

300 Å of the chromaffin cell membrane, and at these times they are devoid of a Schwann cell sheath.

Discussion. TRANZER et al.¹⁵ and CHIBA¹¹ have established the reliability of the efficiency of 5-OHDA as a marker of amine storage vesicles in adrenergic nerves. Though the presence of noncholinergic neural elements in the adrenal medulla has been alluded to by many experiments, a precise demonstration has not been possible. Evidence from this experiment reveals no morphological change in cholinergic nerves in the adrenal medulla following 5-OHDA administration; however, a marked accumulation of electron dense material in other nerve fibres is obvious indicating adrenergic properties.

The different vesicle types seen in the 5-OHDA labelled adrenergic fibres are of 3 types, e.g. 1. large completely filled vesicles, 2. smaller dense cored and 3. empty vesicles. When present these represent morphologically distinct structures as opposed to probable stages of filling as previously reported by CHIBA¹¹.

The localization of labelled fibres is distinctly and significantly associated with NE containing cell areas. Though the presence of labelled fibres in epinephrine areas is a possibility such a situation has not been observed. The association of the adrenergic fibres exclusively to NE cells indicates a highly specific functional activity.

The significance of adrenergic function in the adrenal medulla is beyond the scope of this experiment. The demonstration of adrenergic nerves does, however, readily supply a plausible explanation of heretofore unexplained findings particularly the incomplete degeneration of adrenal medullary nerve fibres following denervation^{1,2} and continued pseudocholinesterase activity after denervation of the adrenal gland³. Postganglionic adrenergic nerves do not degenerate following sectioning of preganglionic axons and demonstrate a different nerve fibre and ending morphology similar to that described by PIEZZI⁷. Further substantiation of adrenergic

nerve presence in the adrenal medulla is ongoing in this laboratory involving monoamine oxidase inhibition as in the pineal¹⁶, in addition to 6-hydroxydopamine degeneration of these same adrenergic medullary nerve fibres. These results concomitant with the 5-OHDA demonstrations establish adrenergic nerve fibre presence in the adrenal medulla. This is an imposing reality when viewed in terms of the implied nerve control mechanisms of adrenal medullary secretion and this selective cytochemical study which demonstrates an adrenergic nerve presence illuminates the significance of adrenergic function in the adrenal medulla. The intricacies of such a functional specificity must await the results of further detailed physiological investigations.

Zusammenfassung. Nachweis von mit 5-Hydroxydopamin markierten Noradrenalin-Bläschen in postganglionären Nerven, wodurch die Bläschen eine elektronendichte, mit dem Elektronenmikroskop sichtbare Substanz enthalten. Solche Nerven mit positiver Reaktion für 5-OHDA werden im Nebennierenmark erwachsener Kater und nur im Gebiet noradrenalinhaltiger Zellen nachgewiesen.

F. D. PRENTICE and J. G. WOOD^{16, 17}

*Program in Neurostructure and Function,
The University of Texas Medical School at Houston,
6400 West Cullen Street, Houston (Texas 77025, USA),
10 October 1973.*

¹⁵ J. P. TRANZER, H. THOENEN, R. L. SNIPES and J. G. RICHARDS, *Progr. Brain Res.* 31, 33 (1969).

¹⁶ The authors wish to express their sincere thanks to Mrs. JANE CRICK for her competent technical assistance.

¹⁷ Supported by NIH grant No. NS 10326, The University of Texas Medical School at Houston.

Ergebnisse des Makrophagen-Migrations-Testes während der Frühphase der Rauscher-Leukämie

In letzter Zeit wurden immunologische Vorgänge während der Infektion mit leukämogenen Viren beschrieben. Es wurde zuvor gezeigt, dass sich die zelluläre, wie auch die humorale immunologische Antwort im Verlauf experimentell erzeugter Leukämien verändert (CEGLOWSKI et al.¹, SALAMON², WEDDERBURN et al.³, PETERSON et al.⁴ und DENT et al.⁵). Bislang blieb allerdings die Pathodynamik der Immunreaktion während der Leukämogenese ungeklärt. Die von RAUSCHER⁶ beschriebene Leukämie unterscheidet sich aufgrund ihres phasischen Verlaufes von anderen experimentellen Leukämien. Während einer Frühphase unmittelbar nach der Verimpfung proliferieren erythropoetische Elemente in der Milz. Die dabei gleichgeschalteten morphologischen Veränderungen lassen nach eigenen Beobachtungen (KOMITOWSKI et al.⁷) Zusammenhänge mit einem immunologischen Geschehen vermuten.

Der von GEORGE und VAUGHAN⁸ entwickelte Hemmtest der Makrophagen-Migration bietet die Möglichkeit, zelluläre immunologische Prozesse zu erfassen und zu quantifizieren. Es erschien uns interessant, diesen Test zur Prüfung auf mögliche Änderungen im immunologischen Verhalten während der Frühphase der RAUSCHER-Leukämie einzusetzen.

Als Versuchstiere dienten 78 weibliche 8–10 Wochen alte NMRI-Mäuse. 39 Tiere wurden mit RAUSCHER-Virus

infiziert, die verbliebenen Tiere dienten als Kontrolle, denen i.p. physiologische NaCl-Lösung verimpft wurde. Die RAUSCHER-Leukämie wurde durch i.p. Verimpfung von 0,2 ml eines zellfreien Überstandes aus homogenisierten leukämischen Milzen des gleichen Stammes erzeugt. Aus den Milzen der Versuchs- und Kontrolltiere stellten wir mit Hanks BSS-Lösung Suspensionen her. Wir hämolysierten die Erythrozyten nach der Methode von SHORTMANN et al.⁹ und resuspendierten die Zellen in «Minimal Essential Medium» (MEM). Dem Nährmedium der Kontrollgruppe und der Rauschergruppe wurde in je einer Versuchsreihe Rauschervirusantigen zugesetzt. So erhielten wir von jeder Gruppe zwei Versuchsreihen: eine Reihe ohne Antigen und eine Reihe mit zusätzlichem Antigen.

Das gewonnene Material zogen wir in Mikrokapillaren auf und zentrifugierten 3 min bei 500 g. Die Kapillaren wurden über dem entstandenen Pellet abgetrennt, in sterile Plastikammern eingebracht und in einer mit Luft und CO₂ angereicherten Atmosphäre über 24 h bei 37°C inkubiert. Danach haben wir die Areale der aus den Kapillaren ausgewanderten Zellen mit einem elektronischen Bildanalysator (Zeiss Mikrovideomat) nach einer neu entwickelten Methode (KURKA et al.¹⁰) ausgemessen.

Bereits 24 h nach Verimpfung des RAUSCHER-Virus ist die Makrophagenwanderung deutlich gehemmt. Dieser Effekt ist nach Zugabe von Antigen noch ausgeprägter

(Figur 1). Ein erstes Maximum liegt am 3. Tag, danach wird das Ausmass der Hemmung deutlich geringer, um vom 5. Tag an stufenweise wieder zuzunehmen, bis zwischen dem 12. und 13. Tag ein kompletter Ausfall der Makrophagenmigration deutlich wird (Figur 2).

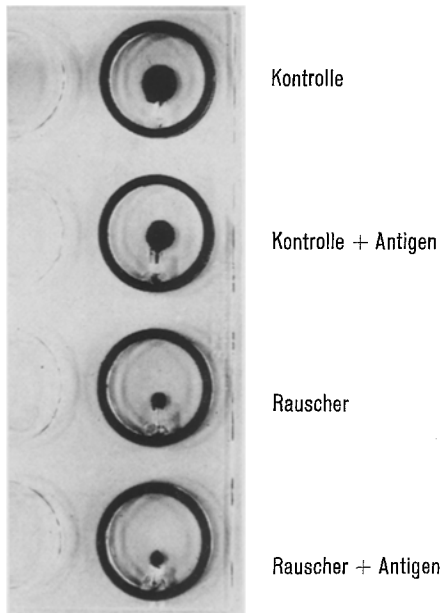


Fig. 1. Makrophagen Migrations-Hemmtest in verschiedenen Versuchsansätzen. Im Gegensatz zu den Kontrollen tritt bei den mit RAUSCHER-Virus infizierten Tieren eine stärkere Hemmung auf.

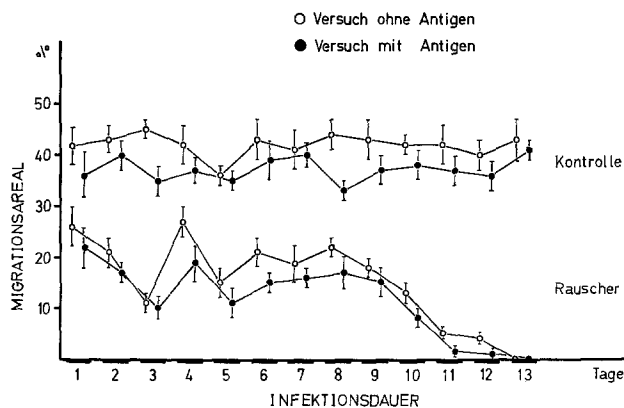


Fig. 2. Schematische Darstellung des Migrationstestes während der Beobachtungszeit.

Die vorliegenden Beobachtungen zeigen, dass während der Frühphase der RAUSCHER-Leukämie eine verminderte Wanderung von Makrophagen stattfindet, die einen charakteristischen Verlauf zeigt. Der Kurvenverlauf bis zum 5. Tag lässt sich nicht einheitlich erklären. Die auffallend starke Hemmung am 3. Tag muss auf eine spezifische immunologische Antigenstimulation der T-Lymphozyten zurückgeführt werden. Am 4. Tag wird eine geringere Hemmung der Wanderung der Makrophagen deutlich. Hierfür scheinen quantitative Veränderungen der Lymphozyten der «thymus dependent area» für den Reaktionsausfall verantwortlich zu sein. Diese Interpretation deckt sich mit unseren Ergebnissen über die Proliferationsprozesse während der Frühphase der Rauscherleukämie in der Milz (KOMITOWSKI et al.⁷). In den ersten 5 Tagen nach der Infektion zeigte sich erst eine Verminderung, dann eine Repopulation der Lymphozyten der «thymus dependent area». Inwieweit der Reaktionsausfall ab dem 5. Tag auf eine spezifische immunologische Antigenstimulation der T-Lymphozyten, oder auf eine dynamische Veränderung der Makrophagen selbst, wie von anderen Autoren (CHAN et al.¹¹) postuliert, zurückzuführen ist, bedarf weiterer Abklärung.

Summary. In the course of virus-induced leukemias, there are changes in cellular as well as in humoral immunity. Observations were made with the macrophage migration test during the early phase of RAUSCHER-leukemia. The characteristic phase changes found are discussed.

D. KOMITOWSKI und J. KURKA

Deutsches Krebsforschungszentrum, Institut für experimentelle Pathologie, Kirschnerstrasse 6, D-69 Heidelberg (BR Deutschland), 17. Dezember 1973.

- ¹ W. S. CEGLOWSKI und H. FRIEDMAN, J. Immun. 103, 460 (1969).
- ² M. H. SALAMON, Proc. R. Soc. Med. 63, 11 (1970).
- ³ N. WEDDERBURN und M. H. SALAMON, Immunology 15, 439 (1968).
- ⁴ R. D. A. PETERSON, R. HENDRICKSON und R. A. GOOD, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 114, 517 (1963).
- ⁵ DENT, B.P., PETERSON, R.D.A. und GOOD, R.A., Proc. Soc. exp. Biol. Med. 119, 869 (1965).
- ⁶ F. J. RAUSCHER, J. natn. Cancer Inst. 29, 515 (1962).
- ⁷ D. KOMITOWSKI und K. GOERTTLER, Expl. Path., in press (1974).
- ⁸ M. GEORGE und J. H. VAUGHAN, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 111, 514 (1962).
- ⁹ K. SHORTMAN, N. WILLIAMS und P. ADAMS, J. immun. Meth. 7, 273 (1972).
- ¹⁰ J. KURKA und P. WORST, zum Druck vorbereitet.
- ¹¹ G. CHAN, M. W. RANCOURT, W. S. CEGLOWSKI und H. FRIEDMAN, Science 159, 437 (1968).

Partially Coated Vacuoles — a New Type of Endocytotic Structure

Micropinocytotic vesicles bearing filamentous or spiny adornments on their limiting membrane have often been seen in cells engaged in protein-uptake, and terms such as fuzzy vesicles, coated vesicles, decorated vesicles and acanthosomes have been used to describe this type of endocytotic vesicle^{1,2}. However, to the best of our knowledge, such adornments have not hitherto been observed on the much larger pinocytotic vacuoles which form when

folds or ruffles of the cell membrane (which are present as slender processes or filopodia in sectioned material) impound fluid or other extracellular material.

Such a phenomenon has now been witnessed by us in the synovial cells of a patient who had long standing multiple sclerosis, psoriasis and arthritis. Electron microscopic examination of synovial intimal cells found free in a knee joint effusion and in a biopsy of the synovial