

Fluorescent Mast Cell in Precancerous Mouse Skin

One of the results of painting the skin of mice with tar or a carcinogenic hydrocarbon is the gradual development of a mast cell reaction in the altered dermis¹. Despite some evidence to the contrary², such mast cells are said to exhibit a golden-brown fluorescence in ultra-violet light³.

While investigating this problem, using fresh tissue spreads or frozen material unfixed in any other way, it was observed that the golden-brown fluorescence appears in the mast cells of the precancerous dermis only after treatment with formalin, and that a non-fluorescent precursor substance can be extracted from the mast cells by prolonged immersion of the tissue in acetone.

Since we⁴ have recently confirmed the findings of others⁵ that the mast cells of the mouse (and rat) are exceptional in containing not only histamine, but also 5-hydroxytryptamine (5-HT), it seemed of interest to discover whether the fluorescent material in precancerous skin is 5-HT which can be converted into a fluorescent β -carboline derivative by the action of formaldehyde⁶.

Twenty four stock mice of either sex were painted twice, 7 days apart, along the entire length of the back with an 0.5% solution of 9,10-dimethyl-1,2-benzanthracene in acetone. 3 months later the mice were killed and the treated portions of skin excised. Vertical and horizontal frozen sections, free-hand sections and tissue spreads prepared from dermal scrapings, with or without additional fixation in 10% formalin, were examined under the microscope in ultra-violet light and then stained either with toluidine blue for mast cells, or with acetylated Sudan black for phospholipids⁷. These histological experiments confirmed that most of the golden-brown fluorescence in the mast cells of precancerous mouse skin is due to the action of formaldehyde on a substance which can be extracted with acetone. Treatment with acetone did not affect the ability of the granules to stain with either toluidine blue or with acetylated Sudan black.

The chemical identity of the fluorescing substance was arrived at as follows. Dermal scrapings from ten other treated skins were homogenized in acetone, and the extract was concentrated *in vacuo*. Fats were removed with petroleum ether. The final extract, when treated with formaldehyde, exhibited a golden-brown fluorescence in ultra-violet light, similar to that seen in the tissues, and having its maximum around 2800 Å. Further extraction of the skins with fat solvents failed to yield additional material giving the characteristic fluorescence. Chromatographic examination of the original acetone concentrate, as described in detail elsewhere⁴, indicated that the fluorescing substance is 5-HT.

There is now ample evidence that mast cells in general are rich in histamine⁸. Just why the mast granules of the

mouse and rat manufacture or store a second amine, 5-HT, is unknown. Work is in progress to trace the source of this 5-HT which, in the mast cells of precancerous mouse skin, reaches a concentration normally achieved only by the cells of the enterochromaffin system⁹.

The possibility remains that some, at least, of this 5-HT is derived, directly or indirectly, from the precancerous epidermis itself and that the elucidation of the problem may shed light on a chain of events, which, in the mouse (and rat), is prone to end in the development of cancer.

J. F. RILEY

Department of Radiotherapy, Royal Infirmary, Dundee (Scotland), December 23, 1957.

Résumé

L'application d'un hydrocarbure cancérigène à la peau de la souris est suivie d'une mastocytose très nette qui évolue dans le tissu conjonctif. Après traitement au formaldéhyde d'une coupe gelée, quelques mastocytes prennent au microscope à fluorescence une couleur brun doré. Par essai direct et par chromatographie sur papier, on a constaté que la substance fluorescente est le dérivé β -carboline de la 5-hydroxy-tryptamine.

⁹ E. P. BENDITT and RUTH L. WONG, J. exp. Med. 105, 509 (1957).

Beobachtungen über Fälle von frühzeitiger Trächtigkeit bei der Albino-Maus

Die Geschlechtsreife der weiblichen Albino-Maus kündigt sich durch verschiedene Erscheinungen an: Eröffnung des Vaginalverschlusses, erster Oestrus, erste Begattung, erste Trächtigkeit. Diese Erscheinungen treten nicht ganz gleichzeitig auf und bedingen einzeln noch nicht die volle Geschlechtsreife. Der Vaginalverschluss wird bei der Maus nicht, wie vielfach angegeben wird¹, durch eine Membran gebildet, sondern durch einen weit in die Vagina hineinragenden soliden Gewebepfropf (BLOCH²), Abbildungen 1 und 2. Die ersten Begattungen führten nach MIRSKAIA und CREW³ nur in 24% der Fälle zur Trächtigkeit, während bei 3–6 Monate alten Weibchen der Prozentsatz 80–90 betrug. Da die jungen Mütter oft den ersten Wurf fressen oder selber bei oder unmittelbar nach dem Wurf sterben, nehmen diese Autoren an, dass der jugendliche Organismus für die Produktion und Aufzucht der Jungen nicht reif ist, und definieren die Geschlechtsreife als die Fähigkeit, lebensfähigen Nachwuchs zu erzeugen und aufzuziehen. Dass die erste Aufzucht oft nicht gelingt, konnte ich bei der Maus häufig beobachten.

KIRKHAM⁴ gibt für die Geschlechtsreife der Maus 6 Wochen an, PARKES⁵ für die Eröffnung der Vagina das Ende der 7. Woche, für die erste Ovulation den 56. Tag. ENGLE

¹ W. WOGLUM, Arch. Path. 2, 533 und 709 (1926).

² H. HOLMGREN und G. WOHLFART, Cancer Res. 7, 686 (1947).

³ W. CRAMER und W. L. SIMPSON, Cancer Res. 4, 601 (1944). – W. L. SIMPSON in *Connective Tissue in Health and Disease* (Ed. G. Asboe-Hansen, Copenhagen, Munksgaard 1954), p. 225.

⁴ R. CASS, P. B. MARSHALL, and J. F. RILEY, J. Physiol. (to be published).

⁵ E. P. BENDITT, RUTH L. WONG, MARGARET ARASE, and ELIZABETH ROEPER, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 90, 303 (1955). – G. B. WEST and J. R. PARRATT, Arch. dermatol. 76, 336 (1957).

⁶ R. BARTER and A. G. E. PEARSE, J. path. Bact. 69, 25 (1955). – J. B. JEPSON and B. J. STEVENS, Nature 172, 772 (1953).

⁷ W. G. B. CASSELMAN, Q. J. microsc. Sci. 95, 321 (1954).

⁸ J. F. RILEY and G. B. WEST, J. Physiol. 120, 528 (1953).

¹ G. D. SNELL, in *Biology of the Laboratory Mouse* (The Blakiston Company, Philadelphia 1941), p. 55.

² SUZANNE BLOCH, Verh. Schweiz. Naturf. Ges. Basel 136, 135 (1956).

³ L. MIRSKAIA und F. A. E. CREW, Proc. Roy. Soc. Edinburgh 50, 179 (1930).

⁴ W. B. KIRKHAM, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 17, 196 (1920), zit. in L. MIRSKAIA und F. A. E. CREW, Proc. Roy. Soc. Edinburgh 50, 179 (1930).

⁵ A. S. PARKES, J. Roy. micro. Soc. 45, 315 (1925), zit. in MIRSKAIA und CREW³.

und Rosasco⁶ stellen die Eröffnung der Vagina am 28. bis 49. Tage fest (Durchschnitt 35. Tag), MIRSKAIA und CREW³ geben für die Erlangung der Pubertät, nach diesen Autoren die Fähigkeit zur Produktion funktioneller Gameten und zur Begattung, den 34. Tag an. SNELL¹ gibt für die erste Begattung 7–10 Wochen an und nennt 39 Tage ausnahmsweise früh. Die Männchen erlangen nach ihm die Geschlechtsreife ungefähr gleichzeitig mit den Weibchen, eher etwas später.

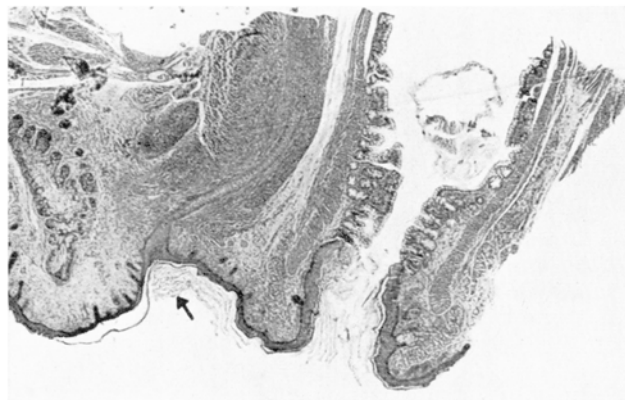


Abb. 1. Schnitt durch die Vagina eines 5 Tage alten Weibchens.

Im Vergleich mit diesen Angaben scheint es mir erwähnenswert, dass ich bei der Laboratoriumsmaus einige Fälle von ausnahmsweise früher Trächtigkeit beobachten konnte. Obwohl es sich um Einzelfälle unter Hunderten von Beobachtungen handelt, zeigen sie doch, dass ein ganz jugendlicher Organismus fähig sein kann, die Fortpflanzung mit Erfolg durchzuführen.

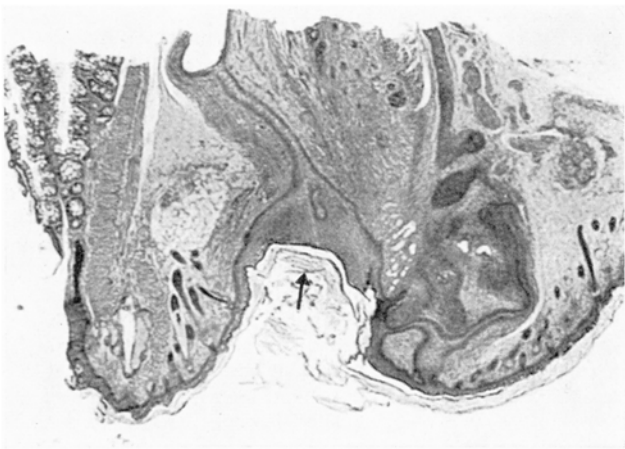


Abb. 2. Schnitt durch die Vagina eines 10 Tage alten Weibchens.

3 junge Weibchen, Wurfgeschwister, wurden von ihren männlichen Wurfgeschwistern begattet:

Ein Weibchen warf mit 43 Tagen ein Junges, wurde also mit 24 Tagen von einem 24 Tage alten Männchen befruchtet. Wahrscheinlich war der Wurf grösser gewesen und zum Teil gefressen worden.

Das zweite Weibchen warf mit 45 Tagen 10 Junge, von denen es später einen Teil frass, es wurde also mit 26 Tagen von einem gleichaltrigen Männchen begattet.

Das dritte Weibchen warf mit 56 Tagen 14 Junge, es wurde also am 36. Tage von einem gleichaltrigen Männchen begattet.

Die Mutter dieser frühreifen Jungen wurde erneut trächtig nach Begattung durch eines ihrer männlichen, 28 Tage alten Jungen.

Zwei weitere Weibchen, ebenfalls Wurfgeschwister, wurden von ihren männlichen Wurfgeschwistern begattet am 22. Tage, wurden trächtig und zogen ihre Jungen auf.

Zwei Muttertiere wurden von ihren eigenen Jungen begattet, eines am 34., eines am 38. Tage, beide warfen 9 Junge und zogen sie auf.

Es sei noch erwähnt, dass bei den von mir beobachteten Jungen im allgemeinen die Vagina am 15. Lebenstage schon eröffnet war.

Der Zeitpunkt der Geschlechtsreife hängt von genetischen Faktoren und von den Zuchtbedingungen ab. Da es sich bei den hier mitgeteilten Fällen meistens um Wurfgeschwister handelt, ist anzunehmen, dass die genetischen Faktoren eine nicht zu unterschätzende Rolle spielen.

Da die Laktation bei der Maus vier Wochen dauert⁸, so kann man sagen, dass in einem Teil der beobachteten Fälle noch säugende Junge von gleichaltrigen Männchen begattet wurden. Wenn eine solche Frühreife auch nicht die Regel ist, so zeigt ihr Vorkommen doch die Möglichkeit, dass ein noch nicht ausgewachsener Organismus schon imstande sein kann, lebensfähigen Nachwuchs zur Welt zu bringen und aufzuziehen. Die Periode der «adolescent sterility»⁷ wird bei diesen Tieren übersprungen.

SUZANNE BLOCH

Zoologische Anstalt der Universität und Universitäts-frauenklinik, Basel, 5. Februar 1958.

Summary

The author reports several cases of mice, aged 3 to 4 weeks and still suckling, which mated with litter-mates and became pregnant. Some of these young females gave birth to large litters which they suckled and reared.

⁷ M. F. ASHLEY-MONTAGU, Quart. Rev. Biol. 14, 13, 192 (1939); *Adolescent Sterility* (Thomas Springfield, 1946), zit. in: P. ECKSTEIN, *Old Age in the Modern World* (Edinburgh and London 1955), p. 190.

Photopic Sensitivity Mediated by Visual Purple

While studying the course of dark adaptation of visual purple elements in the guinea pig's eye, GRANIT¹ found two different types of rod responses. One resembling cones exhibited only a small increase in sensitivity during the first few minutes; the other resembling 'ideal' rods closely reflected the course of visual purple regeneration. SLOAN² presented definite evidence of two independent rates of dark adaptation in totally color blind humans (human achromats) and a luminosity curve of the fovea which was very similar to that which would be expected if only scotopic receptors were active.

Besides using the differences in either the rate of dark adaptation or the luminosity function to separate rod and

¹ R. GRANIT, Acta physiol. Scand. 7, 216 (1944).

² L. SLOAN, J. opt. Soc. Amer. 44, 117 (1954).

⁶ E. T. ENGLE und J. ROSASCO, Anat. Rec. 36, 383 (1927).