

Heterologe Transplantation von Tumoren bei Vorbehandlung der Empfängertiere mit Gewebe der Spendertiere während der Embryonalzeit¹

Die Überlebenszeit von homologen und heterologen Transplantaten ist sehr begrenzt. Nach den klassischen Arbeiten von MEDAWAR liegen der Zerstörung von homologen Transplantaten immunologische Mechanismen zugrunde (zusammenfassende Darstellung siehe MEDAWAR²). BILLINGHAM, BRENT und MEDAWAR³ gelang es mit einer neuen Methode, ein unbegrenztes Überleben homologer Hauttransplantate zu ermöglichen. Sie besteht darin, dem Empfängertier eines Stammes A während des embryonalen Lebens Gewebe eines Tieres des Spenderstammes B zu überimpfen. Sie erreichten damit eine aktiv erworbene Toleranz gegenüber homologem Gewebe. Wir haben versucht, dieses Prinzip auch bei der heterologen Transplantation von Tumorgewebe anzuwenden. Als Transplantationssystem diente uns die Übertragung des Mäuse-Crockersarkoms S 180 auf Ratten.

Methodik

A. *Vorbehandlung der Rattenembryonen mit Mäusezelluspensionen.* 150–250 g schwere schwangere Albino-ratten wurden 1–7 Tage vor dem Geburtstermin operiert. In Avertinnarkose wurde die Bauchhöhle eröffnet und der Uterus vorgelagert. Die Embryonen waren durch die durchsichtige Uteruswand gut erkennbar. Die Injektionen von Mäusegewebe erfolgten mittels einer feinen Nadel durch die Uteruswand in den Rumpf der Embryonen. Die Rattenembryonen erhielten eine Mischung von Leber- und Milzgewebe erwachsener Albinomäuse. Die Zellsuspensionen stellten wir folgendermassen her: Leber und Milz wurden steril entnommen, fein zerkleinert und in physiologischer Kochsalzlösung im Potter-Apparat homogenisiert. Diese Mäusezelluspensionen wurden den Rattenembryonen je nach Grösse in einer Menge von 0,025 bis 0,05 cm³ eingespritzt. Nachher erfolgte sorgfältige Naht von Peritoneum, Bauchdecken und Haut. Ein Teil der vorbehandelten Embryonen wurde jeweils tot geboren. Der andere Teil entwickelte sich normal.

B. *Transplantation von Mäuse-Crockersarkom S 180.* Sobald die jungen Ratten ein Gewicht von 50 g erreichten, wurde ihnen das Mäuse-Crockersarkom S 180 subkutan implantiert. Die transplantierten Tumorstückchen hatten eine Grösse von 1 bis 2 mm³ und wurden weissen Mäusen von etwa 12 g entnommen. Als Kontrollen verwendeten wir Albinoratten von 50 g, denen jeweils Stückchen des gleichen Tumors implantiert wurden. Als Mass der Tumogrösse diente uns das Produkt aus den beiden grössten Durchmessern des Tumors.

Resultate

Bei den Kontrollratten wuchs der Mäusetumor nur während einiger Tage und in ganz geringem Ausmass weiter. Bei den vorbehandelten Ratten entwickelte er sich jedoch sehr rasch zu beträchtlicher Grösse. Aus der Tabelle ist der Unterschied in der durchschnittlichen Tumogrösse zwischen vorbehandelten und Kontroll-

ratten ersichtlich. Nach 10–15 Tagen bildeten sich jedoch die Tumoren langsam zurück und wurdennekrotisch.

Durchschnittliche Tumogrösse bei vorbehandelten und Kontrollratten, 10 Tage nach der heterologen Transplantation mit Mäuse-Crockersarkom S 180.

Ratten 50 g Gewicht	Anzahl der Tiere	Tumogrösse in mm ² Länge × Breite
Kontrolltiere	12	6
Mit Mausgewebe in der Embryonalzeit vorbehandelte Tiere	22	350

Durch Vorbehandlung von Rattenembryonen mit Mäusezelluspensionen gelingt es, die Abwehr dieser Ratten gegen später implantiertes Mäusetumorgewebe zu modifizieren. Wir erreichten nur eine partielle Toleranz gegenüber heterologem Tumorgewebe, während BILLINGHAM, BRENT und MEDAWAR¹ gegenüber homologem Hautgewebe eine totale Toleranz beobachteten. Möglicherweise beruht dies darauf, dass die immunologischen Reaktionen gegenüber heterologem Gewebe nur abgeschwächt werden, während sie gegenüber homologem Gewebe völlig ausgeschaltet werden.

W. BOLLAG

Medizinische Universitätsklinik, Kantonsspital Zürich,
den 30. November 1954.

Summary

Rats were treated during embryonic life with mouse tissue. When these rats had reached a weight of 50 g they were implanted with the Crocker sarcoma S 180 of the mouse. These heterologous tumors grew to a large size but not indefinitely.

¹ R. E. BILLINGHAM, L. BRENT und P. B. MEDAWAR, Nature 172, 603 (1953).

Die Eisenaufnahme der Normoblasten in bezug auf ihre Reifungsaktivität

In der vorliegenden Arbeit haben wir uns zur Aufgabe gesetzt, zu untersuchen, wie das erythropoetische Gewebe das Eisen verwertet.

Der Versuch wurde an 4 Hunden ausgeführt. Jedem wurde nüchtern durch Magensonde 5 mg ⁵⁵FeCl₂, äquivalent etwa 2·10⁶ Impulsen, je Minute verabreicht. Die regelmässig in Intervallen von 24 h entnommenen Blutproben wurden auf ihre Radioaktivität je Volumeneinheit der zentrifugierten Erythrozytenmenge geprüft. Die totale Radioaktivität, die von 24 zu 24 h im Gesamt-hämoglobin gehalt vorhanden ist, wurde auf Grund der Erythrozytenmassenwerte berechnet.

Die grösste Konzentration des markierten Eisens wurde in den kreisenden Erythrozyten in der dritten Woche nach der Verabfolgung vorgefunden. Die täglich für jeden Hund bestimmten Anteile wurden als Prozente der entsprechenden verwerteten Maximalquoten angegeben. Aus den so erhaltenen Prozentzahlen wurden für jeden Tag Mittelwerte berechnet, wobei für den 18. Tag eine Verwertung von 100 % anzunehmen ist (siehe Tabelle).

¹ Die Arbeit wurde mit Hilfe des Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung durchgeführt.

² P. B. MEDAWAR, General problems of immunity in Preservation and Transplantation of normal tissues. J. + A. Churchill Ltd., London, 1954.

³ R. E. BILLINGHAM, L. BRENT und P. B. MEDAWAR, Nature 172, 603 (1953).

Zeit in Tagen	Mengen des ^{55}Fe in den kreisenden Erythrozyten in %					Durchschnittswerte der Mengen des ^{55}Fe in %				
	Hunde				Durchschnittswerte	täglich ausgeschwemmt		vom erythropoetischen Gewebe täglich aufgenommen	von den Zellelementen des erythropoetischen Gewebes täglich in jedem der drei angenommenen Reifegrade aufgenommen	
	1.	2.	3.	4.		experimentell	berechnet		3.	2.
1	4,61	6,40	4,52	2,75	4,57	4,57	(4,57)	38,08	4,57	7,95
2	15,66	20,62	14,93	10,15	15,34	10,77	(10,77)	23,57	2,82	4,92
3	50,81	56,68	44,13	38,70	47,58	32,24	(32,24)	14,60	1,75	3,04
4	69,71	74,94	62,41	54,90	65,49	17,91	19,96	9,04	1,08	1,88
5	83,79	89,18	77,91	64,62	78,85	13,36	12,36	5,60	0,67	1,16
6	88	97,52	85,26	77,06	86,96	8,11	7,65	3,46	0,41	0,72
7	90,55	98,73	93,18	85,38	91,96	5	4,74	2,12	0,25	0,44
8	93,01	99,33	96,22	90,56	94,78	2,82	2,93	1,33	0,16	0,27
9	94,44	99,67	97,73	93,08	96,23	1,45	1,82	0,82	0,09	0,17
10	95,95	99,83	99,34	94,60	97,43	1,20	1,13	0,51	0,06	0,10
12	97,38	100	99,76	96,45						
15	98,96		100	98,22						
18	99,68			99,16	100					
21	100			99,75						
24				100						

Die Differenz der Konzentration im kreisenden Hämoglobin an zwei aufeinanderfolgenden Tagen ist gleich der Menge des radioaktiven Hämoglobineisens, das pro Tag ausgeschwemmt wird. In der Tabelle sind die Prozente der total verwerteten Menge angegeben. Man kann beobachten, dass die tägliche Ausschwemmung in den ersten 3 Tagen progressiv ansteigt, um dann vom 4. Tage an wieder abzunehmen.

Aus den Daten, die wir über die mittlere Reifungs dauer des Normoblasten¹ und des Retikulozyten² besitzen, lässt sich berechnen, dass die Zeit zwischen dem Augenblick, in dem die Zelle anfängt, Eisen aufzunehmen (Beginn der Polychromatophilie), und dem Augenblick, in dem sie in den Kreislauf ausgeschwemmt wird (2. retikuläre Reifungsphase HEILMEYERS³), im Durchschnitt 3 Tage beträgt.

Wir teilen nun diese Reifungsperiode in 3 gleiche, aufeinanderfolgende Phasen zu je 24 h ein und bezeichnen diese als ersten, zweiten und dritten Reifegrad. Das vom erythropoetischen Gewebe in jedem Zeitpunkt aufgenommene Eisen verteilt sich auf alle im Augenblick anwesenden Elemente, die sich im 1., 2. oder 3. Reifegrad befinden.

Die im kreisenden Hämoglobin am Ende des ersten Tages anwesende Menge Radioeisens (= 4,57 %) entspricht der Menge, die am selben Tage von den im 3. Reifegrad befindlichen Zellelementen aufgenommen wurde. Die Menge, die am 2. Tage im kreisenden Hämoglobin erscheint (= 10,77 %) ist gleich der von den Elementen im 2. und 3. Reifegrad am ersten und zweiten Tag aufgenommenen. Die am dritten Tage ausgeschwemmte Menge (= 32,24 %) ist gleich der Summe der von den Elementen im 1., 2. und 3. Reifegrad am ersten, zweiten oder dritten Tage aufgenommenen Mengen.

Wenn sich nun die vom erythropoetischen Gewebe aufgenommene Radioeisenmenge Tag für Tag konstant hielte, so könnte man annehmen, dass von der in den Kreislauf am zweiten Tage ausgeschwemmten Menge

(= 10,77 %) der von den Elementen im 3. Reifegrad verwertete Anteil demjenigen im gleichen Stadium am ersten Tage aufgenommenen und ausgeschwemmten gleich sei (= 4,57 %). Der übrigbleibende wäre dann also der Anteil ($10,77\% - 4,57\% = 6,20\%$), der von den am ersten Tage im 2. Reifegrad befindlichen Zellelementen aufgenommen worden ist. Wenn wir dieser Annahme weiter für die am dritten Tage in Umlauf gesetzte Menge (32,24 %) folgen, so könnte man behaupten, dass davon 4,57 % von Zellelementen des 3. Reifegrades verwertet werden, während 6,20 % auf die Zellelemente im 2. Reifegrad entfallen. Der verbleibende Teil ($32,24\% - [4,57\% + 6,20\%] = 21,44\%$) ist in den Zellelementen des 1. Reifegrades enthalten. Die am ersten Tage vom erythropoetischen Gewebe aufgenommene Menge wäre dann der am dritten Tage ausgeschwemmten gleich.

Dagegen ist es ohne weiteres klar, dass die vom erythropoetischen Keimgewebe verbrauchte Menge am zweiten Tag prozentual *kleiner* ist als am ersten Tag und auch an den folgenden Tagen laufend abnimmt. Daraus folgt, dass von dem am zweiten Tage ausgeschwemmten Anteil (10,77 %) nicht 4,57 %, sondern *weniger* von den Zellelementen im 3. Reifegrad aufgenommen worden ist und daher nicht 6,20 % sondern eine etwas *größere* Menge von den Elementen im 2. Reifegrad verwertet wurde. Wenn wir jetzt die gleiche Überlegung auch auf den dritten Tag anwenden, so kommen wir zum Schluss, dass nicht nur 21,44 % am ersten Tage von den Erythroblasten im 1. Reifegrad ausgenutzt worden sind, sondern ein *höherer* Prozentsatz.

Die am ersten Tage vom erythropoetischen Gewebe aufgenommene Gesamtmenge entspricht also der Summe: $4,57 + (> 6,20\%) + (> 21,44\%)$, und diese Summe ist natürlich *größer* als $(4,57\% + 6,20\% + 21,44\%) = 32,24\%$, das heisst *größer* als die Menge, welche am dritten Tage ausgeschwemmt wird.

Diese Menge haben wir nun mit Hilfe der fortgesetzten Approximationsrechnung berechnet, unter der Voraussetzung, dass

1. der vom erythropoetischen Gewebe am ersten Tage aufgenommene Prozentsatz zumindest der am dritten Tage im Kreislauf auftretenden Menge gleich ist und dass
2. der am Ende des ersten Tages in Umlauf befindliche Prozentsatz die von den Zellelementen aufge-

¹ F. KOLLER, Dtsch. Arch. Klin. Med. 184, 568 (1939). – A. BASSERA, Progr. Med. 2, 394 (1946). – G. ASTALDI und P. TOLENTINO, J. Clin. Path. 2, 217 (1949).

² A. NIZET, Acta Biol. Belg. 2, 170 (1942). – C. M. PLUM, Acta Haematol. 2, 317 (1949).

³ K. ROHR, *Das menschliche Knochenmark* (Verlag Thieme, Stuttgart 1949).

nommene Menge ist, die ihre Reife innerhalb 24 h beendet haben (Elemente im 3. Reifegrad).

Es wurden dann proportional die Prozentsätze des Eisens berechnet, das an den folgenden Tagen aufgenommen wird, sowie ihre Verteilung auf die drei von uns angenommenen Reifegrade. Die so berechneten Werte wurden in die Tabelle eingesetzt: In der Kolonne 4 befinden sich die Werte bezogen auf die täglich vom erythropoetischen Gewebe verwerteten Prozentsätze, und in der 5. Kolonne sind die von den Zellelementen im 1., 2. oder 3. Reifegrad täglich aufgenommenen Mengen eingetragen.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen erlauben nun die Art und Weise zu definieren, in der das erythropoetische Gewebe eine bestimmte exogene Eisenmenge verwertet:

1. *Täglich vom erythropoetischen Gewebe verwertete Prozentsätze.* Die Hauptmenge des Eisens (38%) wird vom erythropoetischen Gewebe am ersten Tage aufgenommen. Im weiteren Verlauf sinken die aufgenommenen Eisenmengen ständig ab.

Ein Überschlag über die im Laufe der Zeit vom erythropoetischen Gewebe insgesamt aufgenommenen Eisenmengen ergibt, dass 50% der Gesamtmenge in etwa 1½ Tagen verwertet wird. Wir bezeichnen diesen Zeitabschnitt als die Halbperiode der Aufnahme. Die mittlere Verwendungszeit ist also 3 Tage.

2. *Prozentsätze der Mengen, die täglich von den erythropoetischen Zellelementen in den 3 angenommenen Reifegraden im Laufe von je 24 h aufgenommen werden.* Jede der täglich von dem erythropoetischen Gewebe aufgenommenen Mengen verteilt sich auf die 3 angenommenen Reifegrade so, dass die Zellen im 1. Reifegrad (Reifungsdauer = 48–72 h) 67,12% aufnehmen; jene des 2. Reifegrades (Reifungsdauer = 24–48 h) 20,87% und die des 3. Reifegrades (Reifungsdauer = 0–24 h) 12%. Es scheint klar, dass die von den Zellelementen verwertete Eisenmenge mit dem Fortschreiten der Reifung abnimmt. Und zwar werden von den Zellelementen aufgenommenen Eisenmenge 67,12% am ersten, 20,87% am zweiten und 12% am dritten Tage verwertet. Wenn wir nun diese Werte als Zeitfunktion in einem Diagramm darstellen, so geht daraus hervor, dass 50% des Eisens von den Normoblasten in etwa 15 h aufgenommen werden.

U. SALERA, G. TAMBURINO und
S. FINOCCHIARO

Medizinisch-pathologisches Institut der Universität Rom, den 15. Dezember 1954.

Riassunto

Gli autori studiano l'utilizzazione del ferro esogeno da parte del tessuto eritropoietico. In base ai dati relativi alla velocità di immissione in circolo dell'Hb marcata, dopo somministrazione enterale di ^{55}Fe , essi stabiliscono che: 1. la massima quota di ferro viene utilizzata dal tessuto eritropoietico il primo giorno; 2. il 50% della quantità totale destinata all'emoglobinogenesi viene utilizzata in 1,5 giorni (= semiperiodo di utilizzazione); 3. l'assunzione di ferro da parte dell'eritroblasto è un processo continuo, che una volta iniziato, si svolge durante tutto il rimanente periodo di maturazione (3 giorni); 4. la quantità di ferro utilizzata dall'elemento cellulare decresce con il progredire della maturazione: il 50% viene assunto in circa 15 ore.

Über Vorkommen von Kohlensäureanhydratase in der menschlichen Haut

Von KURATA¹ wurde erstmals eine Methode zur Darstellung der Kohlensäureanhydratase (KAH) angegeben. Das technische Vorgehen wurde zur Erreichung eines einwandfreien Fermentnachweises in histologischen Schnitten von uns modifiziert. Abbildung 1 zeigt Ablagerungen von schwarzem Kobaltsulfid als Zeichen starker Fermentaktivität in den Tubulus-Epithelien der Niere.

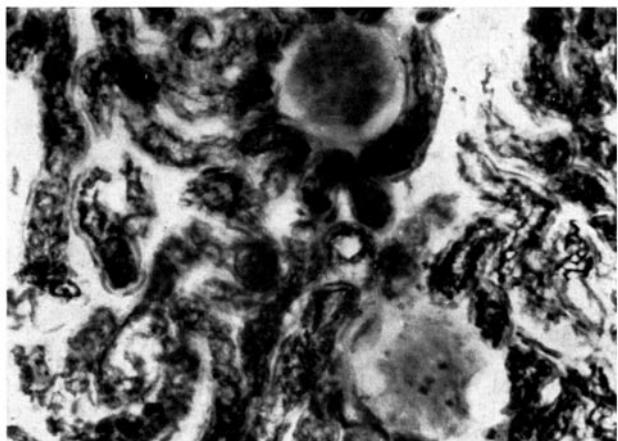


Abb. 1. Niere des Meerschweinchens. Intensive Kohlensäureanhydratase-Aktivität (Kobaltsulfid-Niederschläge) in den Tubulus-Epithelien.

Unter gleichem Vorgehen gelang es uns, auch in der menschlichen Haut KAH nachzuweisen. Bei relativ geringem Vorkommen von KAH in den basalen Zelllagen der Epidermis überraschte die intensive Fermentaktivität in den sekretorischen Epithelien der ekkrinen Schweißdrüsen (Abb. 2). Wahrscheinlich ist diese hohe



Abb. 2. Ekkrine Schweißdrüsen der menschlichen Haut. Intensive Kohlensäureanhydratase-Aktivität in den sekretorischen Epithelien.

Fermentaktivität mit der sauren Reaktion des Schweißes in Verbindung zu bringen. In diesem Sinne sprechen auch Versuche mit dem KAH-Inhibitor Diamax (LEDERLE). Eine ausführliche Veröffentlichung unserer histochemischen Methode, der Befunde sowie ihrer Deutung hinsichtlich des pH und der Ionenzusammensetzung im Schweiß ist im Archiv für Dermatologie und Syphilis vorgeschenkt.

O. BRAUN-FALCO und B. RATHJENS
Universitäts-Hautklinik Mainz, den 28. Januar 1955.

¹ K. Y. KURATA, Stain. Technol. 28, 231 (1953).