

Experimentelle Reversion von Tumorzellen in vivo

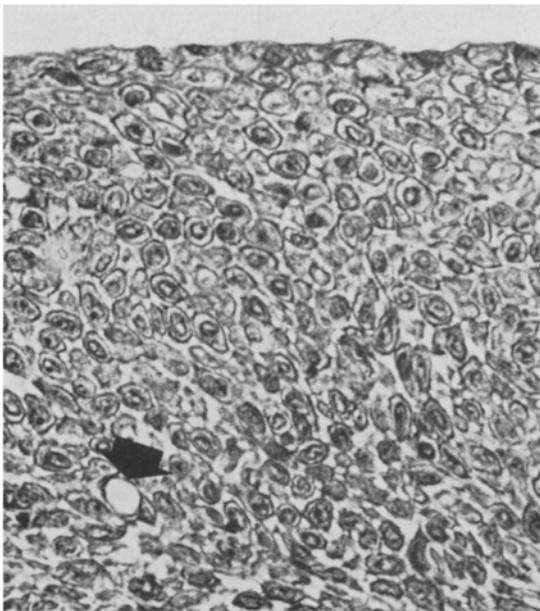
Das unter der Bezeichnung «Blumenkohlkrankheit» bekannte, häufig auftretende Hautpapillom des europäischen Aals, *Anguilla anguilla*, ist sehr schnellwüchsig. Nach Beobachtungen im Labor¹ nehmen kleinere Geschwulste innerhalb von 3 Monaten um das 5- bis 25fache ihres Volumens zu. Dementsprechend ist diese Geschwulst geweblich wenig differenziert. Während die Aalepidermis normalerweise zahlreiche hochdifferenzierte Schleim- und Kolbenzellen enthält, werden diese im Frühstadium der neoplastischen Entartung schrittweise eliminiert². Dabei verringert sich nicht nur ihre Zahl, sondern die kompliziert gebauten Zellen verlieren auch stetig an Grösse. Gleich-

zeitig können die Kolbenzellen eine Veränderung ihrer Kompartimentierung erleiden.

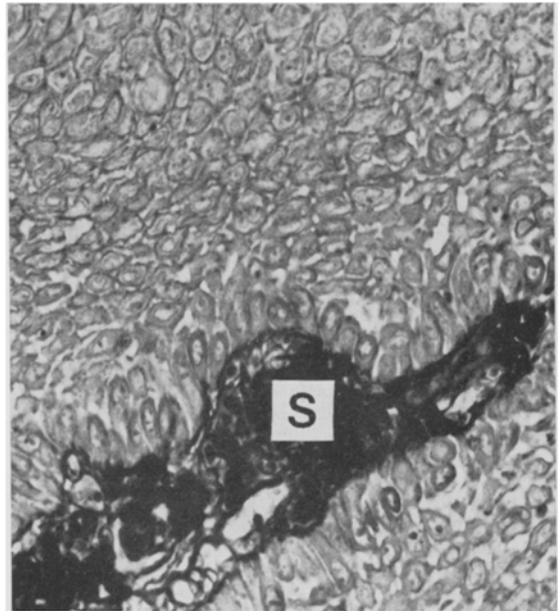
Die heranwachsende Geschwulst setzt sich demnach ausschliesslich oder zumindest vorwiegend aus lichtoptisch indifferenten Zellen zusammen, die auf dem bindegewebigen Stroma eine hochprismatische Basalschicht bilden und an der Peripherie des Tumors sich mehr oder weniger

¹ M. LÜHMANN und H. MANN, Arch. Fischereiwiss. 7, 229 (1956).

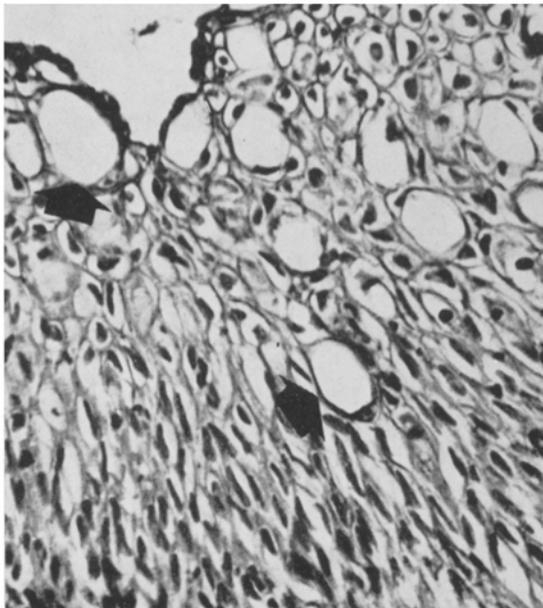
² N. PETERS und G. PETERS, Arch. Fischereiwiss. 21, 238 (1970).



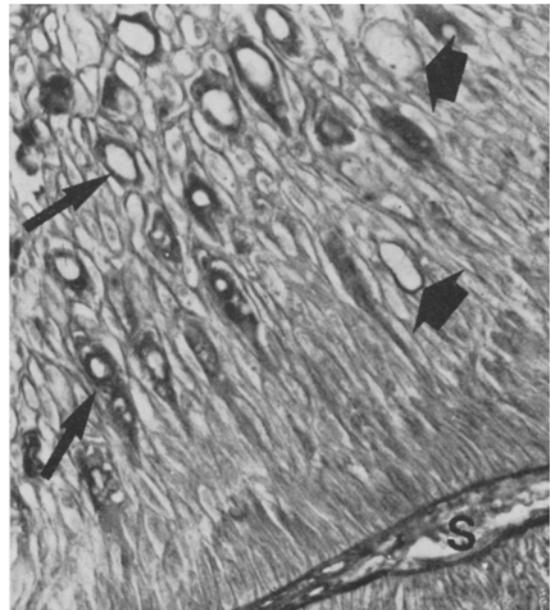
1 a



1 b



1 c



1 d

Fig. 1. Hautpapillom des Aals, a + b) vor der Behandlung, c + d) nach achtwöchiger Behandlung mit Chininsulfat (60 mg/l); a) und c) Schnitt durch periphere Schichten des Tumors, Färbung Hämatoxylin; b) und d) Schnitt durch basale Schichten des Tumors mit Stroma (S), Färbung Azan. Dicke Pfeile: Schleimzellen, dünne Pfeile: Kolbenzellen. Zu beachten ist auch die Veränderung der Kerngrösse nach Chininbehandlung. Paraffinschnitt 5 μ m; 400 \times .

zu typischen Deckzellen abflachen (Figuren 1a und 1b). Von normalerweise indifferenten Epidermisregionen wie z.B. der Epidermis der Mundränder oder der Cornea conjunctiva unterscheidet sich das Tumorgewebe aber vor allem durch seine auffällige Auflockerung des geweblichen Zusammenhaltes. Erscheinen die Zellen der unbeeinträchtigten Epidermis eng gepackt, so sind sie im Papillom meist nur lückenhaft miteinander verbunden. Dabei können die Zellen Sternform annehmen und, indem sie nur noch mit ihren Ausläufern aneinandergrenzen, eine Art Schwammparenchym zwischen Basalschicht und Deckschicht bilden².

Im elektronenmikroskopischen Bild erkennt man, dass das Zytoplasma der einfachen Epidermiszellen (intermediäre Zellen, Basal- und Deckzellen) mit Tonofibrillen dicht angefüllt ist, die nur einen engen perinkukleären Raum aussparen, in dem sich die Zellorganellen konzentrieren^{3,4}. Die Zellen sind durch regelmässige tiefe Interdigitationen der Zellmembran miteinander verzahnt. Es finden sich reichlich Desmosomen, manchmal perlschnurartig aufgereiht, in die die Tonofibrillen gebündelt hineinziehen. Die Deckzellen bilden an ihrer freien Oberfläche mikrovilliartige Falten, an deren Rand sich die Zellen stellenweise öffnen und fibrilläres Material («fuzz») auf die Epidermisoberfläche austreten lassen³.

Die Tumorzellen enthalten deutlich weniger Tonofibrillen oder sind auch frei davon⁴. Die Interdigitationen sind erheblich abgeschwächt und teilweise auseinandergezogen oder fehlen völlig, so dass die Zellen mit glatter Oberfläche aneinandergrenzen (Figur 2a). Desmosomen sind an Zahl wesentlich vermindert, doch die vorhandenen sind verbreitert. Die mikrovilliartigen Falten sind zu einem

unregelmässigen dreidimensionalen Netzwerk von Zellfortsätzen verändert.

Durch Behandlung tumortragender Tiere mit Chininsulfat, das in Konzentrationen von 15 bis 60 mg/l ins Hälterungswasser gegeben wird, lässt sich nun eine Redifferenzierung des Tumorgewebes erzielen. Insgesamt wurden 24 Exemplare behandelt, die alle mehr oder weniger deutlich auf die Einwirkung von Chininsulfat reagierten. Bereits nach vierwöchiger, deutlicher nach achtwöchiger Behandlung erscheinen im Tumorgewebe reichlich grössere Schleim- und Kolbenzellen (Figuren 1c, d). Diese finden sich vorwiegend in den Bereichen des Tumorgewebes, die als die Verwachsungszonen ursprünglich freistehender Papillen der Geschwulst zu gelten haben, sowie nahe der derzeitigen freien Oberfläche der Geschwulst. Gleichzeitig gewinnt das Gewebe wieder an Zusammenhalt, indem die Interzellularräume schwinden und die Zellen in engen gegenseitigen Kontakt treten. Die Interdigitationen sind tief und regelmässig (Figur 2b). Desmosomen sind wieder zahlreicher. Die Deckzellen haben ihr regelmässiges Faltenmuster zurückerhalten. Alle einfachen Zellen sind mit fibrillärem Material angefüllt.

Es sind aber nicht nur diejenigen Merkmale restauriert, die die wesentlichen Eigenschaften der Epidermis wie sekretorische Leistung und Festigkeit des Gewebes ausmachen. Darüber hinaus werden durch Behandlung mit

³ R. C. HENRIKSON und A. G. MATOLTSY, J. Ultrastruct. Res. 21, 194 (1968).

⁴ G. SCHUBERT, Arch. Fischereiwiss. 20 (Beih. 1) 1, (1969).

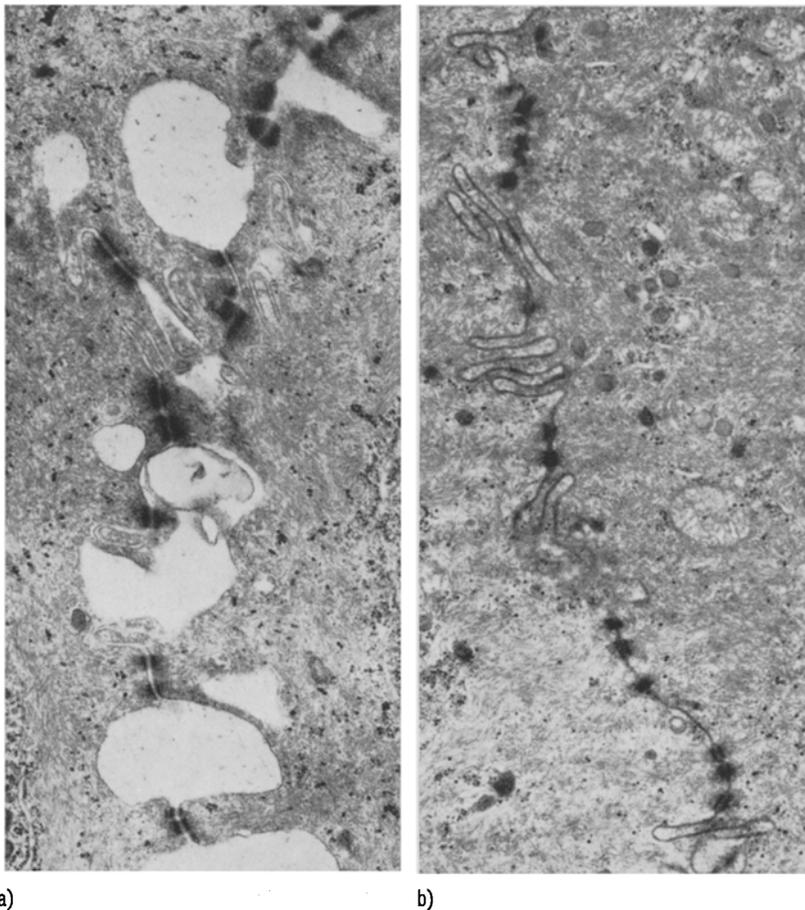


Fig. 2. Elektronenoptische Aufnahme zweier benachbarter Zellmembranen; a) im unbehandelten Tumor: Zellkontakt lückenhaft, Interdigitationen reduziert (vergl. hierzu die Bilder aus SCHUBERT⁴); b) im Tumor nach achtwöchiger Behandlung mit Chininsulfat (60 mg/l): Interdigitationen innig und regelmässig. Fixierung in Glutaraldehyd, Nachfixierung in Osmiumsäure, Eponschnitt 0,05 μ m, 15000 \times

Chininsulfat für neoplastische Zellen regelmässig zutreffende Veränderungen normalisiert. So sind z.B. die Zellkerne nicht mehr aufgetrieben und ungewöhnlich lobenreich, sondern klein und kompakt (Verringerung der Kern-Plasma-Relation). Ebenso nehmen Zahl und Grösse der Nukleoli ab.

Schliesslich soll hier noch auf die Reorganisation der Mitochondrien hingewiesen werden, deren Schwellung zurückgeht und deren gleichmässige Anordnung der Cristae wiederhergestellt wird. Auch konzentrieren sie sich wieder im perinukleären Raum, während sie in der Tumorzelle regellos verstreut sind. Abweichend von der Regel ist die Zahl der Mitochondrien in den Zellen des Aalpapilloms deutlich erhöht anstatt erniedrigt, und dies ändert sich nicht durch Chinineinwirkung. Ebenso bleibt die vielfältige Gestalt der Mitochondrien (Verzweigung, Streckung), wie sie die Tumorzelle zeigt, erhalten, während sie in der Normalzelle lediglich rund bis oval erscheinen.

Zahl und Gestalt der Mitochondrien lassen so erkennen, dass die Redifferenzierung des Tumorgewebes bei Chininsulfatbehandlung nicht etwa auf Verdrängung der entarteten Zellen durch im Papillom möglicherweise vorhandene normale Epidermiszellen beruht, vielmehr gründet sich die gewebliche Restauration auf eine Reversion der einzelnen Tumorzelle. Dementsprechend geht auch das Wachstum der Geschwulst, und zwar in Abhängigkeit von der Chininsulfatkonzentration, zurück. Bei den vier tumorbefallenen Exemplaren, die mit einer Konzentration von 60 mg/l behandelt wurden, war von Beginn der Behandlung an kaum eine bzw. gar keine Grössenzunahme der Geschwulst mehr festzustellen. Die Neubildung von Schleim- und Kolbenzellen erfolgt, nach den Verhältnissen in der unbeeinträchtigten Epidermis zu urteilen, durch Umwandlung einfacher Zellen. Lichtmikroskopische Untersuchungen deuten an, dass das Grössenwachstum dieser primären Schleim- und Kolbenzellen möglicherweise durch Zellfusion unterstützt wird, d.h. durch andauernde Aufnahme und Angleichung indifferenten Zellen⁵. Dies würde erklären, dass die Ausbildung extrem grosser Zellelemente keinerlei Wachstum des sich redifferenzierenden Gewebes zur Folge hat.

Die Einwirkung von Chininsulfat führt, wie aus dem Vorstehenden hervorgeht, insbesondere zu einer eindruckvollen Restauration der äusseren Zellmembran. Im Hinblick auf die Tatsache, dass Kulturen tierischer Zellen durch schwache Einwirkung von Trypsin zu unkontrollierter Vermehrung stimuliert werden⁶ und dass andererseits das Wachstum von trypsinisierten oder virus-transferierten Zellen durch Behandlung mit monovalentem

pflanzlichem Agglutinin sich wieder normalisieren lässt⁷, ist dem Zustand der äusseren Zellmembran eine entscheidende Bedeutung für die mitotische Aktivität der Zelle beizumessen. Als integrierter Bestandteil des Zellganzen ist der Zustand der Zellmembran abhängig von der Fähigkeit der Zelle, ihre Spezialisierungen wie auch ihre grundsätzlichen Strukturen aufrechtzuerhalten. Dementsprechend weisen die Zellen schneller wachsender Tumoren eine stärkere Dedifferenzierung und darüber hinaus auch eine deutlichere Veränderung ihrer allgemeinen Organellen auf⁸. Chininsulfat scheint der Papillomzelle zu ermöglichen, sich zu restaurieren und sich wieder zu spezialisieren. In Abhängigkeit davon wird das gewebliche Wachstum herabgemindert. Über den Mechanismus lohnt es sich erst Vermutungen zu äussern, wenn weitere Untersuchungsergebnisse, insbesondere biochemischer Art, vorliegen.

Summary. European eels with fast growing epidermal papillomas ('cauliflower disease') were treated with quinine-sulphate. At concentrations of 15 to 60 mg/l and after 8 weeks of treatment, there occurred newly formed mucous cells and club cells in the tumor tissue. Tight contact between all cells was reestablished. The nucleus-plasma-relation had evidently decreased. Electron microscopical studies showed a restauration of degenerated cell organelles, especially of the outer membrane. Growth rate of the tumors was reduced, and at a concentration of 60 mg/l the tumor tissue ceased growing from the beginning of treatment.

N. PETERS und K. H. FRÖHLICH
unter Mitarbeit von G. BRESCHING

*Institut für Hydrobiologie und Fischereiwissenschaft
der Universität,
Olbersweg 24, D-2 Hamburg-Altona (Deutschland), und
Anatomisches Institut der Universität Hamburg
(Deutschland), 15. Oktober 1971.*

⁵ H. WILKE, unveröffentlichte Diplomarbeit, Universität Hamburg, Fachbereich Biologie (1971).

⁶ M. BURGER, *Nature*, Lond. 227, 170 (1970).

⁷ M. BURGER und K. D. NOONAN, *Nature*, Lond. 228, 512 (1970).

⁸ A. J. DALTON. An electron microscopical study of a series of chemically induced hepatomas. In: *Cellular control mechanisms and cancer*. Ed. by P. Emmelot and O. Mühlbock (Elsevier Publ. Comp., Amsterdam, London, New York 1964), p. 211.

Rudimentary Pigmentgenesis in the Pineal Organ of the Chick Embryo¹

We have previously found that, in the chick embryo, the appearance of microscopically visible, melanized pigment granules in the pigment epithelium of the eye is preceded by the formation in the Golgi zone² of granules which become melanized during incubation of formalin-fixed specimens with dopa (dihydroxyphenylalanine) *in vitro*. We report in the following the presence of dopa-positive granules in the developing pineal organ. These granules appear at the same time as the dopa-positive granules in the eye, but, unlike these, they are not replaced by pigment.

Fertilized eggs (white Leghorn) were incubated for periods of between 72 h and 9 days. For the dopa reaction², the embryos were fixed with formalin (dilution 1:4,

neutralized with CaCO₃). After thorough washing with running tap water, whole heads were incubated with DL-dihydroxyphenylalanine for 2 h and post-fixed with formalin. Other embryos were fixed with Ciaccio's³ fixative. The fixed specimens were embedded in paraffine (paraplast, m.p. 56–59°C). Sections from embryos fixed with Ciaccio's fixative were stained with hematoxylin according to

¹ This work was supported by U.S. Public Health Service Grant No. GM 11949.

² E. GUTTES and S. M. BRANDT, *J. Histochem. Cytochem.* 9, 457 (1961).