Die Myxomatosis des Kaninchens.

Das Kaninchenmyxom wurde bereits 1898 von *Sanarelli* als eine bei Kaninchen in Montevideo auftretende, fast immer zum Tode führende Infektionskrankheit beschrieben, in deren Verlauf an den Augenlidern, der Schnauze, in der Analgegend und an anderen Körperstellen myxomatöse Anschwellungen auftreten. Durch Injektion des diese Krankheit verursachenden Virus tritt bei zahmen Kaninchen wenige Tage nach dem Eingriff eine Schwellung an der Injektionsstelle auf, anschließend generalisiert sich der Prozeß, es folgt eine Allgemeinerkrankung mit starker Bindehautentzündung, und nach 7—11 Tagen tritt fast ausnahmslos der Tod ein. Die Schwellungen sind durch starke Vergrößerung, Vakuolisierung und Verschleimung ihrer Zellen gekennzeichnet; da in ihnen histologisch eine Zellvermehrung nicht nachweisbar ist, sind sie mit echten Geschwülsten nicht vergleichbar und zeigen keine unmittelbare Beziehung zum Krebs<sup>5)</sup>. Jede Erörterung der Kaninchenmyxomatose in bezug auf das Krebsproblem darf daher nur unter Berücksichtigung dieses Gesichtspunktes erfolgen.

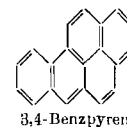
Die Charakterisierung des Myxomvirus hat für die Virusforschung — und damit auch für das hier besprochene Problem — besondere Bedeutung, weil man es zu den größten bisher bekannten Virusarten rechnet und deshalb vielerorts für ihn den Charakter eines organisierten Kleinlebewesens mit großer Beharrlichkeit verteidigt. Als Träger der infektiösen Wirksamkeit gelten die im befallenen Gewebe auftretenden, optisch sichtbaren, sog. „Elementarkörperchen“, deren scheinbares „Molekulargewicht“ auf etwa  $2300 \cdot 10^6$  geschätzt wurde. *G. Schramm*<sup>6)</sup> hat jedoch im Rahmen der Virusarbeiten unseres Institutes vor einem Jahr zeigen können, daß das Myxomvirus sich wie ein hochmolekulares Protein mit Ammonsulfat fällen und durch Umfällen reinigen läßt. Die Einheitlichkeit der damals dargestellten reinsten Eiweißpräparate ist noch nicht gesichert. Sie bewirkten jedoch bereits mit einer Menge von  $7 \cdot 10^{-16}$  g eine positive Infektion, also in einer ungewöhnlich großen Verdünnung. Nimmt man an, daß in dieser Eiweißmenge von  $7 \cdot 10^{-16}$  g nur ein Molekül vorliegt, so berechnet sich das maximal mögliche Molgewicht des Proteins zu  $420 \cdot 10^6$ . Dieser Wert ist wahrscheinlich noch zu unterschreiten, so daß das Molgewicht des infektiösen Proteins wesentlich unter dem in der Literatur bevorzugten Wert und in der Größenordnung anderer gut bekannter Virusproteine liegen wird. Dieser Befund macht auch für dieses tierische Virus wahrscheinlich, daß es in seinem Wesen den bisher rein dargestellten Virusarten an die Seite zu stellen ist.

Fassen wir das bisher Dargelegte zusammen, so ist zu folgern, daß es virusbedingte Tumoren gibt, unter denen sich solche von echtem bösartigen Charakter befinden. Unter der wohlbegründeten Annahme, daß die tumorerzeugenden Virusarten hochmolekulare organische Stoffe von Proteincharakter sind, kann man diese als eine Gruppe von cancerogenen Verbindungen von spezifischer Art und Wirkung zusammenfassen.

### B. Über cancerogene Stoffe<sup>7)</sup>.

1915 haben *Yamagiwa* und *Ishikawa* erstmalig gezeigt, daß man durch lang anhaltende Teerpinselung am Kaninchenohr echte Krebsbildung auslösen kann. Die Bestätigung und Erweiterung dieser Befunde zeigte, daß man allgemein an Ratten, Mäusen, Kaninchen, Meerschweinchen, Hühnern und anderen Versuchstieren durch Teerpinselung oder durch Teerinjektion echte Geschwulstbildung erzielen kann. Je nach der Art der Darreichung bilden sich unter der Wirkung des Teers Hautgeschwülste (Carcinome) oder Bindegewebstumoren (Sarcome). Die Frage, ob diese Reaktion auf einen unspezifischen Reiz des im Teer vorliegenden Stoffgemisches im Sinne einer

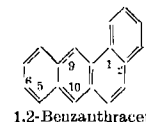
Allgemeinschädigung oder auf die spezifische Wirkung einer ganz bestimmten Substanz zurückgeführt werden muß, hat durch die Pionierarbeit der englischen Forscher *Kennaway*, *Cook* und ihrer Mitarbeiter am Royal Cancer Hospital dahingehend ihre Beantwortung erfahren, daß das im Teer zu



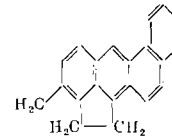
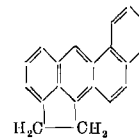
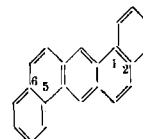
mindestens 0,003% enthaltene 3,4-Benzpyren die wesentliche Ursache für die Auslösung des Teerkrebses darstellt. 2000 kg eines krebserregenden Steinkohlenteers wurden sorgfältig fraktioniert und das daraus in reiner Form gewonnene Benzpyren in seiner Konstitution aufgeklärt. Im Benzpyren liegt der Prototyp der wichtigsten cancerogenen Verbindungsklasse vor, zu der in erster Linie hochkondensierte, aromatische Kohlenwasserstoffe gehören. Diesen Stofftypen steht eine Reihe von krebserzeugenden Verbindungen von Farbstoffcharakter gegenüber. Insgesamt dürfte sich die Zahl der bisher aufgefundenen cancerogenen organischen Stoffe bekannter Struktur auf 45—50 belaufen.

### I. Die cancerogenen aromatischen Kohlenwasserstoffe.

Die wichtigsten Vertreter dieser Gruppe sind Derivate des 1,2-Benzanthracens, das selbst noch nicht zu den cancer-

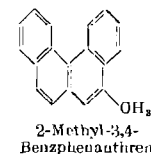
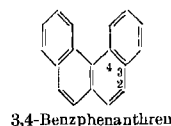


rogenen Stoffen gehört, durch geeignete Substitution aber in krebserzeugende Verbindungen übergeht. Die systematischen Untersuchungen über Zusammenhänge zwischen Konstitution und physiologischer Wirkung in dieser Stoffklasse, die man vor allem den Arbeitskreisen um *Cook* in London und *Fieser* in Harvard verdankt, haben ergeben, daß der Eintritt von Kohlenstoffsubstituenten in die Stellungen 5, 6, 9 oder 10 des 1,2-Benzanthracens zu cancerogenen Stoffen führt. Dieser Gesetzmäßigkeit ordnen sich außer dem bereits erwähnten Benzpyren z. B. folgende Verbindungen unter: 1,2,5,6-



Dibenzanthracen, die erste cancerogene Verbindung bekannter Struktur, verschiedene Mono- und Dimethylderivate des Benzanthracens und vor allem die Kohlenwasserstoffe Cholanthren und Methylcholanthren, in denen die bisher höchst wirksamen Verbindungen dieser Gruppe vorliegen.

Wenn sich auch die meisten cancerogenen aromatischen Kohlenwasserstoffe vom Benzanthracen ableiten, so hat sich doch gezeigt, daß die Anwesenheit des Benzanthracensystems zur Auslösung der charakteristischen physiologischen Wirkung nicht notwendig ist. So zeigen das 3,4-Benzphenanthren



und sein 2-Methylderivat beträchtliche Wirksamkeit. In diesen Stoffen mit nur 4 kondensierten Ringen liegen die bisher einfachsten Vertreter krebserzeugender aromatischer Kohlenwasserstoffe vor.

Die cancerogene Wirkung dieser Stoffklasse ist sowohl durch Hautpinselung als auch durch subcutane Injektion oder durch Implantation nachzuweisen. Mit einer 0,3%igen Lösung von Benzpyren in Äther oder Benzol lassen sich an Mäusen nach etwa 70—100 Tagen Hautcarcinome erzeugen, wenn man wöchentlich 2—3mal pinselt. Nach einmaliger subcutaner Injektion einer öligen Lösung entwickeln sich innerhalb von

<sup>5)</sup> Diese Auffassung ist kürzlich auch von *J. Klink* (Klin. Wschr. **19**, 132 [1940]) überzeugend dargelegt worden; in gleichem Sinne äußerte sich *A. Anger* auf dem 4. Int. Kongress für vergleichende Pathologie in Rom 1939 (Arch. Virusforsch. **1**, 449 [1940]).

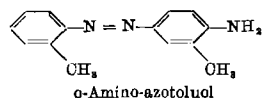
<sup>6)</sup> Naturwiss. **27**, 149 [1939].

<sup>7)</sup> *A. Butenandt*, Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Pathol. Pharmacol. **190**, 74 [1938]; *H. B. Anderson*, in „A Symposium on Cancer“, Univ. of Wisconsin Press, Madison 1938, S. 54; *J. W. Cook*, Ergebn. Vitamin- u. Hormonforsch. **2**, 213 [1939].

2—3 Monaten echte Bindegewebstumoren. Bedeutsam ist der Befund, daß diese Wirkung von sehr geringen Substanzmengen ausgelöst wird, die in der Größenordnung von  $\gamma$ -Werten liegen können; somit treten einige der besprochenen aromatischen Kohlenwasserstoffe in ihrer Wirksamkeit in direkte Parallele zu den Vitaminen und Hormonen. Es scheint bemerkenswert, daß die cancerogene Wirkung stark abhängig ist von der Struktur der Verbindungen, sie kann durch Eintritt von einfachen Substituenten in das Molekül der krebserzeugenden Stoffe völlig zum Verschwinden gebracht werden.

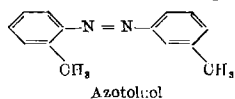
## II. Azo-Farbstoffe als cancerogene Agentien.

Auf eine völlig andersartige krebserzeugende Substanz bekannter Struktur wurde man 1933 durch Arbeiten von *Yoshida* in Japan aufmerksam: Er untersuchte den Einfluß von Azo-farbstoffen auf das Epithel der Schilddrüse und stellte im Verlauf dieser Arbeiten fest, daß die fortlaufende perorale Verabfolgung von o-Amido-azotoluol innerhalb von 250—350 Tagen an weißen Ratten Lebercarcinome hervorrufen kann<sup>8)</sup>.

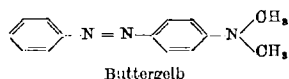


Diese Befunde wurden bestätigt und erweitert, und *Shear* stellte fest, daß bei Mäusen auch durch subcutane Injektion derselben Substanz Lebertumoren induziert werden. Neben den Geschwülsten der Leber sind auch solche der Blase aufgetreten, während die Erzeugung von Hautkrebs bisher durch Azofarbstoffe niemals gelungen ist. In diesem Punkt liegt also ein wichtiger prinzipieller Unterschied der cancerogenen Azofarbstoffe zu den krebserzeugenden Kohlenwasserstoffen, und man erkennt, daß sich auch unter den strukturbekannten krebserzeugenden Verbindungen solche mit spezifischer Reaktionsauslösung befinden!

Auch innerhalb der carcinogenen Azobenzolgruppe findet man eine eindeutige Beziehung zwischen chemischer Konstitution und physiologischer Wirkung. Azotoluol besitzt



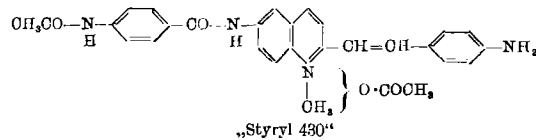
keine Wirkung mehr auf die Leber, vermag aber interessanterweise noch Blasenkrebs hervorzurufen. Eine große Zahl von anderen Azobenzolderivaten, die sich vorwiegend durch Zahl und Stellung von Amino- und Methylgruppen im Molekül voneinander unterscheiden, wurde von *Kinosita* ausgetestet. Aus den bisher bekannten Versuchen geht hervor, daß außer bei o-Amido-azotoluol, seinem Mono- und Diacetyl-derivat und dem p-Dimethyl-aminoazobenzol keine cancerogene Wirkung auftritt. Die krebserzeugende Wirkung der zuletzt genannten Substanz ist deshalb bemerkenswert,



weil sie als „Buttergelb“ gelegentlich in der menschlichen Nahrung zum Färben von Fett und Margarine verwendet worden ist. Mit dem Buttergelb ist bei wöchentlicher Injektion von 0,5 cm<sup>3</sup> einer 3%igen Öllösung an Ratten in hohem Prozentsatz Leberkrebs erzeugt worden; nach peroraler Verabfolgung wurden am gleichen Versuchstier in einigen Fällen auch Magentumoren beobachtet.

## III. „Styryl 430“ als cancerogene Verbindung.

Daß auch Stoffe mit völlig anderer Konstitution krebserzeugend wirken können, zeigt die Entdeckung der cancerogenen Wirksamkeit des „Styryl 430“ durch *Browning* (1933).

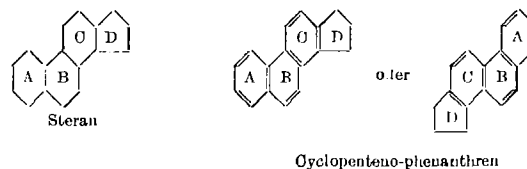


<sup>8)</sup> Im Jahre 1924 hat bereits *M. B. Schmidt* (Virchow's Arch. pathol. Anatom. Physiol. klin. Med. 253, 432 [1924]) beobachtet, daß perorale Verabreichung von Scharlachrot in der Leber von Mäusen zur Zellproliferation und Bildung von adenomatösen und sarkomatösen Geschwülsten führt. Diese 1932 von *Korteweg* bestätigten Befunde sind ursprünglich wohl auf das in Scharlachrot vorhandene o-Amido-azotoluol zurückzuführen.

Bei dieser Verbindung handelt es sich um einen kompliziert gebauten trypanociden Farbstoff der Chinolinreihe. Die Injektion seiner wäßrigen Lösung führt zur Entstehung von Sarkomen am Injektionsort. Dieser interessante Befund weist darauf hin, daß man bei systematischem Suchen wahrscheinlich noch weitere krebserzeugende Verbindungen in anderen Stoffklassen auffinden kann. Nähere Untersuchungen über die krebserzeugende Wirkung anderer Chinolinfarbstoffe scheinen bisher zu fehlen.

## C. Steroide und Steroidhormone in ihrer Beziehung zum Krebsproblem<sup>9)</sup>.

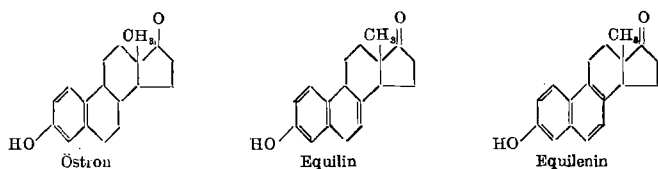
Soweit unsere Einsicht heute reicht, übertrifft die Gruppe der aromatischen Kohlenwasserstoffe die übrigen krebserzeugenden Verbindungen in ihrer Bedeutung weitgehend. Besonderes Interesse beansprucht in dieser Gruppe das Methylcholanthren, da dieser höchstwirksame cancerogene Kohlenwasserstoff in naher Beziehung zu den Steroiden steht, einer physiologisch äußerst bedeutsamen Verbindungsklasse, zu der wir die Sterine, Gallensäuren, die lebensnotwendigen Hormone der Nebennierenrinde und die männlichen und weiblichen Keimdrüsenhormone sowie das Vitamin D rechnen, und die daher im Stoffwechsel höherer Ordnung eine außerordentlich wichtige und vielseitige Rolle spielt. Alle Steroide leiten sich in ihrer Struktur vom dem hydrierten Vierringsystem Cyclopentenophenanthren (Steran) ab, das



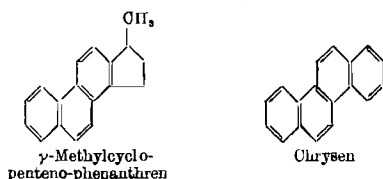
durch Eintritt von Seitenketten, Sauerstofffunktionen und Doppelbindungen zu den verschiedenen genannten Wirkstofftypen abgewandelt wird. Das Methylcholanthren enthält ebenfalls das Kohlenstoffskelett des Cyclopenteno-phenanthrens; im Gegensatz zu dem der Steroide ist es hier weitgehend dehydriert (aromatisiert) und durch die Angliederung eines 5. Ringes vergrößert. Die chemische Verwandtschaft des Methylcholanthrens zu den Steroiden wird am besten durch die Tatsache beleuchtet, daß man Cholesterin und Gallensäuren in Methylcholanthren überführen kann (*Wiand, Cook, Fieser, Windaus*). Bei diesem Übergang erfolgt eine weitgehende Dehydrierung unter Abspaltung von Methan und die Angliederung des für Methylcholanthren charakteristischen methylsubstituierten 5. Ringes; dieser Ringschluß wird durch die im Cholesterin und in den Gallensäuren vorhandene, aus 8 bzw. 5 Kohlenstoffatomen bestehende Seitenkette am Fünfring ermöglicht. Es sei darauf hingewiesen, daß alle Steroidhormone keine zum Ringschluß befähigte Seitenkette mehr besitzen, daher kann aus ihnen im Gegensatz zu den Sterinen und Gallensäuren auf direktem Wege kein Methylcholanthren entstehen.

Es liegt auf der Hand, daß die nahe Beziehung des wirksamsten cancerogenen Stoffes zu dem Grundskelett der Steroide zu der Arbeitshypothese (*Cook und Dodds*) führte, ob nicht auch im Organismus unter bestimmten Bedingungen mit einem Übergang physiologisch bedeutsamer Wirkstoffe in cancerogene zu rechnen sei, mit anderen Worten, ob aus Sterinen und Gallensäuren etwa Methylcholanthren bzw. aus den Steroidhormonen ein anderer aromatischer Kohlenwasserstoff von ähnlichem Typus entstehen könne. Diese Frage gewinnt naturgemäß besondere Bedeutung angesichts der Vielzahl der vom Organismus im Gebiet der Steroide unter physiologischen Bedingungen durchgeführten Variationen, und vom Gesichtspunkt des biologischen Chemikers kann die Möglichkeit eines solchen Vorgangs nicht von der Hand gewiesen werden, zumal in den weiblichen Sexualhormonen der Östrongruppe, im Östron, Equilin und Equilenin, Steroide vorliegen, die bereits durch ein partiell aromatisiertes Kohlenstoffskelett gekennzeichnet sind.

<sup>9)</sup> *A. Butenandt*, a) Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Pathol. Pharmacol. 130, 74 [1936]; b) Schriftenreihe d. Akad. f. ärztl. Fortbildung, Dresden, Bd. 2, S. 45 [1940], und Veröffentlich. d. Berliner Akad. f. ärztl. Fortbildung, Nr. 6, S. 46 [1940].



Die Frage, ob im Organismus tatsächlich mit dem Übergang physiologisch wichtiger Stoffe in krebs-erregende Verbindungen gerechnet werden muß, oder ob die Verwandtschaft eines hochwirksamen krebs-erzeugenden Kohlenwasserstoffes zu den Steroiden zufällig ist, muß experimentell geprüft werden. Es sind systematisch geeignet erscheinende Abwandlungsprodukte der Steroide darzustellen und auf ihre krebs-erzeugende Wirkung zu prüfen. Da man wiederholt auch der Auffassung begegnet, daß die Strahlen- krebse, die nach intensiver Sonnen-, Ultraviolett- oder Röntgenbestrahlung auftretenden Carcinome der Haut, unter intermediärer Bildung cancerogener Stoffe entstehen sollen (Roffo), müssen die aus Steroiden unter der Mitwirkung kurz- welliger Strahlen darstellbaren Verbindungen und ihre Ab- wandlungsprodukte dabei besonders berücksichtigt werden<sup>10</sup>). Zahlreiche Versuche unseres Institutes und anderer Arbeits- kreise haben bisher nicht zur Auffindung eines zweiten, aus Steroiden darstellbaren Stoffes geführt, der wie das Methyl- cholanthren cancerogene Wirkung aufweist. Insbesondere ist zu betonen, daß die aus Steroidhormonen darstellbaren





Die Männchen verhalten sich in diesen Versuchen erwartungsgemäß wie in bezug auf die Brustdrüse feminisierte Männchen, d. h. wie normale Weibchen. Nach diesem Ergebnis kann auch in diesem Fall von einer „krebserzeugenden Wirkung“ des Follikelhormons mit Sicherheit nicht geredet werden. Welcher Faktor in der unter der Wirkung des Follikelhormons normal aufgebauten Brustdrüse die Entstehung eines Tumors nach zahlenmäßiger Gesetzmäßigkeit bewirkt, wird durch Kreuzungsversuche von Mäusestämmen verschiedener Krebsbelastung in Kombination mit der Variation der Aufzuchtbedingungen zurzeit von Little, Korteweg, Bittner u. a. näher analysiert. Es hat den Anschein, daß die Höhe der Tumorraten entscheidend durch einen in der Muttermilch belasteter Mäuseweibchen vorhandenen stofflichen Faktor mitbestimmt wird. Über seine Natur weiß man noch nichts, ob er einmal die Brücke zur Virusätiologie der Tumoren schlagen wird, ist noch völlig ungewiß.

#### D. Über biologische Beziehungen zwischen cancerogenen Stoffen und tumorauslösenden Virusarten<sup>15)</sup>. — Über die Wirkungsweise krebserzeugender Verbindungen<sup>16)</sup>.

Überblickt man das Gebiet der Erzeugung von Tumoren durch chemische Stoffe, so kann man zusammenfassend feststellen, daß es 3 unterschiedliche Gruppen von krebserzeugenden chemischen Agentien gibt:

1. Einige Virusarten, die durch eine spezifische Wirkung in bezug auf Angriffspunkt und entstehenden Tumortyp gekennzeichnet sind,
2. Organisch-chemische Stoffe bestimmter Struktur, die (wie einige Azofarbstoffe) nicht streng spezifisch wirken, aber doch bevorzugte Affinität zu bestimmten Geweben aufweisen und in erster Linie für die Ausbildung bestimmter Geschwulsttypen verantwortlich sind,
3. Organisch-chemische Stoffe (wie die Benzanthracenderivate), die je nach der Form ihrer Darreichung und nach dem gewählten Tiermaterial die Ausbildung der verschiedenartigsten Geschwulstarten bewirken können.

Trotz der Verschiedenartigkeit, die zwischen den Virusarten und den krebserzeugenden Kohlenwasserstoffen besteht, hat sich eine Reihe von biologischen Beziehungen zwischen ihnen aufdecken lassen, die für die Beurteilung nach dem Wesen ihrer Wirkungsweise Bedeutung haben.

1925 haben Murphy und Landsteiner erstmalig über die Erzeugung eines Sarkoms bei Hühnern unter der Einwirkung von Teer berichtet. Ihre Feststellungen wurden in der Folgezeit vielseitig bestätigt, statt des Teers können auch reine cancerogene Kohlenwasserstoffe Verwendung finden. Die auf diese Weise induzierten Hühnertumoren unterscheiden sich histologisch nicht von den spontanen Fibrosarkomen der Hühner. Während die ersten Versuche zur zellfreien Übertragung dieser chemisch induzierten Geschwülste erfolglos waren, hat McIntosh in den letzten Jahren eine Reihe von positiven Erfolgen nach dieser Richtung bekanntgegeben. Er erhielt unter einer großen Zahl durch intramuskuläre Injektion von Teer erzeugter Tumoren mehrere, die sich nach serienweiser Fortzüchtung schließlich durch zellfreie Filtrate übertragen ließen. Das in diesen chemisch induzierten Tumoren nachweisbare Agens ähnelt physikalisch-chemisch dem „Rous-Sarkom-Virus“ und konnte wie dieses in der Ultrazentrifuge abgeschleudert werden. Diese Beobachtungen von McIntosh sind von außerordentlich großer Bedeutung; obwohl sie anfänglich eine starke Kritik fanden, kann nach einer neuesten Arbeit von McIntosh und Selbie (1939), in der die Befunde bestätigt, erweitert und kritisch besprochen wurden, kaum mehr ein Zweifel an ihrer Richtigkeit bestehen, und die Filtrierbarkeit provozierten Hühnertumoren darf somit als weitgehend gesichert gelten. Man hat die Anwesenheit von Virus in chemisch induzierten Hühnertumoren auch immunbiologisch indirekt nachweisen können, in derselben Weise, wie es oben für die nicht filtrierbaren Shope-Papillome des zahmen Kaninchens besprochen wurde: In Filtraten aus Dibenzanthracen-Tumoren von Hühnern ist ein Antigen nachweisbar, das im Kaninchen-serum einen Rous-Sarkom-Virus neutralisierenden Antikörper zu erzeugen imstande ist (Foulds).

Auch beim Shope-Papillom des Kaninchens sind Beziehungen zwischen dem Virus dieser Krankheit und cancerogenen Kohlenwasserstoffen aufgedeckt worden. So haben z. B. Rous und Kidd an Kaninchen durch Pinselung mit Teer zunächst die Bildung von Teer-Papillomen hervorgerufen und anschließend einen virushaltigen Extrakt intravenös injiziert. 2 Wochen später setzte bei vielen Papillomen eine stürmische Entwicklung ein, an den geteerten Stellen entwickelten sich Carcinome, und es entstand eine so „fulminante Carcinose“, wie sie bei Kaninchen unter der Wirkung von Teer oder Virus allein nie zu beobachten ist.

Auf Grund solcher Feststellungen ist die schon im ersten Teil des Vortrags gestreifte Frage diskutiert worden, ob den Virusarten grundsätzliche Bedeutung für die Ätiologie aller Tumoren zukommt, auch jener, die man (wie die meisten Spontantumoren und die chemisch erzeugten Tumoren der Säugetiere) bisher nicht zellfrei zu übertragen imstande ist. Die Autoren, die eine solche Auffassung vertreten (Rous, Gye, Andrewes) gehen so weit, daß sie eine allgemein verbreitete Infektion der Individuen tumorempfänglicher Spezies annehmen, eine Infektion, die in den Zellen sitzt und hier den Charakter einer Symbiose zwischen Virus und Wirtszelle besitzen soll. Nach dieser Auffassung machen cancerogene Kohlenwasserstoffe oder andere Außenfaktoren die Zelle nur für die pathogene Auswirkung des Virus empfänglich! Dieser Deutungsversuch ist nicht nur für das vorliegende Problem unternommen worden; bekanntlich gibt es eine Reihe von anderen Virusarten, die latent im Organismus vorkommen, erst durch besondere Vorgänge aus ihrer Latenz geweckt werden und erst dann als Krankheitserreger in Erscheinung treten. Bei solchen latenten Infektionen wird eine Art „labiler Gleichgewichtszustand“ zwischen Virus und Organismus angenommen<sup>17)</sup>.

Man erkennt, daß sich aus der gemeinsamen Betrachtung der verschiedenartigen krebserzeugenden Agentien eine interessante Auffassung über die Virusätiologie der Tumoren entwickelt hat. Doch muß nachdrücklich betont werden, daß sie gegenwärtig in keiner Weise über den Charakter einer Hypothese hinausgeht. Eine Verallgemeinerung der am Rous-Sarkom und Shope-Papillom erhobenen Befunde unter der Annahme maskierter, nicht extrahierbarer oder quantitativ nicht faßbarer Virusarten als Bestandteile aller Geschwülste ist noch nicht zwingend, und ob die cancerogenen Stoffe die Umwandlung einer normalen Zelle in eine Krebszelle auf dem Umweg über ein Virus bewirken, kann nicht bündig beantwortet werden. Immerhin kann die erwähnte Hypothese von der allgemeinen Virusätiologie der Tumoren fruchtbar sein, wenn sie dazu anregt, die Arbeiten auf allen Gebieten der krebserzeugenden Verbindungen konsequent vorwärts zu treiben und nach weiteren Beziehungen zwischen ihnen zu suchen.

Was sich in der Zelle abspielt, wenn unter der Einwirkung eines pathogenen, tumorinduzierenden Stoffes die normale Zelle in eine bösartige verwandelt wird, ist nicht sicher bekannt. Man darf bei der Betrachtung der Wirksamkeit tumorinduzierender Stoffe nicht vergessen, daß in ihrem Einfluß auf die lebende Zelle eine Wechselwirkung zwischen dieser und dem stofflichen Agens vorliegt, und daß in bezug auf das Ergebnis der Reaktion die Erbmasse der Tiere, ihre genetische Konstitution, eine wesentliche Rolle spielt. Dafür wurden bereits Beispiele angeführt. Damit ein Tumor sich überhaupt ausbildet, muß eine bestimmte Bereitschaft des Organismus zur Tumorbildung vorliegen, durch tumorinduzierende Noxen wird eine durch die Erbanlage bedingte, mehr oder weniger stark ausgeprägte Krebsbereitschaft manifestiert. Ob die Entstehung des neuen Zelltyps, der in der Krebszelle vorliegt und alle seine Eigenschaften auf die nachfolgende Zellgeneration überträgt, dadurch ausgelöst wird, daß die Determination der Soma-Zellen zu bestimmten Geweben in andere Bahnen gelenkt wird, oder dadurch, daß in den Zellen eine Änderung bestimmter Gene hervorgerufen wird (somatische Mutation), entzieht sich gegenwärtig noch gesicherter Kenntnis. Gegenüber dem in der Literatur zu findenden Hinweis, daß krebserzeugende Stoffe Mutationen auslösen können, ist zu betonen, daß in einem Erbexperiment nachweisbare Mutationen unter der Wirkung

<sup>15)</sup> R. Doerr, „Die Entwicklung der Virusforschung und ihre Problematik“, in Handb. d. Virusforsch., Bd. 1, S. 1 ff., Wien 1938; O. Thomson, l. c. 2.

<sup>16)</sup> A. Butenandt, Nannyn-Schmidlebergs Arch. exp. Pathol. Pharmacol. 190, 74 [1938].

<sup>17)</sup> Vgl. W. Kikuth u. R. Gönner, Arch. Virusforsch. 1, 295 [1940].

cancerogener Stoffe noch nicht beobachtet worden sind. In Versuchen, die *H. Piepho* im Kaiser Wilhelm-Institut für Biologie (Abt. *Kühn*) ausführte, ist auch eine Erhöhung der spontanen Mutationsrate der Keimzellen bei *Drosophila* nach Einverleibung von Benzpyren in junge Puppen nicht eingetreten.

### E. Zur Chemie der Tumoren.

Unabhängig von der Frage nach der Entstehung der Geschwülste können die Untersuchungen durchgeführt werden, die sich mit dem chemischen Aufbau der Tumoren und ihrem Stoffwechsel beschäftigen und die hier liegenden charakteristischen Besonderheiten der Krebsgeschwülste gegenüber Normalgewebe festzustellen bemüht sind. Es war zu erwarten, daß die für Krebsgewebe kennzeichnenden Veränderungen im Gewebsbau auch mit einer Änderung des Stoffwechsels und des chemischen Baus einhergehen. Durch die klassischen Untersuchungen von *O. Warburg*<sup>18)</sup> wurde der besondere Kohlenhydratstoffwechsel des Krebsgewebes aufgedeckt, der dadurch gekennzeichnet ist, daß die unter Verbrauch von Sauerstoff verlaufende Atmung zugunsten der Gärung zurückgedrängt wird; auch bei Anwesenheit von überschüssigem Sauerstoff wird der wesentliche Energiebedarf des Tumorgewebes durch den Übergang der Glucose in Milchsäure gedeckt. Gleichgültig, ob diese Umstellung im Kohlenhydratstoffwechsel als spezifisch für die Krebszelle oder als eine Eigenschaft geschädigter Gewebe angesehen wird<sup>19)</sup>, sie wird bedingt sein durch Veränderungen in den Enzymsystemen, die den Prozeß der Atmung katalysieren. Gleichartige Überlegungen gelten für feststellbare Veränderungen im Lipoid- und Eiweißstoffwechsel der Tumoren, und daher ist es eine bedeutsame Aufgabe, den qualitativen und quantitativen Veränderungen der Enzymsysteme in den Tumoren nachzuspüren. Der große Aufschwung der Enzymforschung in den letzten Jahrzehnten hat wiederholt dazu geführt, einseitige fermentchemische Lösungen des Krebsproblems zu versuchen<sup>20)</sup>.

Die Änderung des Kohlenhydratstoffwechsels im Sinne *Warburgs* findet enzymchemisch ihren Ausdruck in der Tatsache, daß die Pyridin-Redoxasen, also jene Enzyme, die den Wasserstoff der zu dehydrierenden Substrate stufenweise auf das Cytochromsystem übertragen, sich im Tumor vorzugsweise in der hydrierten Form vorfinden. So fand *von Euler* das Verhältnis Dihydrocozymase: Cozymase im *Jensen-Sarkom* 5—10, im normalen Muskel jedoch 0,8—1. Diese Anhäufung der reduzierten Form der Pyridin-Redoxasen beruht wahrscheinlich darauf, daß sie nicht vom Cytochromsystem auf normalem Wege wieder dehydriert werden; sie ist ein Ausdruck für den mehr oder weniger vollständigen Mangel des Tumors an den Komponenten des Cytochromsystems: Nach *von Euler* findet man im Sarkom 0,01  $\gamma$  Cytochrom-Eisen pro Gramm Gewebe, während für den normalen Muskel dieser Wert 0,3  $\gamma$  beträgt. Man kann daher nach ihm die Tumorzelle als cytochromdefekte Zelle bezeichnen<sup>21)</sup>. Auch die zum Atmungsstoffwechsel in inniger Beziehung stehenden Enzyme Katalase und Peroxydase finden sich in verminderter Menge im Tumorgewebe.

Die sich in Steigerungen des Lipoidgehaltes, mitunter auch in Speicherungen von Fett ausdrückenden Veränderungen im Tumorstoffwechsel der Lipide finden enzymchemisch ihren Ausdruck in häufig beträchtlich vermehrtem Lipasegehalt der Tumoren. Andererseits ist die Konzentration an phosphorsäurespaltenden Enzymen stark erhöht; eine solche Mengenverschiebung der Phosphatase kommt jedoch allen rasch wachsenden Geweben zu. Bemerkenswert ist auch der hohe Gehalt der Tumoren an Arginase, der man wichtige Funktionen bei Kernteilungsvorgängen zuschreibt.

Was die proteolytischen Enzyme des Tumors angeht, so ist die Konzentration der wichtigsten Zellproteinase Kathepsin im allgemeinen nicht erhöht, die nekrotischen Teile

scheinen ärmer an Kathepsin zu sein als gut erhaltene Zellen. Im letzten Jahr hat unsere Kenntnis vom Eiweißstoffwechsel der Geschwülste durch sehr bedeutsame Arbeiten von *F. Kögl* und *H. Erxleben* überraschende neue Anregungen erhalten<sup>22)</sup>. Sie fanden, daß die Tumorproteine einen erheblichen Gehalt an  $\alpha$ -Aminosäuren aufweisen, während die bisher aus normalem Gewebe isolierten „natürlichen Aminosäuren“ bekanntlich bis auf vereinzelte Ausnahmen in ihrer räumlichen Konfiguration der 1-Reihe angehören. Nach diesem Befund liegen in den Eiweißsubstanzen der Geschwülste demnach teilweise racemisierte Proteine vor. Durch sorgfältige Salzsäurehydrolyse von verschiedenartigen menschlichen und tierischen Tumoren (Carcinomen und Sarkomen), von denen geschlossene Formen von mindestens 100 g Verwendung fanden, wurden Leucin, Lysin, Valin, Oxyglutaminsäure, vor allem aber die im Aminosäurestoffwechsel eine zentrale Stellung einnehmende Glutaminsäure in partiell racemischer Form gefunden. Im Falle der Glutaminsäure kann der Racemisierungsgrad bis zu 89% betragen, und es läßt sich in einigen Fällen berechnen, daß mindestens  $\frac{1}{10}$  des gesamten Tumoreiweiß racemischer Natur ist. Unter gleichen Bedingungen aufgearbeitetes Normalgewebe (Herz, Lunge, Ovarien, Kalbsembryonen) zeigte keine Racemisierung. Bei gutartigen Geschwülsten, wie Uterusmyomen, wurden ebenfalls bei einigen Aminosäuren (Leucin, Oxyglutaminsäure, Oxyprolin) einige Prozent d-Form gefunden. Auffällig ist hingegen, daß in diesem Falle gerade die Glutaminsäure nur in sehr geringem Maße an der Racemisierung teilnimmt, so daß sich in quantitativer Hinsicht hier — wie auch bei anderen vergleichenden Analysen verschiedener Geschwulsttypen<sup>23)</sup> — eine gewisse Proportionalität zwischen Racemisierungsgrad der Glutaminsäure und Malignität der Geschwülste andeutet, die jedoch erst durch weitere Reihenanalysen gesichert werden kann.

*Kögl* zieht aus seinen wichtigen Befunden sehr weitgehende Schlüsse:

1. Die innere Ursache des Krebses soll bei der allem Wachstum zugrunde liegenden enzymatischen Eiweißsynthese liegen; „es handelt sich darum, daß die Krebszelle die Fähigkeit verloren hat, in ihr Struktureiweiß wie die normale Zelle ausschließlich die „natürlichen“ Aminosäuren einzubauen.“ Die Ursache der Krebsentstehung wird primär in einer Schädigung des proteolytischen Fermentsystems gesehen. Durch Synthese unrichtiger Proteine entstehen echte Krebszellen.

2. Man kann sich vorstellen, „daß normale Zellen dem Vordringen von Tumorzellen keinen Einhalt bieten können, da ihnen die betreffenden proteolytischen Fermente fehlen.“ „Damit sind die Voraussetzungen für das infiltrierende und destruierende Wachstum gegeben.“

3. Um den Anschluß an die tumorerzeugenden Virusarten zu finden, wird noch die Möglichkeit diskutiert, daß in gewissem Sinne „die autokatalytisch wirksamen Tumorermente als vom Organismus selbst erzeugte Virusarten aufgefaßt werden“ könnten.

Unzweifelhaft liegt in den Befunden von *Kögl* ein Ergebnis von größter Bedeutung vor, das allein schon durch die Aufdeckung gänzlich neuer Fragestellungen auf vielen Gebieten der biologischen Chemie, Physiologie und Pathologie von unschätzbarem Wert ist. Wieweit sich die von *Kögl* im ersten Stadium der Untersuchungen gezogenen Schlußfolgerungen im einzelnen als richtig erweisen, in welcher Weise sie ergänzt und ausgebaut werden müssen, ob insbesondere die experimentell zunächst nach der Zellentartung festgestellte Besonderheit im Tumoreiweiß einen Schluß auf die Ursache der Geschwulstentstehung zuläßt, kann nur durch umfangreiche weitere Experimente geklärt werden.

Inzwischen sind bereits zahlreiche Arbeiten erschienen, die sich mit der Bedeutung der neuen Befunde beschäftigen. Es erscheint bemerkenswert, daß *Kögl* auch in dem durch ein Virus bedingten *Sanarelli-Myxom* des Kaninchens einen relativ hohen Gehalt (16,5%) an d-Glutaminsäure gefunden hat. Im ersten Teil dieses Vortrags wurde bereits darauf hingewiesen, daß die bei der Allgemeinerkrankung der Myxomatose auftretenden Schwellungen histologisch keine Beziehungen zu

<sup>18)</sup> Über den Stoffwechsel der Tumoren, Berlin 1920.

<sup>19)</sup> Vgl. *H. Druckrey* u. Mitarb., Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Pathol. Pharmacol. **180**, 231 [1936], **188**, 430 [1938].

<sup>20)</sup> Vgl. *Th. Bersin*, „Neoplasten“, in „Kurzes Lehrbuch der Enzymologie“, 2. Aufl. Leipzig 1939.

<sup>21)</sup> *H. von Euler*, „Biochemische Krebsprobleme“, Dtsch. med. Wschr. **1938**, Nr. 48 und 49; Z. Krebsforsch. **49**, 46 [1939].

<sup>22)</sup> Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **258**, 57 [1939], **261**, 141, 154 [1939].

<sup>23)</sup> *F. Kögl, H. Erxleben* u. *H. Herken*, ebenda **263**, 107 [1940].

echtem Geschwulstwachstum erkennen lassen. Findet man in den schleimigen, rein nekrotischen Schwellungen des Kaninchenmyxoms racemisierte Aminosäuren als Eiweißbestandteil im gleichen Maße wie bei bösartigen Tumoren, so muß man in diesem Befund einen Hinweis darauf erblicken, daß es sich hier offenbar nicht um ein für Geschwulstwachstum streng spezifisches Phänomen handelt, sondern um eine Erscheinung von möglicherweise allgemeinerer Bedeutung<sup>24</sup>); Kögl selbst hat darauf hingewiesen, daß seine neue Geschwulsttheorie die Möglichkeit in sich tragen könne, die verschiedenartigsten Formen des entarteten Wachstums zu umfassen<sup>25</sup>).

Durch die Befunde am Myxom wird zugleich die Frage aufgeworfen, ob die racemisierten Aminosäuren mit Sicherheit dem Eiweiß der lebenden Krebszellen, nicht aber dem nekrotischen Gewebe entstammen, das in mehr oder minder starkem Maße in jeder Geschwulst vorhanden ist. Kögl hält letztere Möglichkeit aus biologischen und chemischen Gründen für sehr unwahrscheinlich und konnte kürzlich an Jensen-Sarkomen und Benzpyren-Tumoren experimentell zeigen, daß der Racemisierungsgrad der Glutaminsäure bei den Proteinen aus nekrosearmen und nekrosereichen Gewebsanteilen praktisch völlig übereinstimmt<sup>26</sup>). Diese Befunde stehen im Gegensatz zu Angaben von C. Dittmar<sup>27</sup>), der aus frischem Jensen-Sarkom reine l-Form, aus Nekrosen dagegen partiell racemische Glutaminsäure erhielt. Obwohl sich die Analysen von Dittmar bisher nur auf wenige Fälle erstrecken, scheint eine endgültige Entscheidung in dieser Frage noch nicht getroffen zu sein<sup>28</sup>).

Der Auffassung, daß in dem anormalen Bau der Tumorphosphate die Voraussetzung für das infiltrierende und destruierende Wachstum liegen könnte, weil den normalen Zellen die notwendigen proteolytischen Enzyme zum Abbau des Fremdeiweiß fehlen, könnte man entgegen, daß man auf Grund der von E. Abderhalden begründeten Lehre von den Abwehrfermenten dem gesunden Organismus die Fähigkeit zubilligen müßte, gegen jedes Fremdeiweiß ein auf dieses eingestelltes Enzym zu synthetisieren. Kürzlich zeigte tat-

sächlich Waldschmidt-Leitz<sup>29</sup>) im Anschluß an die Arbeiten Kögls, daß sich im Serum Geschwulstkranker im Gegensatz zum normalen Serum „d-Peptidasen“ befinden, Enzyme, die Peptide und Peptidester mit der d-Reihe angehörenden Aminosäuren als Bausteine zu spalten vermögen, und es gelang ihm weiter<sup>30</sup>), an der Ratte durch intravenöse Injektion racemischer Peptide das Auftreten beachtlicher Mengen von d-Peptidase im Serum künstlich hervorzurufen. „Der Organismus beantwortet also in diesem Fall das Eindringen von Eiweißabbauprodukten unnatürlicher Konfiguration mit der Auslösung von Enzymen mit neuartiger Wirkung zu deren Abbau.“ An diesen Befund, dessen allgemeine Bedeutung und dessen Verwendbarkeit für die Carcinomdiagnose erst nach dem Vorliegen eines großen Materials beurteilt werden kann, hat sich ein Experiment von Waldschmidt-Leitz<sup>30</sup>) angeschlossen, das einen ersten Versuch darstellt, die Befunde von Kögl experimentell mit der Frage nach der Entstehung der Tumoren zu verknüpfen: 4 Mäuse wurden täglich auf der Rückenhaut mit einer 1%igen ätherischen Lösung von Benzpyren gepinselt. Durch diese hohe Dosierung wird eine Allgemeinschädigung der Tiere gesetzt, die sich in einem starken Gewichtsverlust innerhalb von 30 Tagen äußert und nach 50 Tagen zu einer allgemeinen Kachexie und zu Anzeichen einer Carcinomentwicklung führte. 4 gleichartig behandelte Mäuse erhielten gleichzeitig jeden 2. Tag eine Injektion von 0,2 cm<sup>3</sup> einer 1%igen Lösung von dl-Glutaminyglycin in Kochsalzlösung in die Schwanzvene. Durch diese Injektionen wird nach Waldschmidt-Leitz eine frühzeitige Bildung von Abwehrfermenten gegen d-Peptide hervorgerufen; sie hatten zur Folge, daß bei den behandelten Tieren die Abmagerung ausblieb und die Hautreaktionen hintangehalten wurden. Die Tragweite dieser erst vor wenigen Tagen veröffentlichten Ergebnisse kann noch nicht abgeschätzt werden; es gilt zunächst zu prüfen, ob auch die Entstehung eines gut ausgebildeten Papilloms und echten Carcinoms an der Nackenhaut der Mäuse durch einen entsprechenden Eingriff zu verhüten ist, und ob die Behandlung mit d-Peptiden für den Erfolg wirklich spezifisch war<sup>31</sup>). Wie auch immer sich die weitere Entwicklung gestalten wird, die Erwartungen, die man in die durch Kögls geniale Idee eingeleitete Forschungsrichtung setzen kann, sind groß!

Eingeg. 15. Juni 1940. [A. 68.]

<sup>24</sup>) J. Klink, a. a. O.

<sup>25</sup>) Zusatz bei der Drucklegung des Vortrags: Inzwischen ist das Sanarelli-Myxom gerade unter diesem Gesichtspunkt erneut in einer Arbeit aus dem Utrechter Institut behandelt worden: H. Erxleben u. H. Herken, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **264**, 244 [1940].

<sup>26</sup>) F. Kögl, H. Erxleben u. H. Herken, ebenda **263**, 107 [1940].

<sup>27</sup>) Z. Krebsforsch. **40**, 441 [1939].

<sup>28</sup>) Zusatz bei der Drucklegung des Vortrags: Bemerkenswerterweise konnte inzwischen aus nicht infizierter, völlig nekrotisierter Kaninchenniere nur reine l-Glutaminsäure isoliert werden. Damit wurde erstmalig degeneriertes nicht carcinomatöses Gewebe analysiert und praktisch frei von d-Glutaminsäure gefunden: H. Erxleben u. H. Herken, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **264**, 240 [1940].

<sup>29</sup>) E. Waldschmidt-Leitz u. K. Mayer, ebenda Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **262**, IV [1939].

<sup>30</sup>) E. Waldschmidt-Leitz, K. Mayer u. R. Hatschek, ebenda **263**, I [1940].

<sup>31</sup>) Zusatz bei der Drucklegung des Vortrags: Zu diesen Fragen vgl. die inzwischen erschienene Diskussion H. Bayerle u. F. H. Podlucky mit E. Waldschmidt-Leitz u. R. Hatschek, ebenda **264**, 189, 196 [1940].

## Enzymchemische Ergebnisse und Aufgaben in der Krebsforschung

Von Prof. Dr. H. von EULER, Biochemisches Institut der Universität Stockholm

Die Forschung, welche uns dem Ziel, der erfolgreichen rationellen Krebsbekämpfung, durch Einsicht in das Wesen der malignen Tumoren näher bringen soll, umfaßt eine Reihe von Problemen verschiedener Art:

Für die Krebsentstehung kommen zunächst die Erb-anlagen in Betracht; von größter Bedeutung sind die Mutationsvorgänge an den einzelnen Zellen, und eine lebhaft Forschung behandelt den Einfluß von carcinogenen Substanzen und von Strahlenvorgängen. Wichtige Aufgaben betreffen die histologische Kennzeichnung der Krebsgewebe, ferner die Besonderheiten des Stoffwechsels einerseits der Tumoren selbst und andererseits des ganzen krebserkrankten Organismus. Von unmittelbar medizinischem Interesse sind die Methoden der Frühdiagnose<sup>1</sup>) des Krebses und die Methoden zur Vernichtung und Rückbildung der Geschwülste.

Aus der Vielheit dieser Aufgaben geht schon hervor, welche Einschränkungen gemacht werden müssen, wenn man von der Lösung des Krebsproblems sprechen will.

Chemische Forschung ist in den letzten Jahren auch auf diesem Gebiet der inneren Medizin in den Vordergrund getreten, und so folge ich gern der Anregung der Redaktion, über einige neuere Ergebnisse der chemischen Krebsforschung zu berichten. Es kann nicht die Rede davon sein, hier eine

auch nur einigermaßen vollständige Darstellung zu geben. Davon kann um so eher abgesehen werden, als einzelne Teile dieser Forschung in dieser Zeitschrift bereits eine sachkundige Darstellung gefunden haben<sup>1,2</sup>).

### Entstehung der malignen Tumoren.

Maßgebende Forscher sind gegenwärtig darüber einig, daß die individuelle Prädisposition für maligne Tumoren eine vererbare Eigenschaft ist. Einer künftigen serologischen Forschung bleibt es aber vorbehalten, die am Mechanismus der Krebsabwehr beteiligten Stoffe chemisch zu charakterisieren.

Chemische Reize. Der augenfälligste chemische Erfolg auf diesem Gebiet ist zweifellos die Auffindung und Konstitutionsaufklärung bestimmter carcinogener Substanzen von hoher Wirksamkeit, deren Kenntnis sich aus dem Studium des Teerkrebses (Yamigawa u. Ichikawa, 1915) entwickelt hat. Carcinogene Substanzen sind in der letzten Zeit wiederholt auch in der deutschen chemischen Literatur zusammenfassend dargestellt worden<sup>3</sup>), so daß ich mich auf einen Hinweis auf diese Übersichten beschränken kann.

<sup>1</sup>) Vgl. F. Kögl, diese Ztschr. **52**, 212 [1939].

<sup>2</sup>) J. W. Cook, Ber. dtsch. chem. Ges. **69**, A 38 [1936]; Butenandt, Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Pathol. Pharmacol. **100**, 74 [1938]; Butenandt in Adam-Auler: Neuere Ergebn. auf dem Gebiete d. Krebskrankheiten. 1937, S. 75. Siehe ferner Stubbe, diese Ztschr. **50**, 241 [1937].

<sup>1</sup>) Vgl. dazu den Aufsatz Hinsberg in diesem Heft.