

exposure in the dark at 12 °C and subsequent photographic development, the sections were stained with Groat's iron haematoxylin and eosin.

In the Japanese quail, the peduncular intrafollicular oocytes have a diameter ranging from 1 to 18 mm, after fixation in acid alcohol. Yellow yolk formation is found when their diameter is approximately 4 mm or more. The younger oocytes are white. In those with a diameter

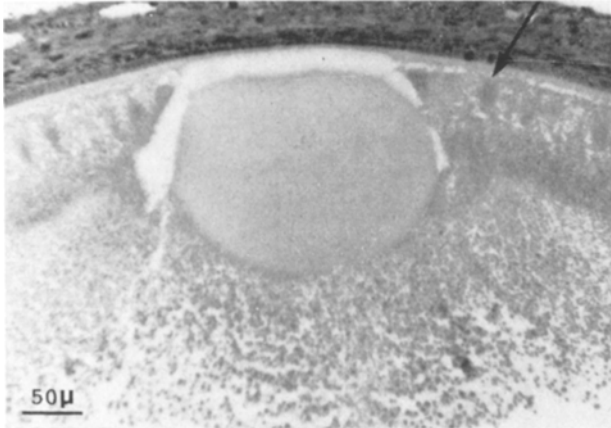


Fig. 1. Low power view of the germinal vesicle and the subcortical cytoplasmic masses (one of which is indicated by an arrow) in a quail oocyte of 5.5 mm diameter. A few little spheres occupy a central position in the nucleus. Some distortion of the nucleus is apparent, due to fixation.

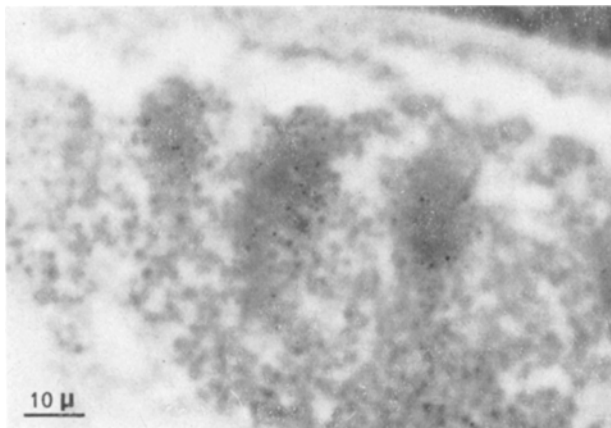


Fig. 2. High power view of 3 distinctly labelled subcortical masses.

of 4 to 8 mm the germinal vesicle is located in, or has already wholly penetrated, the cortex of the ooplasm. In this subcortical ooplasm which is filled with very fine yolk vacuoles, and at various distances from the germinal vesicle, irregular shaped masses are found, pressed in between adjacent yolk vacuoles (Figure 1).

These masses stain darker than the surrounding cytoplasm and are distinctly labelled (Figure 2). The cross-sectional area of most of these masses is usually far greater than that of a typical adjacent follicle cell. No radioactive grains are found over the germinal vesicle or other parts of the ooplasm. Some of the follicle and theca cells around the oocytes are densely labelled. In oocytes with a diameter less than 3 mm, the nucleus is still located beneath the compact cortical layer and no subcortical cytoplasmic masses are visible. In the oocytes with a diameter greater than 8 mm (usually in a laying quail, only 3 are to be found) these subcortical masses are absent. Seeing that in regularly laying quails, oviposition occurs approximately every day, the subcortical ^3H -thymidine-incorporating masses must still be present in each egg 3 or 4 days before ovulation. Since no other structure in the oocyte is found labelled after the $1\frac{1}{2}$ h ^3H -thymidine pulse, presumably the labelled cytoplasmic organelles incorporate thymidine $6\text{-}^3\text{H}$ in situ. If the ^3H -thymidine-incorporating structures contain DNA, then we have here an example of extranuclear DNA synthesis. Its possible role in vitellogenesis and/or early embryonic development of the quail is being studied. In the light of the investigations of BRACHET^{1,2} in amphibian eggs, and the recent work of BOND³ and BELL⁴, it would seem probable that these structures might possess an informative function.

Résumé. Après une injection intrapéritonéale de thymidine ^3H à la caille japonaise pondeuse, nous avons trouvé une incorporation de ce précurseur dans des organites cytoplasmiques subcorticaux des oocytes, quelques jours avant leur ovulation.

M. CALLEBAUT⁵

*Laboratorium voor Anatomie en Embryologie,
Rijksuniversitair Centrum, 2020 Antwerpen (Belgium),
17 March 1970.*

¹ J. BRACHET and J. QUERTIER, *Expl. Cell Res.* 32, 410 (1963).

² J. BRACHET, *Nature* 208, 596 (1965).

³ H. E. BOND, A. COOPER, P. COURINGTON and S. WOOD, *Science* 165, 705 (1969).

⁴ E. BELL, *Nature* 224, 326 (1969).

⁵ Acknowledgments. The author is very grateful to Prof. L. VAKAET (R.U.C.A.) and to Mr. W. BAEYENS (S.C.K., Mol) for valuable suggestions.

Abstossung von Tumoren unter Einwirkung von anorganischem Diphosphat

Beim Aal der deutschen Küstengebiete werden Hauttumoren immer häufiger; sie finden sich je nach Ort und Jahreszeit bereits bei über 15% des Bestandes. Es handelt sich hier um epidermale Papillome, die von einem bindegewebigen Stroma getragen werden. Während der Tumorgenese beginnen hochdifferenzierte Epidermiszellen (Kolbenzellen, Schleimzellen) zu degenerieren und werden schliesslich weitgehend oder völlig eliminiert. Der Tumor

besteht somit fast ausschliesslich aus indifferenten Epidermiszellen (Basalzellen, intermediäre Zellen, Deckzellen). Invasives Wachstum ist nur selten zu beobachten.

Von der Mehrzahl der Untersucher werden eine Verminderung des oxydativen und eine Verstärkung des glykolytischen Energiestoffwechsels als Charakteristikum aller Tumoren angesehen – das gilt auch für die Tumoren minimaler Abweichung¹. Das Ausmass dieser Stoffwech-

serverschiebung geht anscheinend mit dem Grad der Malignität einher. Der Ausfall oxydativer Energiegewinnung wird rein quantitativ wohl durch die Erhöhung der glykolytischen Milchsäurebildung kompensiert. WARBURG² aber bezeichnete die glykolytisch gewonnene Energie als morphologisch minderwertig. Auch der Verfasser geht in den nachstehend geschilderten Experimenten von der Idee aus, es könnte ein «Qualitätsunterschied» von glykolytischer (plasmatischer) und oxydativer (mitochondrialer) Energiegewinnung vorliegen, woraus eventuell ein Energiedefizit in der Tumorzelle resultiert.

Aale, die Hauttumoren aufwiesen, wurden mehrere Wochen lang zunächst mit niedrigen Konzentrationen (1 mM/l) von anorganischem Diphosphat ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$, PPI) behandelt, das nach BALTSCHJEFFSKY³ wie ATP und andere organische Phosphate in der Zelle als Energie-donator fungiert. Das PPI wurde dabei lediglich dem Hälterungswasser zugesetzt. Nach 3- bis 6wöchiger Behandlung ist bei einem Teil der Tumoren ein Ansatz zu vermehrter Schleimzellenbildung zu beobachten. In seltenen Fällen haben sich sogar Nester von dichtgedrängten, wenn auch relativ kleinen Schleimzellen entwickelt; in unbehandelten Tumoren treten Schleimzellen lediglich vereinzelt auf. Wenn sich dieser Befund in weiteren Versuchen bestätigen lässt, könnte man das als eine erhöhte Differenzierungsleistung des Tumorgewebes durch zusätzliche Energieversorgung deuten.

In parallel laufenden Experimenten wurde die PPI-Konzentration schrittweise jeweils im Abstand mehrerer Tage von 1 mM/l bis maximal 4 mM/l gesteigert. Dabei kommt es manchmal schon nach einer ersten Konzentrationssteigerung auf 2 mM/l innerhalb von 1 bis 3 Tagen zu einer Zerstörung des Tumors. Die Tumoren schilfern Stück für Stück ab, kleinere Tumoren (bis 10 mm $\varnothing$) werden auch als Ganzes abgestossen. Besonders bei grösseren Tumoren zeigt sich zuvor eine gelatinöse Verquellung der Tumoroberfläche als Ausdruck einer Verflüssigung des Gewebes (Kolliquationsnekrose). In der entstehenden Wunde bleiben meist einige Reste epidermalen Tumorgewebes, vom Bindegewebe umspinnen und festgehalten, zurück. Blasig aufgetriebene Zellkerne und Lockerung des Gewebeverbandes weisen auf den angegriffenen Zustand dieser epidermalen Tumorrreste hin. Das spätere Narbengewebe neigt zu einer Erneuerung des Tumors (Rezidivbildung).

Im bindegewebigen Stroma sowie im benachbarten Bindegewebe hat sich besonders während der Zerstörung des Tumors ein zellenreiches Material angesammelt.

Hierzu gehören vorwiegend kleine Lymphozyten, Makrophagen und indifferente Bindegewebskörper. Das epidermale Tumorgewebe ist von kleinen Lymphozyten reichlich infiltriert.

Drei Interpretationsmöglichkeiten bieten sich für die Abstossung der Tumoren durch PPI-Einwirkung an. 1. Die zusätzliche Energiezufuhr erhöht die Differenzierungsleistung der Tumorzelle und damit die Ausprägung von Oberflächenstrukturen, auch von tumorspezifischen Antigenen, sogenannten Neoantigenen. Daraus resultiert eine intensive Immunreaktion, die zur Zerstörung des Tumors führt. 2. PPI wirkt als Adjuvans, es kommt also zu einer allgemeinen Aktivitätsverstärkung des immun-kompetenten Systems. 3. Höhere Konzentrationen von PPI wirken sich toxisch aus, wobei Tumorgewebe empfindlicher reagiert als normales Gewebe. Die Anreicherung immunkompetenter Zellen wäre dann nicht Ursache, sondern Folge der Tumorerstörung.

Summary. Eels with dermal tumors, consisting mainly of undifferentiated epidermal cells, have been treated with inorganic diphosphate. Depending on concentration of the diphosphate used, the tumors show either an increased number of mucous cells or they are repelled. In the adjacent tissue of the cutis, during these processes, a great number of lymphocytes and macrophages are found. Three possibilities are offered to explain these facts, the most important of which is that the diphosphate increases the ability of the tumor cells to redifferentiate. Consequently, formation of tumor specific antigens is induced, as a result of which the tumor is destroyed by an immunobiological reaction.

N. PETERS JUN.

*Institut für Hydrobiologie und Fischereiwissenschaft
der Universität Hamburg, Olbersweg 24
D-2 Hamburg 50 (Deutschland), 19. März 1970.*

¹ J. PÜTTER, in *Fortschritte der Krebsforschung* (Herausg. C. G. SCHMIDT und O. WETTER; Schattauer Verlag, Stuttgart 1969), p. 259.

² O. WARBURG, *Naturwissenschaften* 42, 401 (1955).

³ M. BALTSCHJEFFSKY, in *Regulatory Functions of Biological Membranes* (Ed. J. JÄRNEFELT; Elsevier Publishing Comp., Amsterdam 1968), p. 277.

The Destruction of Lymphoma Cells by Activated Human Lymphocytes

Human lymphocytes are mitotically activated by culture with leucocytes of another donor¹. The degree of activation has been shown to be completely dependent upon HL-A determined incompatibility². The intensity of the stimulation is also dependent on the nature and metabolic state of the cell on which the antigen is presented. Thus viable fibroblasts are ineffective as stimulant cells despite the fact that HL-A antigens have been shown to be present on their surface³; lymphoblasts are more effective as stimulant cells than small lymphocytes from which they have been derived⁴ and disrupted lymphocytes are inactive^{3,5}. Of all cell types tested one was outstandingly potent viz. cells from Burkitt lymphoma and other lymphoid cell lines⁶. Transplantation and other antigens appear to be peculiarly

effective in stimulating human peripheral lymphocytes when they are presented on metabolically active human lymphoid cells.

Activated human lymphocytes are known to be cytotoxic towards some other human cells (e.g. Chang liver cells) in tissue culture⁷. Cytotoxic capability is a property only of immunocompetent lymphocytes; leukaemic lymphocytes and cells from Burkitt lymphoma cell lines have been shown not to possess this property⁸ and it is very probable that cells of all continuously growing lymphoid cell lines lack immunocompetence, whatever their derivation. Immunocompetent cells are not themselves readily destroyed by lymphocytes of another donor; destruction is barely detectable in normal mixed lymphocyte cultures⁹. HOLM⁸ could not detect damage to lymphocytes