

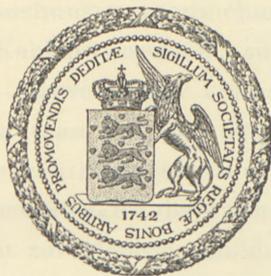
Det Kgl. Danske Videnskabernes Selskab.

Biologiske Meddelelser. **XVI**, 5.

STUDIEN ÜBER
DIE KREBSERZEUGENDE WIRKUNG
DES METHYLCHOLANTHRENS
AUF MÄUSE

VON

OLE ESMARCH



KØBENHAVN

I KOMMISSION HOS EJNAR MUNKSGAARD

1941

Det Kongelige Videnskabskabernes Selskab.
Biologiske Meddelelser, XVI, 2.

STUDIEN ÖBER
DIE KREBSERZUCENDE WIRKUNG
DES METHYLCHOLANTHRENS
AUF MÄUSE
VON
OLE ESMARCH



KÖBENHAVN
I KOMMISSION HOS EINHART WINDSGLAD

Printed in Denmark.
Bianco Lunos Bogtrykkeri A/S.

I. Versuche, mit Methylcholanthren Geschwülste hervorzurufen, wenn der Stoff in direkten Kontakt mit verschiedenem Gewebe gebracht wird.¹

Bei den Versuchen, mit Teer oder krebserzeugenden Kohlenwasserstoffen Tumoren an Mäusen hervorzurufen, wurde fast immer die Haut oder das subkutane Gewebe als Versuchsobjekt benutzt. Dagegen wurden Untersuchungen, bei denen diese Stoffe in direkten Kontakt mit anderem Gewebe oder anderen Organen gebracht wurden, bisher nur in geringerem Umfange vorgenommen.

Bei meinen Versuchen wurde Methylcholanthren² jedesmal auf die gleiche Weise im Mammagewebe, in der querstreiften Muskulatur, in Organen wie Niere, Leber und Lunge sowie im Peritoneum deponiert. Um eine sichere Grundlage für Vergleiche zu schaffen, war es notwendig auch solche Untersuchungen vorzunehmen, bei denen der krebserzeugende Kohlenwasserstoff subkutan deponiert wird. Zuverlässige Auswertungen können nur vorgenommen werden, wenn man mit der gleichen Technik und unter denselben Versuchsbedingungen arbeitet. Um ein Bild von der histologischen Struktur der epithelialen Geschwülste und ihrer Fähigkeit zur Metastasenbildung zu bekommen wurde ausserdem ein Pinselungsversuch ausgeführt.

¹ Ausgeführt mit freundlicher Unterstützung des Landesvereins zur Krebsbekämpfung.

² Der Stoff wurde freundlicherweise von der Firma »Bayer« nach der Methode von FIESER & SELIGMAN (1936) hergestellt.

A. Frühere Versuche.

Es ist überraschend, dass bisher fast keine Versuche gemacht wurden, bei denen krebserzeugende Stoffe mit dem Mammagewebe von Mäusen in Berührung gebracht wurden, da dieses Organ für Untersuchungen ebenso leicht zugänglich ist wie subkutanen Gewebe in jeder anderen Region. SEEDORF (1922) hat einige wenige mm Teer in Mammagewebe von 7 Mäuseweibchen injiziert. Die Tiere bekamen in unregelmässigen Zeitabständen im ganzen 7 Teereinspritzungen. Bei einer Maus entstand im Laufe eines halben Jahres ein subkutaner Knoten, der sich bei mikroskopischer Untersuchung 11 Monate nach Beginn des Versuches als Adenokarzinom der Mamma erwies. Dieser Versuch schliesst jedoch die Möglichkeit eines spontanen Tumors nicht aus. Bei Injektion von 8 mg Methylcholanthren, dem eine geringe Menge Fett zugesetzt war, ist es mir nicht gelungen (1940 a), am Mammagewebe von 10 Mäuseweibchen des Baggschen Stammes Geschwülste hervorzurufen. Der Stoff wurde den Tieren unter einer Papille in der linken Inguinalregion deponiert. Als die erste Geschwulst konstatiert wurde, waren noch alle Mäuse am Leben. Im ganzen entstanden an der Injektionsstelle 4 Geschwülste, von denen zwei benigne, fibröse Tumoren waren, eine ein Spindelzellensarkom und schliesslich eine ein Spindelzellensarkom, das von einem kleinen, in einem dislozierten Hautstückchen entstandenen Plattenepithelzellenkarzinom begleitet war.

In früheren Jahren sind einige Untersuchungen vorgenommen worden, bei denen cancrogene Kohlenwasserstoffe in die quergestreifte Muskulatur eingeführt wurden. KEIJSIR (1937) hat 24 Sarkome an 30 Mäusen

hervorgerufen, die im Abstand von 14 Tagen 5 intramuskuläre Injektionen von 0,5 ccm in Fett gelöstem 1:2:5:6-Dibenzanthracen bekamen. Unter 25 anderen Mäusen, denen ausschliesslich der Kohlenwasserstoff selbst eingeführt wurde, entwickelten sich nur 2 Geschwülste, ein Sarkom und ein Karzinom. Bei einem Material von 249 Zuchtmäusen erzeugte KLINKE (1938) 79 maligne Tumoren durch intramuskuläre Injektion von 3:4-Benzpyren, das in einer Mischung von Olivenöl und Schweinefett in einer Konzentration von 1 % aufgelöst war. Einspritzungen von 0,1 ccm wurden einmal wöchentlich in der Weise vorgenommen, dass die gesamte Dosis des Kohlenwasserstoffs pro Tier zwischen 7 und 15 mg betrug. Mäuse mit Geschwülsten gingen im 4.—5. Versuchsmonat ein. Metastasen waren nicht zu sehen, und die Geschwülste wurden als überwiegend dem Spindelzellentypus angehörende, polymorphzellige Sarkome beschrieben; man hatte den Eindruck, dass sie vom Muskelparenchym ausgingen. NICOD & REGAMEY (1938) haben Methylcholanthren in die Muskulatur von 30 Mäusen injiziert. Jedem Tier wurde 1 mg des Stoffes, in 0,1 ccm Olivenöl aufgelöst, zugeführt. Nur bei 4 Mäusen entstanden Tumoren, von denen drei Sarkome waren und einer möglicherweise ein Karzinom.

Untersuchungen, bei denen Teer ins Peritoneum injiziert wurde, sind nicht von Tumorbildung in der Bauchhöhle begleitet gewesen (MERCIER, 1929 und 1930). Der erste Versuch, Mäusen krebserzeugende Kohlenwasserstoffe intraperitonäal zu applizieren, wurde von BOYLAND & BURROWS (1936) vorgenommen. Zweimal wöchentlich wurden 0,4 ccm einer wässrigen, kolloidalen Lösung injiziert, die 1:2:5:6-Dibenzanthracen in einer Konzentration von 0,05 % enthielt. Um zu untersuchen, ob der Stoff abseits der

Einspritzungsstelle Geschwülste hervorrufen kann, deponierte man gleichzeitig fein pulverisierte Kieselerde im subkutanen Gewebe der Nackenregion der Tiere. Die Behandlung führte nur zu Sarkomen in der Peritonäalhöhle der Tiere. Unter 20 Mäusen wurden bei 5 Tumoren hervorgerufen. Aus der Tabelle geht hervor, dass geschwulstragende Tiere ca. 30 bis 50 Wochen nach Beginn des Versuches verendeten, und dass zur Zeit der Sektion der ersten Maus mit Sarkom nur noch 6 Mäuse am Leben waren. NAKAHARA & FUJIWARA (1937 a) haben alle 2 Wochen 0,2 ccm einer 0,5 %igen Lösung von 3:4-Benzpyren in Olivenöl ins Peritoneum von 40 gewöhnlichen Mäuseweibchen injiziert. Zwischen dem 103. und dem 157. Versuchstage wurden in der Peritonäalhöhle solitäre oder multiple Sarkome von spindeligem oder mehr polymorphem Typus konstatiert. Von 27 Mäusen, die so lange lebten, dass die Möglichkeit bestand, dass sie mit Tumoren verenden würden, bekamen 19 eine Geschwulst, und bei allen Tieren bestand Ascites. Der Häufigkeit nach geordnet, waren die Sarkome lokalisiert in: Diaphragma, Peritoneum parietale, Leber, Pelvisregion, Regio gastropancreatica und den Därmen oder ihrem Gekröse. Im ganzen ist jeder Maus zwischen 7 und 11 mg 3:4-Benzpyren zugeführt worden. Dieselben Forscher (1937 b) haben eine entsprechende Untersuchung mit Methylcholanthren vorgenommen. Der Stoff wurde in der gleichen Weise aufgelöst; hier wurden aber Injektionen von 0,1 ccm einmal wöchentlich vorgenommen. Zwischen dem 77. und dem 117. Tage verendeten die Mäuse mit solitären oder multiplen Sarkomen ähnlicher Lokalisationen wie im vorigen Versuch. Von 17 Mäusen, die innerhalb dieses Zeitraums am Leben waren, bekamen 9 Geschwülste, nachdem sie Methylcholanthren in Gesamtdosen von 5,5

bis 8,5 mg bekommen hatten. Wie bei der Untersuchung mit 3:4-Benzpyren ist Ascites auch hier ein konstantes Symptom. NICOD & REGAMEY (1938) haben 1 mg Methylcholanthren in die Peritonäalhöhle von 30 Mäusen eingeführt. Der Stoff war mit Dextrin präpariert, wodurch er als eine zusammenhängende Masse eingeführt werden konnte. Zwischen dem 105. und dem 260. Tage verendeten 14 Mäuse mit Sarkomen, die sich an verschiedenen Stellen der Bauchhöhle fanden.

ILFELD (1936) ist der einzige, der versucht hat, krebserzeugende Kohlenwasserstoffe in direkten Kontakt mit dem Nierengewebe von Mäusen zu bringen. An einem Material von 51 Mäusen der Stämme A, C₃H und M wurden in der einen Niere kleine Stäbchen aus Cholesterol angebracht, in denen 1:2:5:6-Dibenzanthracen in einer Konzentration von 5 % aufgelöst war. Der Stoff wurde auf diese Weise in Dosen zugeführt, die zwischen 0,12 und 0,6 mg lagen. Bei Veröffentlichung des Versuches waren noch 13 Tiere am Leben; 15 Tiere sind an interkurrenten Krankheiten im Laufe des Versuches eingegangen. Im ganzen wurden 10 Nierentumoren gefunden, die alle Epidermoidkarzinome mit Zellen waren, die an die des Nierenbeckens erinnerten. Die Geschwülste liessen sich nach einer Versuchsdauer von 6 bis 10¹/₂ Monaten palpieren. Die Tumoren traten am schnellsten auf, wenn man grössere Dosen des krebserzeugenden Stoffes gab. Es wurden Transplantationen von 4 Karzinomen auf Mäuse desselben Inzuchtstammes vorgenommen, in dem auch die Geschwülste entstanden waren. Die Geschwülste wurden alle mit unveränderter histologischer Struktur übertragen, und eine Geschwulst wurde in 4 Generationen transplantiert. Es wird ferner erwähnt, dass bei einer gewöhnlichen Zuchtmaus in gleicher Weise Me-

thylcholanthren in der Niere angebracht wurde, ohne dass man im Laufe von 6 Monaten irgend einen Tumor fühlen konnte.

Ein Versuch, krebserzeugende Kohlenwasserstoffe in direkten Kontakt mit dem Lebergewebe von Mäusen zu bringen, wurde von ILFELD (1936) angestellt. In 56 Mäuse der Stämme A, C₃H und M wurden Cholesterolstäbchen eingeführt, die 5 %iges 1:2:5:6-Dibenzanthracen enthielten. Nur bei zwei C₃H Mäusen gelang es, Lebertumoren hervorzurufen. Die eine Geschwulst war zur mikroskopischen Untersuchung zu faulig, die andere erinnerte etwas an ein primäres Leberzellenkarzinom, ohne dass sich aber die Diagnose mit Sicherheit stellen liess. Die Mäuse hatten beide eine Dosis von 0,16 mg des cancrogenen Stoffes bekommen, und die Tiere verendeten 9 und 10 Monate nach Beginn des Versuches. Ein entsprechender Versuch mit Methylcholanthren an einer anderen Maus fiel negativ aus.

Man konnte mit Teer und krebserzeugenden Stoffen auf verschiedene Weise Lungengeschwülste an Mäusen hervorrufen; es wurden aber nur wenige Versuche gemacht, einen cancrogenen Stoff in der Weise in der Lunge anzubringen, dass nur eine begrenzte Partie dem Reiz ausgesetzt wird. ANDERVONT (1937) hat 1:2:5:6-Dibenzanthracen mit Hilfe von Seidenfäden in das Lungengewebe eingeführt; diese Seidenfäden waren mit Kohlenwasserstoff imprägniert, so dass jede Maus eine Dosis von ca. 1 mg bekam. Zu diesem Versuch wurden im ganzen 35 Mäuse verwendet. Die Tiere wurden 10 bis 15 Wochen nach Beginn des Versuches getötet, wobei sie höchstens 6¹/₂ Monate alt wurden. Bei der Sektion zeigte es sich, dass bei 14 Mäusen der Faden ausserhalb der Lunge lag. Bei 8 der übrigen 21 Mäuse wurden Adenome gefunden,

bei 2 Adenokarzinome und bei 5 Plattenepithelzellenkarzinome. Der Versuch wurde mit 3 verschiedenen Arten von Mäusen aus reinen Stämmen, die verschiedene Neigung zu spontanen Lungengeschwülsten hatten, vorgenommen. Die erbliche Belastung scheint bei solchen Versuchen, bei denen das Lungengewebe mit dem cancrogenen Stoff in direkte Berührung kommt, keine Bedeutung zu haben. In den Karzinomen aus den Lungen hat man oft ein Gewebe gesehen, das an ein Sarkom erinnerte. Eine Geschwulst, die als Plattenepithelzellenkarzinom und Adenom aufgefasst wurde, ist durch 6 Passagen transplantiert worden. Bereits nach der ersten Transplantation bestand ein Tumor von Plattenzellen und ein Stroma, das an ein Sarkom erinnerte. Von der vierten Passage an wuchs die Geschwulst als reines Sarkom. Ein anderer Versuch wurde von ESMARCH (1940 a) ausgeführt. Zusammen mit einer geringen Menge Fett wurden 8 mg Methylcholanthren in die eine Lunge von 10 Bagg-Mäusen injiziert. Die Tiere waren zu Beginn des Versuches $2\frac{1}{2}$ Monate alt, und man liess sie alle spontan eingehen. 7 Mäuse verendeten ohne Geschwülste; aber nur noch 2 von ihnen waren am Leben, als der erste Tumor nachgewiesen werden konnte. Die 3 anderen Mäuse verendeten mit Geschwülsten in der behandelten Lunge. Der erste Tumor wurde am 93. Versuchstage entdeckt und erwies sich als ein polymorphzelliges Sarkom, das sichtbare Reste von Methylcholanthren enthielt. Eine Maus hatte am 129. Tage multiple Adenome in der Lunge an der Stelle, wo die Injektion vorgenommen worden war, und ein Tier hatte in der behandelten Lunge ein Plasmozytom. Von den hervorgerufenen Tumoren waren Lungenadenome die einzigen, die bei den Tieren spontan vorkamen; sie entstanden aber selten in jungem

Alter, und bei 75 Kontrolltieren aus dem gesamten Versuch hat sich das Leiden nicht ein einziges Mal gezeigt.

B. Technik und Material.

Will man die krebserzeugende Fähigkeit des Methylcholanthrens und seine Wirkung auf verschiedene Gewebe der Maus untersuchen, so ist es am zweckmässigsten, bei allen Versuchen nach der gleichen Technik zu verfahren.

Soll der Stoff in Organe wie Leber oder Niere eingeführt werden, muss dies durch eine einzige Injektion geschehen, da die Versuche sonst wegen der Sterblichkeit infolge wiederholter Operationen schwer durchzuführen wären. Ausserdem ist das Methylcholanthren so zu deponieren, dass es nur geringe Läsion und Spannung in dem Organ verursacht. Hierzu kommt, dass es am korrektesten ist, mit krebserzeugenden Kohlenwasserstoffen in Mengen zu arbeiten, die ebenso gross oder grösser sind als die geringste Dosis, die am schnellsten und sichersten Geschwülste hervorruft (FIESER, 1938, und ESMARCH, 1940 b).

Ich habe mich dahin entschieden, die Versuche nach der von SHEAR (1936) angegebenen Methode auszuführen. Unter sterilen Vorsichtsmassnahmen wurden die feinen, nadelförmigen Kristalle mit Glycerin angefeuchtet, bis sich eine dicke, teigige Masse bildete, die mit Hilfe eines dichtschiessenden Stiletts in eine altmodische Lumbalkanüle aufgesaugt wurde.

Vor den Injektionen oder Operationen wurde die Haut an der betreffenden Stelle epiliert und mit 70% igem Alkohol behandelt.

Die Deponierung des Methylcholanthrens im subkutanen Gewebe und in der Mammaregion geschah ohne Betäubung. Operative Eingriffe erforderten eine Narkose, die mit Aether gemacht wurde. Zur Vermeidung von Infektion oder Wundbildung an der Versuchsstelle selbst wurde der Einstich der Kanüle etwa zwei Zentimeter von der Stelle, wo man den krebserzeugenden Kohlenwasserstoff anzubringen beabsichtigte, vorgenommen.

Eine intramuskuläre Injektion wurde in den Oberschenkel vorgenommen, nachdem man die Faszie durch einen kleinen Schnitt in die Haut und das subkutane Gewebe freigelegt hatte. Die Wunde wurde mit einer einfachen Katgutsuture vernäht und mit Kollodium gepinselt. Diese Technik sichert die intramuskuläre

läre Anbringung des Methylcholanthrens, da das Risiko einer subkutanen Anbringung vermieden wird.

Bei intraperitonäaler Injektion wurde der Einstich mitten auf dem Abdomen vorgenommen. Die Tiere waren während des Eingriffs betäubt, damit sie entspannt und ruhig blieben; hierdurch wurde die Gefahr einer Läsion der inneren Organe mit der Kanüle vermindert.

Die Deponierung des Stoffes in der Niere und der Leber erfolgte nach vorangegangener Laparotomie. Der Nierenversuch war mit einer sehr grossen Sterblichkeit verbunden, die als Folge von Blutungen, postoperativem Ileus, Adhäsionsbildung in den Organen und Pneumonie eintrat; deshalb wurde der Versuch wiederholt, und die Niere in diesem Fall durch einen Lumbalschnitt zugänglich gemacht.

Wenn der Kohlenwasserstoff in der Lunge angebracht werden sollte, wurde ein unbedeutender Schnitt in Haut und Muskeln unmittelbar lateral der unteren Hälfte des Sternum vorgenommen. Hierdurch wurde die Brustwand freigelegt, und die Lumbalkanüle wurde durch einen Interkostalraum in der Medioklavikularlinie eingeführt. Man führte die Kanüle schräg aufwärts nach hinten und suchte den Stoff im Apex zu deponieren.

Der Pinselungsversuch wurde mit einer 0,3 %igen Lösung von Methylcholanthren in chemisch reinem Benzol angestellt. Die Behandlungen wurden mit einem Haarpinsel Nr. 4 (der Marke "Reeves") vorgenommen. Ohne vorhergehende Epilation wurde zweimal wöchentlich an derselben Stelle in der Interskapularregion gepinselt, und die Behandlung wurde fortgesetzt bis die Tiere eingingen.

Die Mäuse, die zum Versuch verwendet wurden, waren $2\frac{1}{2}$ —3 Monate alt und hatten ein Gewicht von 15—20 g. Zu jeder Untersuchung wurden 100 Tiere verwendet, von denen die Hälfte Kontrollversuchen diente. Die Kontrollmäuse haben kein Methylcholanthren bekommen, sind aber im übrigen in der gleichen Weise behandelt worden. Die Lösungsmittel oder das Glycerin wurden ihnen in genau derselben Weise und der gleichen Menge zugeführt. Die Mäuse sind nach bestem Ermessen so verteilt worden, dass kein Unterschied bestanden haben dürfte zwischen den Versuchs- und den Kontrollgruppen, die je die gleiche Anzahl Männchen und Weibchen enthielten. Bei der Aufstellung des Versuchsmaterials wurden im allgemeinen keine Unterschiede in den Reaktionen der beiden Geschlechter gefunden. Männchen

und Weibchen sollen daher nur dann gesondert besprochen werden, wenn die Verhältnisse es erfordern.

Die Tiere wurden einmal wöchentlich untersucht, und eventuelle Tumoren wurden im Protokoll skizziert. In allen Fällen habe ich die Tiere spontan eingehen lassen.

Zur Vornahme von Weitertransplantationen und sorgfältigen histologischen Untersuchungen wurden einige Versuchsmäuse getötet; dieses Verfahren wurde aber nur an Tieren vorgenommen, die ohnedies spontan im Laufeganz weniger Stunden verendet wären.

Bei dem ersten Versuch war das Methylcholanthren intramuskulär deponiert worden. Hier verendeten sämtliche Versuchstiere spätestens 40 Wochen nach Beginn des Versuches, worauf die Kontrollmäuse getötet wurden. In den übrigen Untersuchungsgruppen waren die Versuchstiere oft zu einem früheren Zeitpunkt schon ausgestorben; die Kontrolltiere wurden dann an dem wöchentlichen Untersuchungstage getötet, der dem Tode der letzten Versuchsmäus folgte. In einzelnen Serien waren noch in der 40. Woche einige Versuchstiere am Leben. Die geschwulstbetroffenen liessen wir spontan verenden, während die dazugehörigen Kontrolltiere getötet wurden. In ganz vereinzelt Fällen haben Mäuse, die mit Methylcholanthren behandelt waren, nach dieser Versuchsperiode keine Geschwülste gehabt. Diese wenigen Tiere sind zusammen mit den Kontrollmäusen getötet worden.

Als Versuchstiere habe ich Mäuse des Baggischen Albino-Stammes verwendet, der seit 1912 in Inzucht gehalten worden ist (STRONG, 1922). BAGG (1925) gibt an, dass Mäuse dieses Stammes nur selten spontanen Brustkrebs bekommen. Von normalen, stillenden Zuchtweibchen in einem Alter zwischen $1\frac{1}{2}$ und 2 Jahren sollen weniger als 5% einen Cancer mammae bekommen; LYNCH (1926) hat etwas höhere Werte gefunden.

Im Vergleich zu anderen Mäusestämmen sind die Bagg-Mäuse nur in geringem Grade mit spontanen Mammageschwülsten belastet; dagegen bekommen die Tiere oft Lungentumoren. Bei einem Material von 262 Tieren gibt LYNCH (1926 und 1937) an, dass 39,3% aller Mäuse, die zwischen 13 und 36 Monate alt waren, diese Geschwülste bekamen. In der Häufigkeit, Geschwülste zu entwickeln, lässt sich kein Unterschied zwischen Männchen und Weibchen nachweisen. Die Geschwülste sind oft multipel, und es wird mitgeteilt, dass es sich in der Hauptsache um Adenome handelt, dass man dagegen in seltenen Fällen auf Lungenadenome bei Tieren, die noch nicht ein Jahr alt sind, treffen kann.

In meinen eigenen Versuchsserien wurden insgesamt 650 Kontrolltiere seziert, und bei 500 wurden die Lungen mikroskopisch untersucht. Bei 441 Mäusen, die bis zum 202. Versuchstage eingingen oder getötet wurden, konnten keine Lungentumoren gefunden werden. Zwischen dem 203. und dem 279. Versuchstage schieden 76 Kontrolltiere aus, und bei einer Maus, die am 203. Tage getötet wurde, wurde ein Lungenadenom konstatiert. Die letzten 133 Mäuse wurden 280 Tage nach Beginn des Versuches getötet, und bei 12 fand man multiple oder solitäre Lungenadenome. Die Geschwülste kamen in gleicher Häufigkeit bei Männchen und Weibchen vor, und das Material wies keine Unterschiede auf, die auf verschiedene Behandlungen wie Benzolpinselungen, Glycerininjektionen, Narkosen u. ä. zurückgeführt werden könnten. Tabelle 1 zeigt entsprechende Ergebnisse wie die von Lynch, trotzdem die Kontrolltiere, die 280 Tage nach Beginn des Versuches getötet wurden, nur ca. 1 Jahr alt waren.

In dem gesamten Kontrollmaterial, von dem die Hälfte Weibchen waren, wurde nur ein einziger Fall von Brustkrebs gefunden. Der Tumor liess sich von der 37. Versuchswoche an palpieren, zu welchem Zeitpunkt die Maus ein Alter von ca. 11 Monaten hatte. Erfahrungen mit Zuchttieren deuten ebenfalls nicht darauf hin, dass der verwendete Mäusestamm etwa eine grössere erbliche Belastung mit Brustkrebs hätte. Baggs ursprüngliche Angaben scheinen am besten meinen eigenen Befunden zu entsprechen.

C. Die speziellen Versuchsreihen.

1) Versuch, durch Pinselung der Haut Geschwülste hervorzurufen.

Die Untersuchung wurde vorgenommen, um ein Bild von der histologischen Struktur der produzierten Geschwülste, ihrer Transplantierbarkeit und ihrer Fähigkeit zur Metastasenbildung zu bekommen.

Das erste Symptom, das der cancrogene Kohlenwasserstoff auf der Haut der Mäuse hervorrief, war ein Haarverlust an der Pinselungsstelle. Bei einzelnen Tieren konnte man ihn bereits nach zwei Pinselungen, d. h. eine Woche

nach Beginn des Versuches, bemerken. Mit der Zeit wurde die Depilation immer ausgeprägter, und im Laufe eines knappen Monats hatten alle Versuchstiere eine vollständig nackte Partie an der Pinselungsstelle. Der Haarverlust war eine konstante Erscheinung, und im weiteren Verlauf der Untersuchung trat keine Regeneration ein. Das Symptom war einer Wirkung des Methylcholanthrens zuzuschreiben; denn bei Mäusen, die mit reinem Benzol gepinselt wurden, konnte man nur gelegentlich ein Dünnerwerden der Haare bemerken. Bei den Kontrolltieren stellte man diese Erscheinung frühestens nach 3 monatiger Behandlung fest; sie trat nicht regelmässig bei allen Tieren auf, und eine Regeneration wurde auch durch anhaltende Benzolpinselung nicht verhindert.

Während der fortgesetzten Pinselung mit Methylcholanthren entstanden zwischen der 8. und der 15. Woche warzenartige Bildungen an der Pinselungsstelle. Die Entscheidung, ob solche Warzen aufgetreten waren, hat bei der wöchentlichen Untersuchung keine Schwierigkeiten gemacht.

Zwischen der 14. und der 20. Woche verloren die Geschwülste ihr benignes Aussehen; ein infiltratives Wachstum in die Umgebung und in die Tiefe hinein wurde zu dieser Zeit festgestellt. Diese Kriterien habe ich der Bezeichnung: »klinische Malignität« zugrunde gelegt, da man hier nach bestem Ermessen einem kanzerösen Prozess gegenüber stehen wird. Die wöchentlichen Aufzeichnungen zeigten, dass die Tumoren im allgemeinen gleichzeitig schnell und progressiv zu wachsen begannen. Bei einigen ganz wenigen Geschwülsten trat dieses Symptom erst im Laufe von 1—2 Wochen, in einem einzelnen Falle erst nach 4 Wochen, nachdem ich mit klinischer Malignität gerechnet hatte, auf.

Der Grund, weshalb ich auf die Wachstumsgeschwindigkeit weniger Rücksicht genommen habe, ist der, dass gleichzeitig mit den ersten Zeichen von Malignität oft Ulzerationsprozesse in den Tumoren auftraten. Bei Infektion mit Abszessbildung kann es zu einem Verfall kommen, der das wirkliche Wachstum der Geschwulst verschleiern wird. Die Feststellung des Zeitpunktes der klinischen Malignität wird aus diesem Grunde immer das Gepräge der Ungenauigkeit infolge subjektiven Ermessens tragen.

Im Laufe der weiteren Entwicklung konnten die Tumoren sehr gross werden. Geschwülste von einer Grösse von mehr als 3×4 cm mit einer Dicke von ca. 2 cm waren keine Seltenheit. Die Randpartien bestanden aus ziemlich weichen, rötlichen Tumormassen, die von ihrer Umgebung nur schwer abzugrenzen waren. In den zentralen Partien fand man immer ausgedehnte Zerfallsprozesse mit Ulzerations-, Nekrose- und Abszessbildung. Die Mäuse mit malignen Geschwülsten sind zwischen dem 117. und dem 201. Tage nach Beginn des Versuches eingegangen. Ein Kriterium wie der Tag des Todes ist natürlich immer mit Vorbehalt aufzufassen; aber in Verbindung mit anderen Versuchsdaten kann es doch gewisse Aufschlüsse geben.

Bei mikroskopischen Untersuchungen erwiesen sich die meisten Tumoren als Plattenepithelzellenkarzinome (Tafel I, Fig. 1). Die Geschwulstzellen lagen in gröberen oder feineren, unregelmässigen Bündeln und Strängen, die an vielen Stellen von einem spärlichen Bindegewebsstroma unscharf abgegrenzt waren. Der Tumor wuchs invasiv und infiltrativ tief in die darunterliegenden Muskeln. Im zentralen Teil der Stränge konnte man Verhornungen in Form von Zwiebelbildungen oder solideren Balken finden. Vom Zen-

trum aus nach dem Stroma zu fand man die Elemente der Epidermis in atypischer Form und Lagerung wieder. In der Regel enthielten die Zellen nur einen mittelchromatinreichen Kern. In den peripherischen Partien der Epithelstränge fanden sich viele Mitosen.

In 2 Geschwülsten fanden sich Partien, die von den beschriebenen Karzinomen grundsätzlich abwichen. Es handelte sich um sehr zellreiche Stränge aus atypischen Spindelzellen, die invasiv in die Umgebung hinauswuchsen. Morphologisch ähneln sie völlig den Spindelzellensarkomen, die entstehen, wenn man Methylcholanthren im subkutanen Gewebe anbringt. In den beiden Tumoren waren sowohl karzinomatöse wie sarkomatöse Elemente vorhanden, die in geschlossenen Massen gesammelt waren (vgl. Tafel III, Fig. 5). Nur an den Berührungsstellen mischten sich die Geschwulstzellen verschiedenen Ursprungs, weshalb ich mich auf die Bezeichnung Plattenepithelzellenkarzinom + Spindelzellensarkom beschränkt habe.

Geschwülste, die durch Pinselung mit Methylcholanthren hervorgerufen waren, hatten also ein histologisches Bild, das den Beschreibungen experimenteller Tumoren entspricht, die durch Pinselung mit Teer (TSUTSUI, 1918; DEELMAN, 1922; BANG, 1924, u. a.), mit 1:2:5:6-Dibenzanthracen (COOK, HIEGER, KENNAWAY & MAYNEORD, 1932, u. a.) oder mit 3:4-Benzpyren (DOMAGK, 1936, u. a.) hervorgerufen wurden.

Es erscheint zweckmässig, im folgenden den Begriff »reelle Versuchstiere« einzuführen, worunter die Anzahl der Tiere verstanden werden soll, die von den Mäusen der ganzen Versuchsgruppe noch am Leben ist, nachdem sich die erste Geschwulst an der Applikationsstelle entwickelt hat. Die Bezeichnung »absolute Versuchstiere«

bezieht sich auf sämtliche 50 Mäuse, die bei der ganzen Untersuchung zur Verwendung kamen.

Die Untersuchung umfasste 33 reelle Versuchstiere, die alle an der Behandlungsstelle Geschwülste bekommen hatten. Hiervon waren 29 Plattenepithelzellenkarzinome, 2 Papillome und 2 Plattenepithelzellenkarzinome + Spindelzellensarkome. Man darf mit Sicherheit annehmen, dass, wenn die beiden papillombefallenen Tiere nicht zu so früher Zeit während des Versuches verendet wären, ihre Tumoren später histologisch einen malignen Charakter angenommen hätten.

Die Mittelwerte der Versuchskriterien sind in Tabelle 1 aufgeführt; es wurden hier jedoch nur rein epitheliale Geschwülste mitgerechnet. In Anbetracht dessen, dass alle Data, die auf den wöchentlichen Untersuchungen basiert sind, in Wochen angegeben werden müssen, habe ich auch die mittleren Todestage mit Wochen als Einheit angegeben. Ausserdem habe ich angeführt, wann die Tumoren schätzungsweise Haselnussgrösse erreicht hatten. Dieses Kriterium ist bei allen Versuchen mit herangezogen worden, und es ist nicht so ungenau, wie man bei oberflächlicher Betrachtung vermuten könnte. Durch die wöchentlichen Aufzeichnungen ist man jederzeit imstande ungefähr festzustellen, an welchem Wochentage die Geschwulst annähernd diese Grösse erreicht hat. Gegenüber der Tabelle der mittleren Todestage hat man hier den Vorteil, mit lebendigen Tieren zu arbeiten, sodass die Zahlen nicht von einer zufälligen Sterblichkeit während der Untersuchung beeinflusst werden. Man darf annehmen, dass die mittleren Zeiten der klinischen Malignität, die mittleren Zeiten des Erscheinens haselnussgrosser Geschwülste und die mittleren Todestage bei diesem Versuch gleich zuverlässige Kriterien sind, was auch aus der relativen Übereinstimmung dieser

Zahlen hervorgeht. Die mittlere Latenzzeit für das Erscheinen der Papillome muss jederzeit als die zuverlässigste Angabe bei Untersuchungen mit Methylcholanthrenpinselungen angesehen werden. Obwohl das Material nicht gross ist, wurden die Berechnungen mit einer Genauigkeit von einer Dezimalstelle angestellt, da frühere Versuche von geringerem oder ähnlichem Umfange meist in der gleichen Weise ausgeführt wurden. Die Berechnungen der mittleren Zeiten sind für die verschiedenen Versuchs-kriterien auf einer verschiedenen Anzahl von Tieren basiert, da 2 Mäuse mit Papillomen verendet sind und 1 Maus an einem Karzinom eingegangen ist, das keine klinischen Zeichen von Malignität gezeigt hat.

Tabelle 1.

Untersuchung, bei der in Benzol aufgelöstes Methylcholanthren auf die Haut gepinselt wurde.

Mittlere Zeit in Wochen vom Beginn des Versuches bis	
zum Erscheinen der Papillome	11,9 (31) ¹
zur klinischen Malignität.....	15,9 (28)
zu haselnussgrossen Geschwülsten	19,1 (28)
zum Tode der karzinombefallenen Maus.....	24,1 (29)

¹ Die Zahlen in Klammern geben an, wie viele Tiere in den einzelnen Berechnungen enthalten sind.

Bei Bagg-Mäusen, die zweimal wöchentlich mit einer 0,3 %igen Lösung von Methylcholanthren in Benzol gepinselt wurden, erschienen die Geschwülste zwischen der 8. und der 12. Woche, durchschnittlich nach 11,9 Wochen. Im Vergleich zu früheren Pinselungsversuchen mit Kohlenwasserstoff (BARRY, COOK, HASLEWOOD, HEWETT, HIEGER & KENNAWAY, 1935, und BACHMANN, COOK, DANSI, DE

WORMS, HASLEWOOD, HEWETT & ROBINSON, 1937) muss angenommen werden, dass die Haut der Bagg-Mäuse empfindlicher ist als die der verwendeten gewöhnlichen Zuchtmäuse und der CBA-Mäuse.

Bei 7 von 29 Mäusen, bei denen Plattenepithelzellenkarzinome hervorgerufen wurden, konnten insgesamt 10 Metastasen in verschiedenen Organen konstatiert werden. Hiervon waren 5 in den Lungen, 3 in regionären Lymphdrüsen, 1 in der Niere und 1 in der quergestreiften Muskulatur des Oberschenkels lokalisiert. Bei karzinombehafteten Tieren, die man spontan an der Krankheit zugrundegehen liess, bildeten die Geschwülste also im vorliegenden Material bei ca. $\frac{1}{4}$ der Tiere Metastasen. Alle Mäuse, die mit Metastasen behaftet waren, haben mindestens noch 10 Wochen nach dem Nachweis der klinischen Malignität gelebt.

In der Literatur habe ich keine Beschreibung von geglückten Homotransplantationsversuchen mit epithelialen Geschwülsten finden können, die durch Pinselungsversuche mit cancrogenen Kohlenwasserstoffen erzeugt worden sind. Die stark nekrotischen und infizierten Karzinome wirken von vornherein nicht gerade einladend zu solchen Untersuchungen, obwohl nachgewiesen worden ist, dass sich entsprechende Teerpinselungsgeschwülste transplantieren lassen (FIBIGER & BANG, 1920 und 1921 u. a.). Um einen experimentellen Beweis für die Malignität zu erbringen, habe ich versucht, Plattenepithelzellenkarzinome von 3 moribunden Mäusen weiterzuführen. Die gesündesten Randpartien der Geschwülste wurden auf 6 oder 10 Mäuse übertragen, je nach der Ergiebigkeit des Materials. Die geimpften Tiere wurden bis zu 3 Monate beobachtet. Nach einer längeren Observationszeit entstandene Tumoren wären schwer zu beurteilen gewesen, da man damit rechnen

musste, dass sie möglicherweise durch minimale Mengen Methylcholanthrens von der Muttergeschwulst hervorgerufen waren. Bei 2 Karzinomen trat an der Impfstelle eine Infektion ein ohne Zeichen fortgesetzten Wachstums. Die dritte Geschwulst gab keinen Anlass zu Abszessbildung, und nach einer Observationszeit von $1\frac{1}{2}$ Monaten ging die Überimpfung bei 2 von 8 überlebenden Mäusen an. Die Tumoren hatten dasselbe morphologische Aussehen wie die Muttergeschwulst und gingen in den folgenden $1\frac{1}{2}$ Monaten nicht zurück.

Im Interesse der Vollständigkeit des Berichtes will ich noch die primären Tumoren erwähnen, die während des Versuches abseits der Applikationsstelle entstanden sind. Sie sollen in einer späteren Arbeit im Zusammenhang mit ähnlichen Geschwülsten aus den übrigen Untersuchungen erörtert werden.

Lungenadenome sind bei 3 Mäusen aufgetreten (2 ♂ und 1 ♀), die alle Plattenepithelzellenkarzinome an der Pinselungsstelle hatten. Zwei der Tiere hatten ferner an einer Lymphdrüse oder an der Lunge Metastasen von Geschwülsten, die an der Behandlungsstelle entstanden waren. Die Tiere sind zwischen dem 170. und dem 193. Tage nach Beginn des Versuches eingegangen. Diese Geschwülste liegen in der Regel dicht unter der Pleura und bestehen aus dünnen Bindegewebfalten, die mit zylindrischen oder kubischen, an verdickte Alveolarepithelien erinnernde Zellen bekleidet sind. Durch eine besondere Lagerung der Zellen bekommen die Tumoren ein mehr oder weniger adenomatöses Gepräge.

Ein Mäuseweibchen, das am 138. Tage seziiert wurde, hatte in der Gegend des Thymus einen haselnussgrossen Tumor. Vorn nach dem Sternum zu war er deutlich abgegrenzt, als wäre er von einer Kapsel umgeben. Dagegen

wuchs er diffus nach innen durch den ganzen übrigen Teil des Mediastinum, und er infiltrierte auch die Muskulatur an der Apertura thoracis sup. Lunge und Herz wurden dadurch nach unten und hinten disloziert, und die grossen Gefässe waren vollständig von Tumormassen umgeben. Bei der mikroskopischen Untersuchung zeigte es sich, dass die Geschwulst fast ausschliesslich aus Rundzellen bestand, die als kleine oder auch grosse Lymphozyten aufgefasst werden müssen (Tafel I, Fig. 2). Die Zellen waren ganz unregelmässig gelagert, ohne das geringste Zeichen einer Follikelbildung. Im Tumor waren einzelne Mitosen anzutreffen, und er wuchs infiltrativ in die angrenzende Muskulatur hinein. Im Gewebe fanden sich einzelne Retikulumzellen ohne proliferative Tendenz, während ich keine Reste von Hassall'schen Körperchen habe finden können. Die Geschwulst war reichlich mit Gefässen versehen. Bei Imprägnierung a. m. Foot fand man einzelne Fibrillen, die sich jedoch bei einer Färbung nach van Gieson-Hansen oder Mallory nicht nachweisen liessen. Bei einer mikroskopischen Untersuchung der Lungen sah man, dass sich die Rundzellen wie dicke Mäntel an den Gefässen und Bronchien entlang ausbreiteten, wo sie unmittelbar unter der Bronchialschleimhaut lagen, ohne diese jedoch zu durchwachsen. Auf Grund von Lage, Aussehen und Charakter der Geschwulst darf man diese als ein Lymphoblastom bezeichnen, das vermutlich vom Thymus ausgegangen war.

2) Versuche, durch subkutane Deponierung von Methylcholanthren Tumoren hervorzurufen.

Eine solche Untersuchung wurde vorgenommen, um eine Vergleichsgrundlage für die übrigen Versuche zu

schaffen. Als Versuchsregion habe ich das subkutane Gewebe der Interskapularregion gewählt, in das ca. 10 mg kristallinisches Methylcholanthren mit Hilfe einer Lumbalkanüle und mit Glycerin als Schmiermittel eingeführt wurden.

Bei einem anderen Versuch habe ich in entsprechender Weise den cancrogenen Kohlenwasserstoff subkutan in die linke Flanke injiziert und gleichzeitig ein ca. 1 cm langes Stück eines schweren, sterilisierten Seidenfadens subkutan in der rechten Lendenregion angebracht. In keinem Falle hat sich etwas anderes gezeigt als eine Fremdkörperreaktion in der nächsten Umgebung des Fadens, und der Versuch gibt keinen Anlass zu der Vermutung, dass um den Seidenfaden herum maligne Geschwülste entstehen könnten. Die Untersuchungen sind nur deshalb von Interesse, weil in einer anderen, subkutanen Region Tumoren hervorgerufen wurden. Es ist kaum wahrscheinlich, dass der unbedeutende Eingriff auf die Geschwulstbildung in der linken Flanke von Einfluss war.

Zu jedem Versuch wurden 50 Versuchs- und 50 Kontrollmäuse mit der gleichen Anzahl Männchen und Weibchen in jeder Gruppe verwendet. Beide Untersuchungen wurden am 280. Versuchstage abgeschlossen, an dem die Kontrolltiere und die wenigen Versuchsmäuse, die nach der Injektion von Methylcholanthren keine Geschwülste gebildet hatten, getötet wurden.

In dem Versuch, in dem das Methylcholanthren subkutan unter der Rückenhaut deponiert wurde, entstand bei ca. $\frac{1}{4}$ der Mäuse ein Haarverlust über der Deponierungsstelle. Das Symptom zeigte sich in der 5. bis 13., durchschnittlich zwischen der 9. und 10. Woche nach Beginn des Versuches. Noch bevor das geringste Anzeichen

einer Tumorbildung zu sehen war, entstand im Laufe von 13—16 Wochen bei ein paar Mäusen ein ulzeröser Prozess an der Versuchsstelle. Im Gegensatz zur sekundären Ulzeration, die über einer voll entwickelten Geschwulst entstehen kann, ist diese primäre Ulzeration ausschliesslich einer Wirkung des cancrogenen Kohlenwasserstoffs zuzuschreiben.

Die Tumoren entstanden zwischen der 14. und der 38. Woche nach Beginn des Versuches. Die Geschwülste machten sich als kleine, harte Verdickungen an den Methylcholanthrendepots bemerkbar. Nach den palpatorischen Befunden war man nicht im Zweifel darüber, ob sich ein Tumor gebildet hatte. Diese harten, gut abgegrenzten Verdickungen konnten sich 1—6 Wochen lang unverändert halten, worauf sie plötzlich schnell und progressiv zu wachsen anfangen. Der Zeitpunkt, zu dem die Geschwülste in dieser Weise ihren Charakter veränderten, liess sich durch die wöchentlichen Aufzeichnungen genau bestimmen, und dies war ausserdem der einzige Anhaltspunkt dafür, dass klinische Malignität eingetreten war.

Im Vergleich zur folgenden Untersuchung, wo der Stoff subkutan in der linken Flanke deponiert wurde, konnte man hier seltener die Tumoren schon in einem ganz frühen Stadium in der Interskapularregion palpieren. Man erkannte sie erst bei beginnender klinischer Malignität, was sicher dadurch zu erklären ist, dass die Scapulae eine Palpation dieser Region erschweren. Die Beurteilung des Zeitpunktes des Erscheinens der Geschwulst ist daher ein so unzuverlässiges Kriterium, dass es bei dieser Untersuchung ohne Interesse ist.

Die klinische Malignität zeigte sich zwischen der 14. und der 38. Woche, zu den gleichen Zeiten also, die für die

Entstehung der Geschwülste angegeben wurden. Mäuse mit malignen Tumoren gehen spontan zwischen dem 109. und dem 279. Tage nach Beginn des Versuches ein.

Die Geschwülste waren weiss, hatten Ähnlichkeit mit Fischfleisch und waren von ihrer Umgebung nicht scharf abgegrenzt. Sie konnten sehr gross werden; so wurde z. B. ein Tumor gefunden, der 11,75 g wog, während die Maus nach Entfernung des Tumors ein Gewicht von 22,75 g hatte. Nekrose, sekundäre Ulzeration und Infektion traten in der Regel erst auf, wenn die Geschwülste eine ansehnliche Grösse erreicht hatten.

Bei Tieren, die vor dem Erscheinen der ersten Tumoren verendeten, sah man das eingeführte Methylcholanthren immer als einen zusammenhängenden Klumpen im subkutanen Gewebe. Bei anderen Versuchen habe ich manchmal sichtbare Reste der gelben Kristalle in voll entwickelten, malignen Geschwülsten gefunden. Bei Abschluss des Versuches, 280 Tage nach seinem Beginn, lebten noch 2 Mäuseweibchen, die nicht mit Tumorbildung reagiert hatten. Bei diesen Tieren sowie bei einem Mäuseweibchen, das am 267. Versuchstage einging, liessen sich keine Reste des Kohlenwasserstoffes beobachten, was wohl bedeuten muss, dass er von der Deponierungsstelle entfernt worden ist.

Bei der mikroskopischen Untersuchung erwiesen sich die meisten Geschwülste als infiltrativ wachsende Spindelzellensarkome. Die Tumoren waren ungeheuer zellreich und nur sehr spärlich mit Grundsubstanz versehen (Tafel II, Fig. 3). Die Geschwulstzellen lagen meist in groben, unregelmässigen Strängen und Bündeln angeordnet. Das Aussehen der Spindelzellen schwankt etwas: man trifft alle Formen, von kurzen abgestumpften Formen bis zu langen, mehr oder weniger schlanken Elementen. Nach dem vor-

liegenden Material hat man keinen Anlass zu der Vermutung, dass diese Zellen mit glatter Muskulatur verwandt sein könnten, wie das in einzelnen Fällen bei ähnlichen Versuchen mit 1:2:5:6-Dibenzanthracen (HAAGENSEN & KREHBIEL, 1936, und HVAL, 1937) und mit 3:4-Benzpyren (DUNNING, CURTIS & BULLOCK, 1936) beschrieben worden ist. In der Regel enthielten die Zellen nur einen mittelchromatinreichen Kern, der spindelförmig, oval oder rund war.

Im Vergleich zu den Plattenepithelzellenkarzinomen waren hier weniger Mitosen zu sehen. In den Tumoren verstreut konnte man einzelne Riesenzellen finden. In der spärlichen Grundsubstanz liessen sich kollagene Fibrillen mit van Gieson-Hansen-Färbung schwer nachweisen; mit Färbung a. m. Mallory oder Foot liess sich jedoch immer ein fibrilläres Netz nachweisen, das nicht nach Weigert gefärbt werden konnte.

Eine einzelne Geschwulst wurde als Sarcoma polymorphocellulare aufgefasst (Tafel II, Fig. 4), weil Form und Grösse der Zellen starke Unterschiede aufwiesen; aber auch hier gab es nur wenige multinukläre Riesenzellen. Die morphologische Diagnose ist jedoch kaum von grosser Bedeutung, weil diese Geschwulst bei einer Transplantation in allen positiven Fällen sich zu einem reinen Spindelzellensarkom entwickelte.

Die am häufigsten konstatierten Spindelzellensarkome entsprechen jenen Beschreibungen, die von ähnlichen Versuchen an Mäusen vorliegen, die mit 1:2:5:6 Dibenzanthracen (BURROWS, HIEGER & KENNAWAY, 1932 u. a.), mit 3:4-Benzpyren (DUNNING, CURTIS & BULLOCK, 1936 u. a.) und mit Methylcholanthren vorgenommen wurden (BARRY, COOK, HASLEWOOD, HEWETT, HIEGER &

KENNAWAY, 1935 u. a.). Das einzige subkutane, durch Teerinjektionen hervorgerufene Sarkom, ist gleichfalls von demselben Typus (RUSSEL, 1922).

Zwei Geschwülste erwiesen sich als Plattenepithelzellenkarzinome + Spindelzellensarkome (Tafel II, Fig. 5), da sie die gleiche histologische Beschaffenheit wie die entsprechenden Tumoren hatten, die beim Pinselungsversuch besprochen wurden. Diese Geschwülste waren nicht bei jenen Mäusen entstanden, die eine Ulzerationsbildung über der Stelle, wo das Methylcholanthren deponiert war, gehabt hatten. Karzinombildung bei Mäusen infolge subkutaner Injektionen von cancrogenem Kohlenwasserstoff ist früher schon hin und wieder beschrieben worden. HAAGENSEN & KREHBIEL (1936) und DOBROVLSKAĀ-ZAVADSKAĀ & ADAMOVA (1938 und 1939) haben bei Versuchen mit 1:2:5:6-Dibenzanthracen vereinzelt Male Plattenepithelzellenkarzinome gesehen, die von Sarkombildung begleitet sein konnten. Mit 3:4-Benzpyren haben DUNNING, CURTIS & BULLOCK (1936) unter 427 Geschwülsten 23 ähnliche Karzinome in Verbindung mit Sarkomen gefunden. BONSER & ORR (1939) haben 160 Tumoren an Mäusen hervorgerufen, indem sie subkutan Paraffinstäbchen einführten, die 1:2:5:6-Dibenzanthracen, 3:4-Benzpyren oder Methylcholanthren enthielten. In diesem Material wurden 12 Plattenepithelzellenkarzinome gefunden, die in der Hälfte der Fälle von Sarkombildung begleitet waren.

Im ganzen haben 29 (91 %) von 32 reellen Versuchstieren mit Tumorbildung an der Injektionsstelle reagiert. Beim Pinselungsversuch bekamen sämtliche reellen Versuchstiere eine Geschwulst. Diese Zahlen müssen jedoch mit einigem Vorbehalt aufgefasst werden, weil die Tumoren

bei den einzelnen Mäusen zu verschiedenen Zeiten auftraten. Auch wenn das Material in der Weise aufgestellt wird, wie es hier geschehen ist, kann eine zufällige Sterblichkeit unter den Tieren doch zu Schwankungen in den Zahlenangaben führen. Von den 29 Tumoren wurden 23 als Spindelzellensarkome aufgefasst, 1 als polymorphzelliges Sarkom, 4 als Plattenepithelzellenkarzinome + Spindelzellensarkome, und eines hat sich schliesslich als reines Plattenepithelzellenkarzinom erwiesen. Die Sarkome haben keine Metastasen gebildet, während 2 Mäuse Metastasen von rein epithelalem Charakter in der Lunge oder einer Lymphdrüse hatten.

Die Mittelwerte der Versuchsergebnisse mit reinen Sarkomen sind in Tabelle 2 angegeben. Hieraus geht hervor, dass eine Maus verendet ist, ehe die Geschwulst Haselnussgrösse erreicht hatte. Das Kriterium der klinischen Malignität muss als die genaueste Angabe angesehen werden. Die mittleren Zeiten für das Erscheinen haselnussgrosser Geschwülste werden durch die etwas verschiedenen Wachstumsgeschwindigkeiten der Tumoren beeinflusst, und hier macht sich auch das individuelle Ermessen in grösserem Umfange geltend. Da sich dieses Kriterium auf lebende Tiere bezieht, muss es eine bessere Grundlage für die Bewertung abgeben als die für den Tod der Tiere gewonnenen mittleren Zeiten, die einen falschen Eindruck erwecken können, wenn aus zufälligen Ursachen unter den sarkombehafteten Mäusen eine grössere Sterblichkeit auftritt.

Im folgenden Versuch, bei dem das Methylcholanthren subkutan in der linken Flanke deponiert wurde, ist weder Haarverlust noch eine primäre Ulzeration an der Deponierungsstelle aufgetreten. Dies lässt sich sicher dadurch erklären, dass der Stoff in grösserem

Abstand von der Haut gelagert war, die hier loser mit der Unterlage verbunden ist. Schliesslich mag die Haut hier vielleicht etwas dicker sein als auf dem Rücken.

Die Tumoren entstanden zwischen der 7. und der 22. Woche nach Beginn des Versuches. Die Geschwülste wurden zuerst als kleine, harte, gut abgegrenzte Verdickungen palpirt, die sich bis zu 22 Wochen ganz unverändert halten konnten, dann aber plötzlich in schnelles und progressives Wachstum übergangen. Im allgemeinen ist dieses Intervall weniger lang, und in einzelnen Fällen haben die Tumoren sofort Zeichen klinischer Malignität getragen.

Zwischen der 9. und der 35. Woche gehen die Geschwülste in ein klinisch malignes Stadium über. Meine Erfahrungen haben auch hier gezeigt, dass sich dieser Übergang durch die wöchentlichen Aufzeichnungen erstaunlich genau bestimmen lässt.

Mäuse mit malignen Geschwülsten gingen zwischen dem 115. und dem 278. Versuchstage ein. Im ganzen haben 34 (94 %) von 36 reellen Versuchstieren einen Tumor bekommen. Die Geschwülste haben in keinem Falle Anlass zu Metastasen gegeben. Von den 34 Tumoren waren 26 Spindelzellensarkome, 1 ein polymorphzelliges Sarkom, 2 benigne, fibröse Geschwülste, 2 Plattenepithelzellenkarzinome + Spindelzellensarkome und 3 reine Plattenepithelzellenkarzinome.

Die mittleren Zeiten für die Versuchskriterien sind in Tabelle 2 angegeben; es wurden hier jedoch nur Geschwülste von rein fibröser oder sarkomatöser Natur bei der Berechnung mitgezählt. Die Berechnungen der Mittelzahlen wurden aus einer verschiedenen Anzahl von Tieren vorgenommen, weil 2 Mäuse mit benignen, fibrösen Ge-

schwülsten eingegangen und noch 2 weitere Tiere verendet sind, bevor sich die Sarkome bis zu Haselnussgrösse entwickelt hatten.

Tabelle 2.

Mittlere Zeit in Wochen vom Beginn des Versuches bis	Untersuchung, bei der das Methylcholanthren subkutan deponiert wurde		Mittelwerte ¹ aus 1 & 2
	1) unter der Rückenhaut	2) in der Flanke	
zum Erscheinen der Tumoren	—	12,2 (28)	—
zur klinischen Malignität..	20,2 (24)	17,6 (26)	18,8 (50)
zu haselnussgrossen Geschwülsten	22,3 (23)	21,5 (24)	21,9 (47)
zum Tode der sarkom- behafteten Maus	25,0 (24)	23,7 (26)	24,3 (50)

¹ Die Mittelwerte wurden aus dem ursprünglichen Zahlenmaterial berechnet und nicht als Mittelzahlen aus 1 & 2.

Das beste und sicherste Mass zum Vergleich und zur Beurteilung der Versuche, bei denen Methylcholanthren subkutan unter der Rückenhaut, bzw. in der linken Flanke deponiert wurde, sind die mittleren Zeiten für die beginnende klinische Malignität. Es ist eigentlich merkwürdig, dass diese zuverlässige Angabe bei früheren Versuchen, bei denen krebserzeugende Kohlenwasserstoffe subkutan angebracht wurden, keine Anwendung gefunden hat. Bei Untersuchungen mit ganz verschiedenartiger Technik bilden die Zeiten für das Erscheinen der Tumoren stets die Berechnungsgrundlage, wenn auch oftmals davon die Rede ist, wie schwierig die genaue Bestimmung dieses Zeitpunktes ist (BURROWS, HIEGER & KENNAWAY, 1932, SHEAR, 1936, BOYLAND & WARREN, 1937 u. a.).

Es lässt sich kein wirklicher Unterschied zwischen den Versuchskriterien dieser beiden Gruppen nachweisen, bei denen der krebserzeugende Stoff subkutan unter der Rückenhaut, bzw. in der linken Flanke deponiert wurde. Man muss daher annehmen, dass die Reaktion des Gewebes in beiden Regionen mit der gleichen Geschwindigkeit vor sich geht. Auf Grund theoretischer Überlegungen könnte man vermuten, dass Unterschiede zwischen den Versuchskriterien bestehen, dass z. B. eine verschiedene Gefäßversorgung im subkutanen Gewebe der beiden Gebiete die Ergebnisse möglicherweise beeinflusst.

Um für spätere Untersuchungen eine bessere Vergleichsgrundlage zu schaffen, habe ich auf Grund des vorliegenden Zahlenmaterials die Mittelwerte der Versuchskriterien der beiden Untersuchungen mit subkutanem Gewebe als Versuchsobjekt ausgerechnet (Tabelle 2).

Frühere Versuche mit Mäusen, denen subkutan Methylcholanthren zugeführt wurde, sind zum grössten Teil mit Injektionen in die Flanke oder in die Achsel ausgeführt worden. Bei Untersuchungen mit Dosen von 0,8 mg oder darüber ist die geringste Menge mit maximaler Wirkung sicher überschritten (ESMARCH, 1940 b). Unter den gegebenen Versuchsbedingungen erschienen die subkutanen Geschwülste bei Bagg-Mäusen, denen 10 mg des Stoffes in die linke Flanke injiziert worden war, zwischen der 7. und der 22. Woche, d. h. nach einer mittleren Zeit von 12,2 Wochen. Obwohl sich die Ergebnisse bei verschiedenen Versuchsanordnungen ändern und das Versuchskriterium sehr unzuverlässig ist, muss man annehmen, dass das subkutane Gewebe der Bagg-Mäuse verglichen mit dem anderer, reiner Mäusestämme in seiner Reaktion auf das Methylcholanthren als etwa mittelempfindlich zu bezeich-

nen ist (SHEAR, 1936, BOYLAND & WARREN, 1937, ANDERVONT, 1938 a, b und NICOD & REGAMEY, 1938).

Um die vollständige Erörterung der beiden Versuche abzuschliessen, mag noch erwähnt werden, dass bei einer Untersuchung, bei der das Methylcholanthren subkutan unter der Rückenhaut deponiert wurde, keine primären Geschwülste abseits der Einspritzungsstelle angetroffen wurden. Bei einem anderen Versuch, wo der Stoff in der Flanke angebracht war, sind bei 2 Mäusen (1 ♂ und 1 ♀) Lungenadenome vorgekommen: diese Tiere sind am 171. bzw. 280. Tage eingegangen. Das eine Tier hatte mit Sarkombildung an der Injektionsstelle reagiert, während das andere keine Tumoren aufwies.

Experimentell hervorgerufene Sarkome sind ausnahmslos weniger nekrotisch und infiziert als jene Karzinome, die bei Pinselungsversuchen entstehen. Sie sind daher öfter zum Gegenstand von Homotransplantationsversuchen gemacht worden, und verschiedene Forscher können über eine wohlgelungene Weiterführung durch mehrere Passagen berichten (BURROWS, HIEGER & KENNAWAY, 1932, SCHABAD, 1935 u. a.). In der ersten Generation konnte man jedoch keinen grösseren Prozentsatz positiver Fälle erzielen, es sei denn, dass die Geschwülste auf Mäuse desselben reinen Stammes übertragen wurden, an dem sie hervorgerufen waren (ANDERVONT, 1934, LEWIS & LICHTENSTEIN, 1936 a, b und LEWIS, 1937).

Im ganzen habe ich 5 Geschwülste, die im subkutanen Gewebe unter der Rückenhaut oder in der Flanke hervorgerufen waren, weitergeführt. Je nach dem Reichtum des Materials wurden von jeder Geschwulst auf 10—20 Mäuse von gleichem Geschlecht und Stamm Überimpfungen vorgenommen. Im Vergleich zu der Transplantation der ex-

perimentellen Plattenepithelzellenkarzinome gingen diese Überimpfungen schneller, häufiger und regelmässiger an. Alle Geschwülste des Versuches liessen sich übertragen. Bei ca. $\frac{2}{3}$ der Tiere entstanden die Impfgeschwülste im Laufe von ein paar Wochen, und sie gingen nur selten später zurück.

Ein polymorphzelliges Sarkom wuchs in allen positiven Fällen als reines Spindelzellensarkom, was darauf hindeuten muss, dass die morphologische Diagnose ohne besondere Bedeutung ist. Bei der Weiterführung verändern dagegen die Spindelzellensarkome ihren Charakter nicht. Ein Sarkom wurde auf diese Weise zum Gegenstand von Serientransplantationen gemacht, sodass es sich jetzt in der 53. Generation befindet, ohne dass sich seine Morphologie geändert hätte.

Bei beiden Versuchen wurden hin und wieder reine Plattenepithelzellenkarzinome oder Geschwülste konstatiert, die als Plattenepithelzellenkarzinome + Spindelzellensarkome bezeichnet wurden, weil die beiden Arten maligner Gewebe in geschlossenen Massen so gelegen haben, dass nur an den Berührungstellen eine Mischung der Elemente vor sich gegangen ist. Epitheliale Tumoren wurden, wie erwähnt, gelegentlich jener Untersuchungen beschrieben, wo cancrogene Kohlenwasserstoffe subkutan eingeführt wurden. Man kann annehmen, dass diese Geschwülste von der Haut ausgehen. Mit 3:4-Benzpyren haben PEACOCK & BECK (1938) gezeigt, dass die Tumoren einige wenige Millimeter vom subkutanen Depot selbst entfernt entstehen, vermutlich weil die Konzentration des Stoffes hier optimale Bedingungen für die Bildung von Geschwülsten bietet. Trotzdem die krebserzeugende Verbindung in das subkutane Gewebe selbst eingeführt wird, besteht also die Möglichkeit, dass

epitheliale Elemente in einer Zone zu liegen kommen, in der eine für eine Geschwulstbildung günstige Konzentration besteht. Ferner wurde nachgewiesen (ESMARCH, 1940 a), dass man beim Einstich mit der Kanüle ein Hautstückchen in das Gewebe dislozieren kann, wo es unter der Einwirkung des gleichzeitig injizierten Methylcholanthrens maligne degenerieren wird.

Diese Tatsachen geben eine passende Erklärung für das Auftreten der malignen, epithelialen Geschwülste; gleichzeitig erhebt sich aber die Frage, ob ein Unterschied in der Reaktionsgeschwindigkeit besteht, wenn Haut und subkutanen Gewebe der Einwirkung eines cancrogenen Kohlenwasserstoffs ausgesetzt werden. CLOWES & CHEN (1936) geben an, dass bei intrakutaner Injektion von Lösungen mit 1:2:5:6-Dibenzanthracen oder 3:4-Benzopyren in Öl ausschliesslich Sarkome entstehen. Leider ist die Grösse des Materials nicht angegeben; der Versuch muss aber als ein Ausdruck dafür aufgefasst werden, dass sich das Bindegewebe schneller als epitheliales Gewebe zu malignen Tumoren umbilden lässt. Auf Grund von Berechnungen an Hand früherer Versuche mit cancrogenen Kohlenwasserstoffen an Mäusen hat FIESER (1938) gezeigt, dass die gleichen Stoffe überall längere Zeit brauchen, um bei Pinselungsversuchen Hautgeschwülste hervorzurufen als bei Injektionsversuchen subkutane Tumoren. Beim Methylcholanthren handelt es sich um eine 1,38 mal so lange Zeit. Aus einer solchen Berechnung kann man indessen nicht den Schluss ziehen, dass die Haut langsamer reagiert; denn hier werden Versuche mit weit verschiedener Technik verglichen.

Ein Vergleich zwischen den Versuchskriterien meiner eigenen Versuche, bei denen das Methylcholanthren in einigen Fällen der Haut, in anderen Fällen dem subkutanen

Gewebe zugeführt wurde, lässt sich schwer anstellen, weil die gleiche Mittelzahl in beiden Untersuchungsgruppen nicht gleich zuverlässig ist. Aus den Tabellen 1 und 2 geht hervor, dass die Tumoren bei beiden Versuchen nach praktisch der gleichen Zeit entstehen; es muss aber daran erinnert werden, wie schwer sich der Zeitpunkt des Erscheinens der Geschwülste bestimmen lässt, wenn der Stoff im subkutanen Gewebe deponiert wurde. Das beste Mass für einen Vergleich sind sicher die mittleren Zeiten für das Erscheinen der klinischen Malignität, die bei den subkutanen Versuchen nach 1,18 mal so langer Zeit auftritt als beim Pinselungsversuch.

Im Vergleich zu Mäusen anderer Stämme muss man annehmen, dass die Haut der Bagg-Mäuse besonders empfindlich ist, während das subkutane Gewebe in seiner Reaktion auf die krebserzeugende Fähigkeit des Methylcholanthrens von mittlerer Empfindlichkeit ist. Meine eigenen und FIESER's Angaben sind auch ein Ausdruck für dieses relative Verhältnis. Ein festes Verhältnis zwischen der Reaktionsgeschwindigkeit der Haut und des Bindegewebes kann man nicht erwarten, da BRANCH (1936) gezeigt hat, dass sich subkutane Tumoren mit 1:2:5:6-Dibenzanthracen bei zwei Mäusestämmen, die nicht die gleiche Empfindlichkeit gegen Pinselungsversuche mit dem Stoffe haben, mit gleicher Leichtigkeit hervorrufen liessen.

Um ein Bild von der Reaktivität der Haut und des Bindegewebes bei dem verwendeten Mäusestamm zu bekommen, will ich voraussetzen, dass das subkutane Gewebe bei den Pinselungsversuchen der Einwirkung des Methylcholanthrens ebenso ausgesetzt ist wie das Epithelgewebe, wenn der Stoff subkutan deponiert wird. Bei meinem Pinselungsversuch waren 2 (6 %) von 31 malignen

Tumoren zum Teil sarkomatös. Bei den beiden Versuchen, bei denen die Verbindung im subkutanen Gewebe deponiert wurde, erwiesen sich 10 (16 %) von 61 malignen Geschwülsten ganz oder teilweise als karzinomatös. In Anbetracht der vielen Fehlerquellen in der Voraussetzung wage ich nicht den Schluss zu ziehen, dass die Haut bei dem verwendeten Mäusestamm schneller reagiert als das Bindegewebe; die Zahlen stehen jedoch in einem wohlbe-gründeten Gegensatz zu den Vermutungen, dass sich Tu-moren schneller vom subkutanen als vom epithelialen Ge-webe aus bilden.

3) Versuch, in der Mamma durch direkte Reizung des Gewebes mit Methylcholanthren Tumoren her-vorzurufen.

Jeder Maus wurde das Methylcholanthren unter einer Pa-pille in der linken Inguinalregion deponiert. Die Kontroll-tiere und ein Versuchstier, das nicht mit Tumorbildung reagiert hatte, wurden 280 Tage nach Beginn der Untersuchung ge-tötet, während ein geschwulstbehaftetes Versuchstier am Leben gelassen wurde, damit es spontan verenden konnte.

Die normalen Verhältnisse des Brustgewebes bei Mäuse-weibchen brauchen nicht besonders besprochen zu werden. Bei Männchen kann das Brustgewebe so rudimentär sein, dass es sich nicht einmal durch Serienschritte nachweisen lässt (LACASSAGNE, 1932, und BONSER, 1936). Bei Mäuse-männchen war es zuweilen unmöglich, in der Mammaregion eine Papille zu finden, weshalb die Injektionen nach bestem Ermessen vorgenommen werden mussten. Der Grund, weshalb Männchen überhaupt in den Versuch mit einbezogen wurden, ist der, dass untersucht werden sollte, ob der Kohlenwasserstoff das rudimentäre Organ mög-

licherweise zur Entwicklung bringen könnte, wie das z. B. vor dem Entstehen maligner Geschwülste im Mammagewebe bei Mäusemännchen der Fall ist, die mit grossen Dosen von östrogenen Hormonen behandelt werden (LACASSAGNE, 1936).

Für diese Untersuchung war charakteristisch, dass es bei praktisch allen Tieren über der nächsten Umgebung der Deponierungsstelle zu Haarverlust kam. Die Erscheinung trat im Laufe von 1 bis 9 Wochen auf, durchschnittlich im Laufe von ca. 5 Wochen. Ferner kam es oft zu einer Ulzerationsbildung vor dem Erscheinen von palpierbaren Tumoren, und solche Prozesse konnten auch über den klinisch benignen, kleinen Tumoren entstehen, die in den ganz frühen Stadien nachzuweisen waren. Dieses Symptom hat sich zwischen der 16. und der 22. Woche gezeigt, nach einer mittleren Zeit von ca. 17 Wochen. Es lässt sich kaum annehmen, dass die Ulzerationen hier infolge von Drucknekrosen entstanden sein sollten, weshalb man in beiden Fällen vermuten muss, dass sie infolge einer Wirkung des Methylcholanthrens aufgetreten sind.

Wenn man Kristalle von Methylcholanthren oder anderen cancrogenen Kohlenwasserstoffen in der gleichen Weise in der Achsel von Mäusen des Stammes A deponiert, so kommt es, wie SHEAR (1936 und 1938) angibt, meist zu Haarverlust und Ulzerationsbildung, bevor Tumoren entstehen, und die Geschwülste können sich dann von den Wundrändern aus entwickeln. Diese Beobachtungen stimmen völlig mit den Erfahrungen aus dem soeben besprochenen Versuch überein. Bei einer Untersuchung, bei der das Methylcholanthren unter die Rückenhaut eingeführt wurde, entstand der Haarverlust seltener und später, und es bildeten sich auch nur in einzelnen Fällen Geschwüre. Bei Deponierung in der linken Flanke wurde weder Haarverlust

noch Ulzeration beobachtet. Diese Schwankungen von Versuch zu Versuch sind sicher darauf zurückzuführen, dass die Haut in den verschiedenen Regionen nicht gleich dick ist, und Unterschiede in der Dicke der Subkutis können bewirken, dass das Methylcholanthren mehr oder weniger dicht an der Epidermis zu liegen kommt.

Diese Ulzerationsprozesse sind bei der Beurteilung des Erscheinens der Geschwülste sehr störend. Einerseits kann es recht schwierig sein, zwischen Entzündungserscheinungen und wirklicher Tumorbildung zu unterscheiden, andererseits können solche Prozesse sicher festgestellte Geschwülste zum Verschwinden bringen. Es ist daher nicht möglich, über das Erscheinen der Tumoren bestimmte Angaben zu machen, und mittlere Zeiten für derartige Kriterien werden ebenfalls wertlos sein.

Man hat gesehen, dass das Methylcholanthrendepot völlig offen am Boden der Ulzeration gelegen hat, so dass die Gefahr eines bedeutenden Verlustes des Stoffes bestand; aus diesem Grunde ist die Dosis bei dieser Untersuchung absolut nicht konstant.

Die klinische Malignität trat zwischen der 12. und der 31. Woche ein. Wie bei den früheren Versuchen, in denen der Stoff subkutan zugeführt wurde, machte es keine Schwierigkeiten, mit Hilfe der wöchentlichen Aufzeichnungen den Zeitpunkt zu bestimmen, von dem ab der Tumor in raschem und progressivem Wachstum war. Mäuse mit malignen Geschwülsten starben zwischen dem 129. und dem 299. Tage nach Beginn des Versuches.

35 (90 %) der 39 realen Versuchstiere haben Tumoren bekommen. Von diesen 35 festgestellten Geschwülsten wurden 23 als reine Spindelzellensarkome aufgefasst, 9 als Plattenepithelzellenkarzinome, 2 als Plattenepithelzellen-

karzinome + Spindelzellensarkome, und ein Spindelzellensarkom schliesslich war von Papillombildung in der darüberliegenden Haut begleitet.

Bei einer Maus, die am 154. Tage einging, fand man ein Papillom über einem voll entwickelten Spindelzellensarkom. Dies muss sicher als ein Zeichen dafür angesehen werden, dass die darüberliegende Haut in einer Zone gelegen hat, wo das Methylcholanthren in einer die Entwicklung von epithelialen Geschwülsten begünstigenden Konzentration vorhanden war. Bei den Plattenepithelzellenkarzinomen + Spindelzellensarkomen in unseren Versuchen, waren die beiden Tumorformen in zusammenhängenden Massen gelagert, und zwar in der Weise, dass ihre Elemente nur an den Berührungsstellen gemischt vorkamen (Tafel III, Fig. 5). Dies muss wohl seinen Grund darin haben, dass die epithelialen und sarkomatösen Geschwülste in einem gewissen weiteren Abstand voneinander entstanden sind. Am Boden der Ulzerationen kann das Methylcholanthrendepot völlig offen liegen, und man muss annehmen, dass das Epithel der Wundränder die Ausgangsstelle für die Karzinombildung ist. Diese Annahme wird durch mikroskopische Untersuchungen gestützt, die zeigen, dass die Haut in der Randpartie der Ulzerationen kontinuierlich in ein Plattenepithelzellenkarzinom übergehen kann.

Wenn man weiter in Betracht zieht, dass ein disloziertes Hautstückchen unter der Einwirkung des cancrogenen Kohlenwasserstoffs maligne degenerieren kann, so liegt eine ausreichende Erklärung dafür vor, dass die Plattenepithelzellenkarzinome von den Elementen der Haut ihren Ausgang nehmen können. Spontane, maligne Mammatumoren mit Verhornung hat man bei Mäusen nur äusserst selten angetroffen (HAALAND, 1911). Die Karzinome, die in

der Mammaregion mit Methylcholanthren hervorgerufen wurden, waren alle stark verhornt und von ganz demselben Typus wie beim Pinselungsversuch oder bei den übrigen Versuchen, bei welchen der Stoff subkutan eingeführt wurde. In keinem Falle sind alveoläre oder solide Mammakarzinome der Typen vorgekommen, die man bei Mäusen am häufigsten antrifft. Zu keinem Zeitpunkt wurden Zeichen von hyper- oder metaplastischen Prozessen in der Mamma oder ihren Ausführungsgängen gefunden, trotzdem das Kohlenwasserstoffdepot oder die hervorgerufenen Tumoren in enger Verbindung mit dem Drüsengewebe standen. Es liegen also kein experimenteller Anhaltspunkt dafür vor, dass die verhornten Plattenepithelzellenkarzinome von der Mamma oder ihren Ausführungsgängen ausgehen. Trotzdem ist es auffallend, dass bei den Weibchen unter 18 malignen Tumoren 8 ganz oder teilweise karzinomatöse Geschwülste vorkamen, während bei den Männchen unter 17 malignen Geschwülsten nur 3 Karzinome waren. Es ist jedenfalls sicher, dass das Mammagewebe der Bagg-Mäuse, wenn es der direkten Einwirkung des Methylcholanthrens ausgesetzt wird, nicht mit einer Tumorbildung desselben Typus wie die spontan vorkommenden Mammatumoren reagiert, und die Plattenepithelzellenkarzinome sind wahrscheinlich von der darüberliegenden Haut aus entstanden.

Zwei Geschwülste haben Anlass zu Metastasen gegeben. In einem Falle handelte es sich um ein reines Plattenepithelzellenkarzinom, das in der Muskulatur des Diaphragmas Metastasen gebildet hatte, im anderen Falle um ein Spindelzellensarkom, das an der Testiskapsel eine Metastase aufweisen konnte. Diese beiden Geschwülste haben in das Peritoneum hineingeragt, so dass ihre Lage eine peritonäale Ausbreitung ermöglichte. Wie man beim nächsten

Versuch sehen wird, können Spindelzellensarkome jedoch auch auf dem Lymphwege Metastasen bilden.

Die mittleren Zeiten für die Versuchskriterien sind in Tabelle 3 aufgeführt, wobei ganz oder teilweise karzinomatische Geschwülste nicht mitgerechnet wurden. Bei diesem Versuch muss daran erinnert werden, dass die Geschwulstbildung von Infektionsprozessen begleitet war, die zu Substanzverlusten im Methylcholanthrendepot führen können, so dass die Dosis unkontrollierbar wird. Man darf daher auch dem Umstande, dass die mittleren Zeiten hier etwas länger sind als in den vorausgegangenen Versuchen (vgl. Tabelle 2), keine wirkliche Bedeutung beimessen.

Tabelle 3.

Untersuchung, bei der das Methylcholanthren in der Mamma deponiert wurde.

Mittlere Zeit in Wochen vom Beginn des Versuchs bis	
zum Erscheinen der Tumoren	—
zur klinischen Malignität	22,2 (24)
zu haselnussgrossen Geschwülsten	25,9 (24)
zum Tode der sarkombefallenen Maus	28,0 (24)

Bevor wir den Bericht über die Untersuchung abschliessen, darf noch erwähnt werden, dass bei zwei Versuchsmäusen (1 ♂, 1 ♀) Lungenadenome vorgekommen sind. Die Tiere verendeten am 204. bzw. 252. Tage nach der Injektion des krebserzeugenden Stoffes, der bei beiden die Bildung eines Spindelzellensarkoms an der Behandlungsstelle verursacht hatte.

Von den experimentell hervorgerufenen, malignen Geschwülsten wurden 5 homotransplantiert. 4 Spindelzellensarkome gingen regelmässig und häufig an, während es

nicht gelang, ein Plattenepithelzellenkarzinom weiterzuführen. Die Transplantationstumoren hatten überall die gleiche histologische Beschaffenheit wie die Primärgeschwülste.

4) Versuch, durch intramuskuläre Deponierung von Methylcholanthren Tumoren hervorzurufen.

Um sicher zu gehen, dass das Depot des krebserzeugenden Stoffes intramuskulär zu liegen kommt, habe ich es — im Gegensatz zu früheren Versuchen — vorgezogen, den Stoff durch einen operativen Eingriff einzuführen. Da die Behandlungsstelle epiliert wurde, kann man sich kein zuverlässiges Urteil über einen eventuellen Haarverlust bilden. Die Geschwülste entstanden im Innern der Muskulatur, und sie liessen sich daher nur selten fühlen, bevor die wöchentlichen Aufzeichnungen ergaben, dass sie sich als Zeichen klinischer Malignität in schnellem und progressivem Wachstum befanden. Klinisch maligne Geschwülste entstanden zwischen der 12. und der 36. Woche, und Mäuse mit bösartigen Tumoren verendeten zwischen dem 131. und dem 280. Tage nach Beginn des Versuches.

Unter 33 realen Versuchstieren bekamen 31 (94 %) eine Geschwulst. Von den 31 konstatierten Geschwülsten waren 26 Spindelzellensarkome, 2 polymorphzellige Sarkome (Rhabdomyosarkome?), 1 Plattenepithelzellenkarzinom, 1 Papillom, und 1 Spindelzellensarkom endlich war von einer Papillombildung in der darüberliegenden Haut begleitet.

Das makroskopische Aussehen der entwickelten Geschwülste zeigte keinen Unterschied gegenüber den Tumoren, die an anderer Stelle hervorgerufen wurden. Bei zwei Mäusen, die am 177. bzw. 184. Tage eingingen, hatte das

histologische Bild einen etwas anderen Charakter als das der früher als polymorphzellige Sarkome beschriebenen Tumoren (Tafel III, Fig. 6). In einer reichlicheren Grundsubstanz fand man Zellen, deren Aussehen und Grösse schwankten, und zwar von ganz kleinen Spindelzellen bis zu grossen, scharf abgegrenzten, länglichen oder spindelförmigen, bisweilen mehr polygonalen Zellen. Im Protoplasma konnte man ziemlich grosse, klare Vakuolen finden; in der Regel war es aber feinkörnig und sehr intensiv gefärbt, mit einer Struktur, die an unregelmässige Querstreifung denken liess. Diese war jedoch nirgends so ausgesprochen, dass man die Elemente mit Sicherheit als unreife Muskelzellen bezeichnen konnte. Möglicherweise muss man damit rechnen, dass das quergestreifte Aussehen durch degenerative Veränderungen im Protoplasma zustande gekommen ist. In der Regel enthielten die Zellen nur einen Kern. Es gab nur wenig Mitosen, und polynukleäre Riesenzellen fanden sich nur spärlich. Bei dieser und den übrigen Untersuchungen wurden während des Eindringens der Sarkome in die quergestreifte Muskulatur verschiedenartige Degenerationsformen in der Muskulatur angetroffen; die verfallenen Muskelzellen haben aber nicht dasselbe Aussehen gehabt wie die soeben beschriebenen Zellen. Bei den beiden eigentümlichen Geschwülsten kann die angegriffene Muskulatur ausserdem weitab von den merkwürdigen Zellen gelegen haben.

Wenn wir voraussetzen, dass es sich hierbei wirklich um Rhabdomyosarkome handelte, dann sind solche Geschwülste in dem vorliegenden Material nur selten entstanden. Die Versuchskriterien bei beiden Mäusen entsprechen praktisch den Mittelwerten, die für die anderen, sarkombehafteten Tiere des Versuches berechnet wurden. Deshalb kann man sich aber doch gut denken, dass sich

Spindelzellensarkome und Rhabdomyosarkome nach einer weit verschiedenen Latenzzeit entwickeln, und dass die beiden muskulären Geschwülste im Laufe von relativ kurzer Zeit entstanden sind. Könnten die Versuche so vorgenommen werden, dass sich keine Spindelzellensarkome bilden, so erhielte man möglicherweise eine grössere Ausbeute an Rhabdomyosarkomen.

Aus der Untersuchung lassen sich indessen keine anderen Schlüsse ziehen, als dass man vielleicht Rhabdomyosarkome hervorrufen kann, wenn das Methylcholanthren intramuskulär deponiert wird. Ist dies der Fall, so brauchen solche Geschwülste wahrscheinlich längere Zeit zu ihrer Entwicklung als die gewöhnlichen Spindelzellensarkome.

In dieser Untersuchungsreihe hat ein Spindelzellensarkom eine Metastase gebildet. Es handelte sich um eine Geschwulst, die sich gut 7 Wochen lang in klinisch malignem Wachstum befunden hatte. Die Metastase lag retroperitonäal an der Vorderseite der Aorta, und aus der mikroskopischen Untersuchung ergab sich, dass eine Lymphdrüse Sitz des Prozesses war.

Die Spindelzellensarkome bildeten nur selten Metastasen. Bei meinen Untersuchungen habe ich ausser diesem einen Fall nur noch den gefunden, der gelegentlich des vorigen Versuches, bei dem das Methylcholanthren in der Mamma-region angebracht war, besprochen wurde. Als BURROWS, HIEGER & KENAWAY (1932) zeigten, dass man durch subkutane Injektion von 1:2:5:6-Dibenzanthracenlösung Tumoren hervorrufen kann, wurden bei Ratten sogleich Metastasen beobachtet, nicht dagegen bei 31 geschwulstbehafteten Mäusen. Bei anderen Versuchen mit subkutaner Anbringung von krebserzeugenden Kohlenwasserstoffen wurden ebenfalls Metastasen bei Ratten gefunden (MAISIN &

COOLEN, 1934 u. a.), während man niemals mit Sicherheit solche Prozesse bei Mäusen angetroffen hat. DEELMAN (1922) hat bei einer Maus, deren Geschwulst durch Pin selung der Haut mit Teer hervorgerufen war, ein Spindel zellensarkom gesehen, das in der Lunge eine Metastase gebildet hatte.

Die Mittelwerte für das Erscheinen der Sarkome sind in Tabelle 4 angegeben. Die Werte sind hier durchgehend etwas höher als bei den subkutanen Versuchen (siehe Tabelle 2), ohne dass man jedoch diesem Unterschied eine wirkliche Bedeutung beimessen dürfte.

Tabelle 4.

Untersuchung, bei der das Methylcholanthren intramuskulär deponiert wurde.

Mittlere Zeit in Wochen vom Beginn des Versuchs bis	
zum Erscheinen der Tumoren	—
zur klinischen Malignität	21,9 (29)
zu haselnussgrossen Geschwülsten	24,2 (29)
zum Tode der sarkombehafteten Maus	27,4 (29)

Bei dieser Untersuchung konnten keine Geschwülste abseits der Einspritzungsstelle nachgewiesen werden. Mit den Geschwülsten zweier moribunder Mäuse wurden Homotransplantationen vorgenommen. Ein Spindelzellensarkom liess sich ohne Schwierigkeiten übertragen. Ferner wurden von einem polymorphzelligen Sarkom (Rhabdomyosarkom?) Transplantationen vorgenommen. Leider entstand in allen Fällen ein Abszess an der Impfstelle. Dies darf jedoch nicht dahin ausgelegt werden, dass die infizierte Geschwulst nicht myogenen Ursprungs gewesen sei, da

andere infizierte Sarkome niemals das gleiche morphologische Aussehen gehabt haben.

5) Versuch, durch intraperitonäale Deponierung von Methylcholanthren Tumoren hervorzurufen.

Alle Versuchsmäuse, denen intraperitonäal 10 mg mit Glycerin angefeuchtetes Methylcholanthren deponiert wurde, bekamen zwischen der 6. und der 12. Woche nach Beginn des Versuches ein aufgetriebenes Abdomen. Bei der Palpation hatte man den Eindruck, dass sich im Peritoneum Flüssigkeit angesammelt hatte. Diese Annahme wurde durch die Sektion der Tiere, die zufällig in diesem Abschnitt der Untersuchungsperiode eingingen, verifiziert. Im Peritoneum fand man eine gelbliche oder, wenn eine Blutung stattgefunden hatte, mehr rötliche Flüssigkeit, die gelbe, grösstenteils von Resten des Methylcholanthrens herführende Flocken und Brocken enthielt. Bei der mikroskopischen Untersuchung der Ascitesflüssigkeit wurden nur einzelne, mehr oder weniger degenerierte Leukozyten und abgestossene Zellen aus der Peritonäalhöhle gefunden. In jenen Fällen, in denen eine Blutung stattgefunden hatte, wurde das Bild von den zelligen Elementen des Blutes beherrscht.

Die Flüssigkeitsansammlung war nach einer durchschnittlichen Zeit von 7 bis 8 Wochen zu fühlen und, wenn sie ein paar Monate bestanden hatte, konnte eine Resorption erfolgen, weshalb das Symptom bei den Mäusen, die am Schlusse des Versuches seziiert wurden, unkonstant war, ob die Tiere nun tumorbehaftet waren oder nicht. Dies steht nicht direkt im Gegensatz zu NAKAHARAS & FUJIWARAS (1937 b) Beobachtungen, die immer von Ascites berichten; man muss hierbei berücksichtigen, dass diese Forscher einmal wöchentlich während des ganzen Versuches eine Lösung

des cancrogenen Kohlenwasserstoffs injiziert haben. Meine Untersuchungen zeigen also, dass die Ascites, der nach einer einmaligen intraperitonäalen Zufuhr von kristallinischem Methylcholanthren entsteht, wieder verschwinden kann. Wo dies der Fall ist, wurden auch keine sichtbaren Reste des Kohlenwasserstoffs gefunden.

Bei dieser und den folgenden Untersuchungen, bei welchen die Geschwülste in inneren Organen hervorgerufen wurden, konnte man an lebendigen Tieren nur eine unsichere Beurteilung der Tumoren vornehmen, weshalb man praktisch auf Beobachtungen an toten Mäusen angewiesen war. Reelle Versuchstiere wurden daher die erste geschwulst-behaftete Maus, die sezirt wurde, sowie alle Versuchsmäuse, die zu diesem Zeitpunkt noch am Leben waren.

Geschwülste im Abdomen wurden zuerst bei einem Tier gefunden, das am 93. Untersuchungstage einging, und zuletzt bei der letzten Versuchsmaus, die zusammen mit den Kontrolltieren am 280. Tage getötet wurde.

Die Untersuchungen umfassten 24 reelle Versuchstiere, von denen 19 (79 %) Geschwülste bekommen haben. Bei diesen 19 Mäusen wurden im ganzen 32 Geschwülste gefunden, und von diesen waren 7 in der vorderen Bauchwand lokalisiert, 7 im kleinen Becken, 5 im Diaphragma, 6 waren mit dem Ventrikel unlöslich verbunden, 4 mit den Dünndärmen oder deren Gekröse, und 3 endlich lagen an den Nieren.

Bei intraperitonäaler Zufuhr des cancrogenen Kohlenwasserstoffs ist zu bedenken, dass der Stoff hier auf einer sehr grossen Oberfläche seine Wirkung entfaltet. Die multiplen Tumoren können daher sehr wohl als primäre Bildungen nach einer direkten Einwirkung des Methylcholanthrens entstehen. Diese Erklärung ist sicher die wahr-

scheinlichste, da nur selten nachgewiesen wurde, dass Spindelzellensarkome Metastasen bilden können. Bei den Versuchen, bei denen der Stoff in der Mamma oder in der Oberschenkelmuskulatur deponiert wurde, haben die hervorgerufenen Geschwülste meist in die Peritonäalhöhle hineingeragt, so dass also die Möglichkeit einer intraperitonäalen Ausbreitung bestand. Trotzdem wurde bei diesen Versuchen nur eine Metastase gefunden, die möglicherweise auf diese Art entstanden ist. Man darf daher davon absehen, dass einzelne Geschwülste hier Metastasen sein könnten, und kann damit rechnen, dass sie primär durch eine direkte Einwirkung des Methylcholanthrens entstanden sind.

Bei der mikroskopischen Untersuchung haben die Geschwülste sich alle als Spindelzellensarkome von demselben Aussehen, wie früher beschrieben, erwiesen; Tumoren, die man als Endotheliome bezeichnen könnte, wurden nicht gefunden. Die Geschwülste wuchsen invasiv in die angrenzende Muskulatur und das Fettgewebe hinein sowie in Organe wie Leber, Milz, Nieren und Pankreas. Bei Hohlorganen wie dem Ventrikel und dem Darm können die Tumoren die Muscularis mucosa durchbrechen; ich habe aber kein infiltratives Wachstum in der Schleimhaut gefunden.

NAKAHARA & FUJIWARA (1937 a) haben bei einer Untersuchung mit 3:4-Benzpyren in einem Falle Metastasen in der Lunge gesehen. Bei ihren Versuchen mit Methylcholanthren (1937 b) wurden solche sekundären Tumoren ebensowenig angetroffen wie bei meinem eigenen Versuch.

Sämtliche geschwulstbehafteten Tiere verendeten durchschnittlich 25,8 Wochen nach Beginn des Versuches.

FIESER (1938) hat aus Nakaharas und Fujiwaras Ver-

such berechnet, dass die Erzeugung intraperitonäaler Geschwülste mit 3:4-Benzopyren 1,2 und mit Methylcholanthren 1,1 mal so lange dauert wie die Erzeugung subkutaner Tumoren. Die mittlere Induktionszeit für subkutane Geschwülste mit Methylcholanthren wurde nach sämtlichen veröffentlichten und einigen unveröffentlichten Versuchen berechnet. Das Material besteht dann aus 185 Mäusen, die unter nicht allzusehr voneinander abweichenden Versuchsbedingungen ziemlich gleichartig reagiert haben. Der unbedeutende Zahlenunterschied hat jedoch kaum reelle Bedeutung. Etwas anderes ist es, dass man meiner Ansicht nach die beiden Versuchsserien nicht vergleichen kann. Die mittlere Induktionszeit wurde für die subkutanen Geschwülste nach dem Zeitpunkt berechnet, zu dem man die Tumoren zum erstenmal fühlte. Die mittlere Induktionszeit für die Peritonäalgeschwülste entspricht in Fiesers Berechnung dem mittleren Todestage. Ein Vergleich mit der mittleren Induktionszeit für das Erscheinen der subkutanen Geschwülste ist daher irreführend.

Mäuse mit intraperitonäalen Geschwülsten gehen in der Regel zu einem Zeitpunkt ein, da die Tumoren im Abdomen eine Gesamtgrösse haben, die dem Rauminhalt einer Haselnuss entspricht. Bei subkutaner Deponierung von Methylcholanthren braucht man 21,9 Wochen, um haselnussgrosse Geschwülste hervorzurufen (siehe Tabelle 2), während die entsprechende Zahl bei diesem Versuch 25,8 Wochen ist. Nach bestem Ermessen muss man daher vermuten, dass kein wirklicher Unterschied in der Geschwindigkeit besteht, mit der die Sarkome sich in den beiden Regionen entwickeln. Man muss jedoch vorsichtig sein und darf nicht zu weitgehende Schlüsse ziehen, weil das Methylcholanthren bei dem einen Versuch als ein zusammen-

hängendes Depot im Gewebe liegt, während der Stoff bei dem anderen Versuch über die ganze Peritonäalhöhle verteilt ist. Im Hinblick auf Fiesers Berechnung muss bemerkt werden, dass subkutane Geschwülste im günstigsten Falle nach einer mittleren Zeit von 12,2 Wochen zu fühlen sind, wodurch ein entsprechender Vergleich zu einem ganz anderen Ergebnis führen würde.

An 4 Mäusen, 2 Männchen und 2 Weibchen, wurden bei Sektionen zwischen dem 132. und dem 280. Versuchstage Adenome in den Lungen konstatiert. Das eine dieser Tiere hatte sonst keine Geschwulst.

Von 2 moribunden Mäusen habe ich Ascitesflüssigkeit subkutan auf Tiere gleichen Stammes und Geschlechts übertragen, ohne dass nach einer Beobachtungszeit von 3 Monaten an der Injektionsstelle Tumoren entstanden wären. Die eine Maus hatte in der Bauchhöhle Geschwülste, die andere keine. Mengen von 6,4, bzw. 7,6 ccm wurden auf 20, bzw. 15 Mäuse verteilt. Die experimentelle Untersuchung deutet also nicht darauf hin, dass in der Ascitesflüssigkeit lebensfähige Tumorzellen vorhanden sind, was auch durch mikroskopische Untersuchungen nicht zu entdecken war. Dies muss die Vermutung stützen, dass die multiplen Abdominalgeschwülste als primäre Bildungen entstehen.

Voll entwickelte Spindelzellensarkome konnten ohne Schwierigkeit auf Mäuse gleichen Stammes übertragen werden. Die Transplantationsgeschwülste hatten dasselbe histologische Aussehen wie die primären Tumoren. Die Transplantationsverhältnisse bei Sarkomen, die durch intraperitonäale Zufuhr von Methylcholanthren hervorgerufen wurden, wichen also nicht von den übrigen Erfahrungen ab.

6) Versuche, Tumoren hervorzurufen, wenn das Methylcholanthren in der Niere deponiert wird.

Die Untersuchung umfasst zwei Versuchsserien, bei denen die Operationen auf verschiedene Weisen ausgeführt wurden. Es besteht kein Grund, die beiden Versuchsserien jede für sich zu behandeln, und im ganzen ist also 100 Mäusen Methylcholanthren in der einen Niere deponiert worden.

Infolge grosser Sterblichkeit umfasst die Untersuchung nur 13 reelle Versuchstiere. Die erste Geschwulst wurde durch eine Sektion am 105. Tage konstatiert, zu welchem Zeitpunkt 12 Tiere am Leben waren. Die letzte geschwulst-behaftete Maus verendete am 173. Tage nach Beginn des Versuches. An lebenden Tieren haben die Geschwülste nicht sicher palpiert werden können, bevor sie grössere Dimensionen erreichten. Wie beim vorigen Versuch war man daher im wesentlichen auf Sektionsbefunde angewiesen.

Von 13 realen Versuchstieren bekamen 12 an der Einspritzungsstelle maligne Geschwülste. Von den konstatierten Geschwülsten wurden 11 als Spindelzellensarkome und 1 als polymorphzelliges Sarkom aufgefasst. Die Sarkome wichen nicht von den Typen ab, die nach subkutaner Deponierung des Stoffes beschrieben wurden. Sie wuchsen invasiv und infiltrativ in die Umgebung und ins Nierenparenchym hinein, und es wurde auch beobachtet, dass eine Geschwulst in die Milz eingedrungen ist, vermutlich durch das Ligamentum phrenicolicenale. Obwohl die Tumoren dicht an der Bauchhöhle lagen, wurden bei keinem Tiere an anderen Stellen der Bauchhöhle Geschwülste angetroffen. Dies zeigt wieder, dass man nur in seltenen Fällen mit einer intraperitonäalen Ausbreitung

rechnen kann, und es hat überhaupt keine der Geschwülste Metastasen gebildet.

In einem einzelnen Falle hat ein Sarkom Wallnussgrösse erreicht; sonst haben aber bereits haselnussgrosse Geschwülste den Tod der Tiere herbeigeführt. Die geschwulstbehafteten Tiere sind durchschnittlich nach 20,2 Wochen eingegangen. Bei subkutaner Deponierung des Methylcholanthrens entstanden haselnussgrosse Geschwülste nach einer mittleren Zeit von 21,9 Wochen (Tabelle 2). Da diese beiden Zahlen nicht wesentlich voneinander abweichen, darf man wohl damit rechnen, dass sich die Sarkome gleich schnell entwickeln, ob nun die Verbindung subkutan oder in einem stark vaskularisierten Organ wie der Niere deponiert wird.

In keinem Falle wurden Tumoren einer morphologischen Struktur gefunden, die darauf hindeuten könnte, dass sie aus Zellen des Nierenbeckens oder der Niere entstanden sind. Das Ergebnis der Untersuchung stimmt also nicht mit den Beobachtungen ILFELDS (1936) überein, wo ausschliesslich Epidermoidkarzinome entstanden waren. Bei seinen Untersuchungen wurden an Mäusen der Stämme A und C₃H Tumoren hervorgerufen, während 7 Mäuse des Stammes M nicht mit Geschwulstbildung reagiert haben. Möglicherweise lässt sich die mangelnde Uebereinstimmung durch eine bei diesen Mäuserassen und bei den Baggmäusen verschiedene Reaktion erklären.

Bei einem Mäuseweibchen, das am 137. Versuchstage ohne Geschwulst an der Einspritzungsstelle einging, wurde ein Lymphoblastom gefunden, das vermutlich vom Thymus ausgegangen ist. Mikroskopisch hatte es das gleiche Aussehen und die gleiche Lage wie das Lymphoblastom, das beim Pinselungsversuch entstanden war. Bei der mikro-

skopischen Untersuchung erwies sich der Tumor als etwas nekrotisch. Er war auffallend reich an Zellen, die als grosse Lymphozyten aufgefasst werden mussten, und auch Mitosen waren häufig zu sehen; im übrigen hatte er den gleichen Charakter wie die früher beschriebene Geschwulst.

2 Spindelzellensarkome, die transplantiert wurden, wuchsen wie gewöhnlich weiter als reine Spindelzellengeschwülste, während das polymorphzellige Sarkom bei 3 positiven Impfungen mit reinen Spindelzellen und bei 2 positiven Impfungen mit unveränderter histologischer Struktur weiterwuchs.

7) Versuch, Tumoren hervorzurufen, wenn das Methylcholanthren in der Leber deponiert wird.

Diese Untersuchung umfasst die üblichen 50 Versuchstiere. Der operative Eingriff verursachte eine ziemlich grosse Sterblichkeit. So waren 3 Wochen nach Vornahme der Operation nur noch 12 Versuchsmäuse am Leben, und die Untersuchung umfasst 7 reelle Versuchstiere. Von diesen bekamen 6 in unmittelbarer Nähe der Operationsstelle Geschwülste. Tiere mit Tumoren an der Injektionsstelle verendeten zwischen dem 105. und dem 189. Tage nach Beginn des Versuches. Geschwulstbehaftete Tiere gingen durchschnittlich im Laufe von 20,0 Wochen ein, was den Angaben bei den beiden vorigen Versuchen entspricht. Aus dieser Untersuchung darf man jedoch keine zu weitgehenden Schlüsse ziehen, weil die Geschwülste bei den Sektionen von weit verschiedener Grösse waren. Bei der mikroskopischen Untersuchung erwiesen sich die Tumoren als Spindelzellensarkome des gewöhnlichen Typus.

Beim Einstich mit der groben Lumbalkanüle in das

Lebergewebe wird hin und wieder eine sehr kräftige Blutung verursacht, die zur Folge haben kann, dass Methylcholanthrenkristalle frei in die Bauchhöhle hineingeraten. Bei den reellen Versuchstieren ist es kaum zu einer Verbreitung des krebserzeugenden Kohlenwasserstoffs gekommen; ich habe den Eindruck, dass Mäuse mit Blutungen kurz nach der Operation verenden. Wenn grössere Mengen Methylcholanthrens ins Peritoneum gelangt sind, so hätte man im Laufe von etwa zwei Monaten Zeichen eines Ascites erwarten sollen; etwas derartiges hat sich aber bei keinem Versuchstiere ergeben, weder bei der Palpation noch bei der Sektion. Ferner wurden nur bei einer Versuchsmaus Tumoren in der Bauchhöhle, abseits der Einspritzungsstelle, gefunden. Es handelt sich um eine Maus, die ausser dem Sarkom an der Deponierungsstelle noch ein Spindelzellensarkom in der einen Nierenregion hatte. Es lässt sich darüber streiten, ob diese Geschwulst als ein primärer Tumor oder als eine Metastase aufzufassen ist. Im grossen und ganzen deuten die Beobachtungen nicht darauf hin, dass bei den reellen Versuchstieren grössere Mengen Methylcholanthrens frei im Peritoneum vorgekommen sind. Bei der Sektion von Tieren, die frühzeitig während des Versuches eingingen, wurde das gelbe Kristalldepot daher auch in der Leber wiedergefunden, und nur wo gleichzeitig Spuren einer Blutung vorhanden waren, sah man den Stoff frei in der Bauchhöhle.

Nach der Operation adhäriert die Leber der vorderen Bauchwand, die auf diese Weise unmittelbar an den krebserzeugenden Kohlenwasserstoff angrenzen kann. Dies hindert die Untersuchung insoweit nicht, als das Lebergewebe für die Einwirkung des Methylcholanthrens immer leichter zugänglich ist als die Bauchwand.

Die voll entwickelten Spindelzellensarkome, die an der Einspritzungsstelle entstanden, sind in jedem Falle sowohl in die Leber wie in die Bauchwand eingedrungen. 4 dieser Geschwülste waren gut haselnussgross und sind in unmittelbarer Nähe des Methylcholanthrens entstanden. Diese Tumoren haben im wesentlichen in der Leber gelegen, wenn sie auch auf die vordere Bauchwand übergreifen haben. Die grösseren Geschwülste, die bei dieser Untersuchung ungefähr die Grösse einer Pflaume erreichen konnten, haben im wesentlichen in der Bauchwand gelegen, wenn auch die Leber in allen Fällen einer bedeutenderen Zerstörung durch die Tumoren ausgesetzt war. Möglicherweise ist dies ein Ausdruck dafür, dass sie in dem Teil der Bauchwand entstanden sind, der an das Methylcholanthren angrenzt hat, möglicherweise ein Ausdruck dafür, dass die Tumoren im Lebergewebe keine so guten Wachstumsbedingungen wie in der Bauchwand finden.

Der Versuch zeigt also, dass die Geschwülste am Kohlenwasserstoffdepot entstehen. Wenn der Stoff so eingeführt wird, dass das Lebergewebe der Einwirkung am meisten ausgesetzt ist, werden ausschliesslich Spindelzellensarkome hervorgerufen.

Bei der Invasion der Spindelzellensarkome in die Leber können während der Destruktion eigenartige Zellen und Zellkomplexe entstehen; es wurden aber niemals Zeichen von primären Leberzellenkarzinomen gefunden.

Die Untersuchung stimmt also auch hierin nicht mit ILFELDS Beobachtungen (1936) mit 1:2:5:6-Dibenzanthracen überein, und die Abweichungen lassen sich nur aufgrund ähnlicher Ueberlegungen erklären wie bei den Nierenversuchen. An Bagg-Mäusen werden jedenfalls die Spindelzellensarkome mit Methylcholanthren so schnell

hervorgerufen, dass nicht zu entscheiden ist, ob sich primäre Leberzellenkarzinome bilden können.

Bei einem Mäuseweibchen, das am 121. Tage nach Beginn des Versuches verendete, fand sich ausser der Geschwulst an der Einspritzungsstelle ein Lymphoblastom mit gleicher Lage, gleichem Aussehen und Charakter wie das beim Pinselungsversuch beschriebene, während Lungenadenome bei keinem Tiere gefunden wurden.

Es wurde keine Versuchsaus in moribundem Zustand angetroffen, und mit Rücksicht auf die Versuchsanordnung wurden daher keine Transplantationsversuche vorgenommen.

8) Versuch, Tumoren hervorzurufen, wenn das Methylcholanthren in der Lunge deponiert wird.

Die folgende Untersuchung wurde an einem Tiermaterial der üblichen Grösse vorgenommen, und der Versuch wurde im Laufe von 259 Tagen abgeschlossen.

Es muss zunächst bemerkt werden, dass die Anbringungsweise des krebserzeugenden Stoffes sich bei dieser Untersuchung nicht als zweckmässig erwiesen hat. In den früheren Versuchen hat man das Depot der Methylcholanthrenkristalle bei Tieren, die ohne Geschwulst im Laufe der ersten 2—3 Versuchsmonate eingingen, immer wiederfinden können, und oft waren Reste des Stoffes in den hervorgerufenen Tumoren zu sehen. Dies war nicht der Fall, wenn das Methylcholanthren in entsprechender Weise in der Lunge deponiert wurde. Bei Mäusen, die nach dem 6. Versuchstage zur Sektion gelangten, wurden überhaupt keine sichtbaren Reste der gelben Verbindung in den Lungen gefunden, und auch die mikroskopische Untersuchung hat keine Spur der Kristalle zutage bringen können. Der

Stoff muss daher von der Einspritzungsstelle entfernt worden sein. Man wird kaum annehmen können, dass dieser Transport ausschliesslich auf dem Blut- oder Lymphwege vor sich gegangen ist, weil dann bei den früheren Untersuchungen etwas Aehnliches hätte stattfinden müssen. Man muss daher annehmen, dass die feinen Kristalle hauptsächlich durch die Alveolen entfernt worden sind, von wo sie durch die Bronchien aus dem Organismus ausgeschieden werden können. Wenn die Lumbalkanüle durch die Interkostalmuskulatur geführt wird, kann von der schräggeschliffenen Spitze der Kanüle etwas Methylcholanthren abgewischt werden. Diese sichtbaren Kristallteilchen lassen sich selten vollständig entfernen, da die Einstichstelle in der Thoraxwand selbst eine sehr unebene und ausgefranzte Oberfläche hat und weil man auch Muskeln durchschneiden musste, um die Brustwand selbst freizulegen. Diese Fehlerquelle gab dem Versuch ganz unerwartet sein Gepräge: verschiedene Geschwülste entstanden im Gewebe ausserhalb der Brustwand um die Stelle selbst herum, wo der Einstich vorgenommen worden war.

Frühere Untersuchungen haben diesen Mangel der Technik nicht merkbar werden lassen. Wurde die Verbindung subkutan oder in der Mammaregion angebracht, dann entstanden die Tumoren dicht am Depot, während man längs des ca. 2 cm langen Stichkanals keine Geschwülste hat sehen können. Wenn der Stoff in die Oberschenkelmuskulatur eingeführt wurde, konnte man leicht während der kleinen Operation überflüssige Kristalle von der glatten Faszie entfernen, und es hat niemals die geringste Vermutung bestanden, dass die malignen Geschwülste über der Faszie entstehen. Wurde das Methylcholanthren intraperitonäal angebracht, so hat ebenfalls kein Verdacht

bestanden, dass die in der vorderen Bauchwand entstandenen Geschwülste von der Subcutis ausgegangen sein sollten. Bei den Untersuchungen an Niere und Leber haben die Versuche gleichfalls gezeigt, dass die Tumoren in unmittelbarem Anschluss an das Depot entstehen. Man kann sich daher kaum denken, dass meine früheren Untersuchungen von dieser Fehlerquelle beeinflusst sein sollten.

Wenn sich bei den Tieren, die zu Beginn des Versuches zur Sektion gelangen, kein zusammenhängendes Depot von Methylcholanthrenkristallen nachweisen lässt, so muss die Annahme erlaubt sein, dass der Stoff in die Lunge selbst eingeführt worden ist. Man kann ferner sicher sein, dass die an der Einstichstelle entstehenden Tumoren durch ganz minimale Mengen Methylcholanthrens hervorgerufen wurden, weil weitaus der grösste Teil der 10 mg erst aus der Kanüle ausgestossen wird, wenn die Spitze im Lungengewebe liegt. Bei einzelnen Mäusen lag der Stoff bei der Sektion in der Pleura, wo er eine Flüssigkeitsansammlung von gleichem Charakter hervorrufen kann, wie wir sie von jenem Versuch her kennen, bei dem der Kohlenwasserstoff ins Peritonaeum eingeführt wurde. Aufgrund solcher Befunde und der Lokalisation der entstandenen Geschwülste lässt sich vermuten, dass der grösste Teil des Methylcholanthrens bei 39 Mäusen in die Lunge und bei 3 Tieren in die Pleura eingeführt worden ist. Bei 8 Mäusen wurde die Kanüle zu tief eingeführt, sodass sie durch die *Apertura thoracis superior* ging, wodurch das Kristalld Depot in der *Regio supraclavicularis* zu liegen kam.

Dieser Versuch kann daher nur spärliche Aufschlüsse über das Auftreten von Tumoren in der Lunge geben, wenn das Gewebe einer direkten Einwirkung des Stoffes ausgesetzt wird. Der Versuch umfasst 29 reelle Versuchstiere. Bei 3 entstand ein Spindelzellensarkom in der behandelten

Lunge. Diese Geschwülste wurden bei den Sektionen der Tiere am 103., 105. und 128. Tage nach Beginn des Versuches gefunden. Ferner wurde am 155. bzw. 225. Tage bei 2 anderen Tieren ein Spindelzellensarkom in der Pleura parietalis gefunden. Diese Geschwülste in Lunge und Pleura waren nicht von einer Flüssigkeitsansammlung in der Lungenhöhle begleitet. Es lässt sich nicht feststellen, ob die Tumoren in der Lunge nach einer intrapulmonalen Anbringung von Methylcholanthren entstanden sind. Soweit man sich ein Urteil darüber erlauben kann, ist der Stoff nur selten in der Pleura angebracht worden; die Möglichkeit lässt sich aber nicht abweisen, dass die Lungengeschwülste in ähnlicher Weise wie die Spindelzellensarkome in der Pleura entstanden sein könnten. Diese entstehen sicher auf ähnliche Weise wie die Sarkome im Abdomen, wo die Injektion auch in eine serosabekleidete Leibeshöhle erfolgt. Ebensowenig wie bei meiner früheren Untersuchung (1940 a) ist es hier gelungen, mit Methylcholanthren in der Lunge Karzinome hervorzurufen. Die 4 Lungensarkome, die ich im ganzen hervorgerufen habe, stehen im Widerspruch zu ANDERVONTS Versuch (1937), bei dem 2 Adenokarzinome und 5 Plattenepithelzellenkarzinome hervorgerufen wurden. Andererseits sind alle diese Geschwülste wohl kaum reine Karzinome gewesen, da eine der Geschwülste nach einer Transplantation durch 4 Generationen als reines Sarkom gewachsen ist.

Bei 2 Tieren, einem Männchen und einem Weibchen, wurden in den behandelten Lungen multiple Adenome gefunden. Die Geschwülste wurden am 122. bzw. 176. Versuchstage konstatiert, viel früher als bei den Kontrolltieren.

Das frühzeitige Auftreten von Lungenadenomen muss von einer Wirkung des Methylcholanthrens herrühren.

ANDERVONT (1937) hat nicht angegeben, dass die adenomatösen Bildungen um den imprägnierten Seidenfaden herum entstanden sind, und bei meinem früheren Versuch entstanden multiple Adenome in der behandelten Lunge. Die multiplen Lungenadenome dieser Untersuchung sind vielleicht ganz zufällig auch in der Lunge, die Gegenstand der Behandlung gewesen ist, entstanden. Keine der Beobachtungen lässt darauf schliessen, dass eine mehr begrenzte Reizung des Lungengewebes mit einem krebserzeugenden Kohlenwasserstoff das Auftreten adenomatöser Bildungen begünstigt. Der Mechanismus ihres frühzeitigen Erscheinens kann daher ebensogut auf Verhältnissen beruhen, die in einer späteren Untersuchung näher besprochen werden sollen.

Bei einem der reellen Versuchsmäuseweibchen, das am 110. Versuchstage einging, wurde in der obersten Mediastinalregion ein Lymphoblastom desselben Typus gefunden wie jenes, das wir anlässlich des Versuches beschrieben haben, bei dem die Rückenhaut mit in Benzol aufgelöstem Methylcholanthren gepinselt wurde. Ein weiterer, ähnlicher Fall wurde bei einem Mäuseweibchen angetroffen, das schon am 56. Tage eingegangen ist. Unserer Definition gemäss wurde das Tier bei dieser Untersuchung nicht als reelles Versuchstier betrachtet. Bei sämtlichen Versuchen hat man frühestens von der 7. Woche an eine Geschwulst am Methylcholanthrendepot selbst fühlen können. Bereits jetzt konnte man annehmen, dass die Lymphoblastome durch eine Wirkung des Methylcholanthrens entstehen, und es wirkt daher überraschend, dass sie nach einer so kurzen Versuchsperiode auftreten können. Lage und makroskopisches Aussehen weichen nicht von den früher beschriebenen ab. Bei der mikroskopischen Untersuchung wurden

keine anderen Eigenarten entdeckt, als dass es aus grossen und insbesondere kleinen Lymphozyten bestand, während die früher beschriebenen Lymphoblastome hauptsächlich aus grossen Lymphozyten bestanden haben.

Man kann kaum annehmen, dass diese merkwürdigen Bildungen um ein Kristalldotter herum entstanden sind. Bei Einführung des Methylcholanthrens ist die Kanüle nicht so gerichtet gewesen, dass der obere Teil des Mediastinums hätte getroffen werden können. Sektionen dieser Tiere haben auch keine Befunde ergeben, die darauf hindeuten, dass der Stoff hier oder in der Pleura gelagert gewesen sei. Man muss diese Lymphoblastome daher als Geschwülste betrachten, die, ähnlich wie bei den früher beschriebenen Fällen, abseits der Injektionsstelle selbst entstanden sind.

D. Diskussion der Versuche, bei denen Methylcholanthren an Mäusen in direkten Kontakt mit verschiedenem Gewebe oder verschiedenen Organen gebracht wurde.

In Versuchen, bei denen man auf eine möglichst gleichartige Weise an Mäusen des Bagg'schen Albinostammes Methylcholanthren in direkten Kontakt mit verschiedenem Gewebe oder verschiedenen Organen brachte, wurden maligne Geschwülste hervorgerufen, die sich ausschliesslich als Plattenepithelzellenkarzinome oder Sarkome des Spindelzellentypus erwiesen. Die Untersuchungen haben sich über Haut, subkutanes Gewebe, quergestreifte Muskulatur und Organe wie Niere, Leber und Peritoneum erstreckt. Es gelang nicht, maligne Geschwülste anderer Art hervorzurufen. Aehnliche Versuche mit cancerogenen Kohlenwasserstoffen an anderen Mäusestämmen eröffnen jedoch

die Möglichkeit, dass die Stoffe für das Auftreten anderer Geschwulstformen von Bedeutung sein könnten, wenn Niere, Leber oder Lunge als Versuchsobjekte benutzt werden. Dies lässt sich damit erklären, dass die verschiedenen Gewebe und Organe bei verschiedenen Mäuserassen nicht dieselbe relative Empfindlichkeit gegen Reizung mit krebserzeugenden Kohlenwasserstoffen haben. Diese Vermutung wird durch den Versuch von BRANCH (1936) gestützt, durch den nachgewiesen wird, dass sich subkutane Tumoren mit 1:2:5:6-Dibenzanthracen gleich leicht bei zwei in Inzucht gehaltenen Mäusestämmen hervorrufen lassen, die nicht die gleiche Empfindlichkeit zeigen, wenn Lösungen des Stoffes auf die Haut gepinselt werden. Die Versuche wurden meist mit anderen krebserzeugenden Kohlenwasserstoffen als Methylcholanthren vorgenommen. Es besteht daher auch die Möglichkeit, dass die abweichenden Ergebnisse darauf zurückzuführen sind, dass verschiedene carcinogene chemische Verbindungen Geschwülste an verschiedenem Gewebe nach verschiedener Zeit hervorrufen.

In der Literatur wurden einzelne Versuche beschrieben, krebserzeugende Stoffe mit anderen Geweben und Organen in Kontakt zu bringen. Es hat sicher an technischen Schwierigkeiten gelegen, dass die Untersuchungen nur wenige positive Resultate ergeben haben.

DOBROVOLSKAĬA-ZAVADSKAĬA & SIMSILEVICH (1935) haben an 21 Mäusen zweier verschiedener in Inzucht gehaltener Stämme in den Genitalorganen keine Tumoren hervorrufen können. Den Tieren wurde jeden 3. bis 4. Tag eine 0,1 %ige Lösung von 1:2:5:6-Dibenzanthracen zugeführt. Mit Hilfe einer ähnlichen Technik gelang es, bei 1 von 4 Mäusen eines anderen Stammes mit Teer ein Myxosarkom in der Vagina hervorzurufen.

Bei ILFELDS Untersuchungen (1936) wurden an Mäusen in Inzucht gehaltener und gemischter Stämme in verschiedenen Organen »cholesterol pellets« mit krebserzeugenden Kohlenwasserstoffen operativ angebracht. Es ist nicht gelungen, mit 1:2:5:6-Dibenzanthracen Tumoren hervorzurufen, weder an 50 Mäusen in der Milz, noch an 21 Mäusen in den Testes, noch an 2 Mäusen im Gehirn. Die Beobachtungszeit war 8 bis 11 Monate. Bei einer Maus, der Methylcholanthren in die Milz eingeführt wurde, entstand im Laufe von $4\frac{1}{2}$ Monaten ein Fibrosarkom, das mit der Milz eng verbunden war und in den Pankreas eindrang. Von 21 Mäusen, denen 1:2:5:6-Dibenzanthracen in dem einen Uterushorn deponiert worden war, wurde bei einer Maus im Laufe von 9 Monaten ein Epidermoidkarzinom konstatiert.

BARNES & FURTH (1937) und FURTH & FURTH (1938) haben unter 95 Mäusen, denen 0,05 ccm einer 4 %igen Lösung von 3:4-Benzpyren in Fett injiziert worden war, 2 Sarkome in der Milz beschrieben. Bei 9 % der Tiere sind ausserdem leukämieähnliche Zustände aufgetreten.

Bei Injektion von 1 mg in Oel gelösten Methylcholanthrens in die Testes von Mäusen haben NICOD & REGAMEY (1938) bei 1 von 30 behandelten Tieren an der Injektionsstelle ein Sarkom entstehen sehen. Die Geschwulst wurde 116 Tage nach Beginn des Versuches konstatiert. ESMARCH (1940 a) hat im Laufe von 22 Wochen bei 1 von 5 Baggmäusen, denen mit einer geringen Fettmenge 8 mg Methylcholanthren in die Testes injiziert worden war, einen Tumor in der Testes gefunden. Das Tier verendete am 219. Versuchstage mit Metastasen, und die Geschwulst erwies sich als ein transplantierbares, verhorntes Plattenepithelzellenkarzinom.

Bei einer Untersuchung, die 81 Mäuse umfasste, denen

1:2:5:6-Dibenzanthracen ins Gehirn injiziert worden war, hat PEARS (1939) keine Geschwulstbildung in diesem Organ hervorrufen können. Von 20 C₃H-Mäusen haben SELIGMAN & SHEAR (1939) nach intrazerebraler Deponierung von Methylcholanthren bei 11 Tieren Gliome hervorgerufen. Bei 2 entstanden Fibrosarkome, die vermutlich von der Dura ausgegangen sind. Die Tumoren entstanden 8—17 Monate nach Beginn der Untersuchung.

Bei Injektion von 3:4-Benzpyren in die Parotis von 55 Mäusen haben BENECHÉ & SCHRÖDER (1939) 3 Spindelzellensarkome und 1 Plattenepithelzellenkarzinom konstatiert.

Durch Anbringung von Cholesterolstäbchen mit 10%igem 3:4-Benzpyren im Knochenmark von 12 Mäusen ist es BRUNSCHWIG und BISSEL (1938) gelungen, bei einer Maus in der Tibia ein Osteosarkom hervorzurufen. Die Geschwulst wurde nach einer Versuchszeit von 8½ Monaten konstatiert.

Bei meinen Untersuchungen traten abseits der Einspritzungsstelle bei auffallend jungen Tieren Lungenadenome auf, und bei 1% der 500 Versuchstiere wurden Lymphoblastome konstatiert, die vermutlich auf eine Wirkung des Methylcholanthrens zurückzuführen sind. Um den Beweis zu erbringen, dass diese letzte Geschwulstform durch eine Wirkung des Stoffes entsteht, sollen besondere Versuche vorgenommen werden, und es wird deshalb am zweckmässigsten sein, diese Tumoren im Zusammenhang mit den neuen Untersuchungen zu besprechen.

Zusammenfassung.

Unter möglichst gleichartigen Versuchsbedingungen wurde Methylcholanthren bei Mäusen in direkten Kontakt mit verschiedenem Gewebe und verschiedenen Organen ge-

bracht. Zu diesem Zwecke wurden insgesamt 500 Versuchs- und 500 Kontrollmäuse des Bagg'schen Albinstammes verwendet. Es wurden 10 Versuche vorgenommen, die sich in die folgenden 8 Gruppen einteilen lassen, bei denen bei 197 Tieren an der Applikationsstelle maligne Geschwülste hervorgerufen wurden:

1) Durch Pinselung der Rückenhaut mit in Benzol gelöstem Methylcholanthren wurden 29 Plattenepithelzellenkarzinome und 2 Plattenepithelzellenkarzinome + Spindelzellensarkome hervorgerufen.

2) Durch subkutane Deponierung des Stoffes, in einigen Fällen unter der Rückenhaut in anderen in der linken Flanke, wurden 49 Spindelzellensarkome, 2 polymorphzellige Sarkome, 4 Plattenepithelzellenkarzinome und 6 Plattenepithelzellenkarzinome + Spindelzellensarkome hervorgerufen.

3) Als der Kohlenstoff in der Mamma angebracht wurde, entstanden 24 Spindelzellensarkome, 9 Plattenepithelzellenkarzinome und 2 Plattenepithelzellenkarzinome + Spindelzellensarkome.

4) Bei intramuskulärer Zufuhr wurden 27 Spindelzellensarkome, 2 polymorphzellige Sarkome (Rhabdomyosarkome?) und 1 Plattenepithelzellenkarzinom konstatiert.

5) Bei intraperitonäaler Injektion der Verbindung entstanden an 19 Versuchsmäusen insgesamt 32 Spindelzellensarkome in der Bauchhöhle.

6) Als das Methylcholanthren in der Niere angebracht wurde, wurden 11 Spindelzellensarkome und 1 polymorphzelliges Sarkom hervorgerufen.

7) Bei Deponierung des Stoffes in der Leber wurden 6 Spindelzellensarkome hervorgerufen.

8) Als man versuchte, den Stoff in die Lunge einzuführen, entstanden nur 3 Spindelzellensarkome.

Wenn Methylcholanthren bei Bagg-Mäusen in direkten Kontakt mit verschiedenem Gewebe und verschiedenen Organen gebracht wird, gelingt es also nicht, andere maligne Geschwulstformen als Plattenepithelzellenkarzinome, Spindelzellensarkome und polymorphzellige Sarkome hervorzurufen.

Wenn die subkutanen Tumoren plötzlich anfangen, schnell und progressiv zu wachsen, wurden sie als klinisch maligne bezeichnet. Durch die wöchentlichen Aufzeichnungen liess sich dieser Zeitpunkt genau feststellen, und man bekommt hierdurch ein besseres Versuchs-kriterium als es die früheren, auf das Auftreten der Geschwulst aufgebauten Angaben waren.

Durch die Untersuchungen wurde nachgewiesen, dass Tumoren, die nach ihrem histologischen Aussehen als Plattenepithelzellenkarzinome oder Spindelzellensarkome bezeichnet werden müssen, Metastasen bilden und transplantiert werden können. Bei den experimentell hervorgerufenen Mäusegeschwülsten sind also alle Zeichen von Malignität zu finden.

Ueberall im Organismus der Mäuse, wo das kristallinische Methylcholanthren eingeführt wurde, haben sich die Sarkome nach der gleichen Zeit entwickelt. Man versuchte, sich an Bagg-Mäusen ein Urteil darüber zu bilden, ob ein Unterschied besteht in der Zeit, die Haut und subkutanes Gewebe brauchen, um unter der Einwirkung des krebserzeugenden Stoffes Geschwülste zu bilden. Die dahingehenden Ueberlegungen führten zu Schlüssen, die in einem wohlbegründeten Gegensatz stehen zu der Vermutung, dass sich Tumoren bei Deponierung cancerogener Kohlenwasserstoffe in der Subkutis schneller bilden.

Literaturverzeichnis.

- ANDERVONT, H. B.: Pub. Health Rep. **49**, 620, 1934.
 — Pub. Health Rep. **52**, 1584, 1937.
 — Pub. Health Rep. **53**, 229, 1938 a.
 — Pub. Health Rep. **53**, 1647, 1938 b.
- BACHMANN, W. E., COOK, J. W., DANSI, A., DE WORMS, C. G. M., HASLEWOOD, G. A. D., HEWETT, C. L. & ROBINSON, A. M.: Proc. Roy. Soc., Ser. B. **123**, 343, 1937.
- BAGG, H. J.: Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. **22**, 419, 1925.
- BANG, F.: Bidrag til Studiet af Kræftsygdommens Klinik og Pathogenese. Copenhagen, 1924.
- BARNES, W. A. & FURTH, J.: Am. J. Cancer **30**, 75, 1937.
- BARRY, G., COOK, J. W., HASLEWOOD, G. A. D., HEWETT, C. L., HIEGER, I. & KENNAWAY, E. L.: Proc. Roy. Soc., Ser. B. **117**, 318, 1935.
- BENECKE, E. & SCHRÖDER, J.: Ztschr. f. Krebsforsch. **49**, 505, 1939.
- BONSER, G. M.: J. Path. & Bact. **42**, 169, 1936.
- BONSER, G. M. & ORR, J. W.: J. Path. & Bact. **49**, 171, 1939.
- BOYLAND, E. & BURROWS, H.: J. Path. & Bact. **41**, 231, 1936.
- BOYLAND, E. & WARREN, F. L.: J. Path. & Bact. **45**, 171, 1937.
- BRANCH, C. F.: Am. J. Cancer **26**, 110, 1936.
- BRUNDSCHWIG, A. & BISSEL, A. D.: Arch. Surg. **36**, 53, 1938.
- BURROWS, H. HIEGER, I. & KENNAWAY, E. L.: Am. J. Cancer **16**, 57, 1932.
- CLOWES, G. H. A. & CHEN, K. K.: Am. J. Cancer **27**, 566, 1936.
- COOK, J. W., HIEGER, I., KENNAWAY, E. L. & MAYNEORD, W. V.: Proc. Roy. Soc., Ser. B. **111**, 455, 1932.
- DEELMAN, H. T.: Ztschr. f. Krebsforsch. **18**, 261, 1922.
- DOBOVOLSKAÏA-ZAVADSKAÏA, N. & ADAMOVA, N.: Bull. l'Assoc. Franc. p. l'Étud. du Cancer **27**, 308, 1938.
 — — Bull. l'Assoc. Franc. p. l'Étud. du Cancer **28**, 76, 1939.
- DOBOVOLSKAÏA-ZAVADSKAÏA, N. & SIMSILEVICH, F.: Libro de oro por Prof. Dr. A. H. Roffo 1935 p. 293.
- DOMAGK, G.: Medizin und Chemie III. »BAYER« 1936 p. 274.
- DUNNING, W. F., CURTIS, M. R. & BULLOCK, F. D.: Am. J. Cancer **28**, 681, 1936.

- ESMARCH, O.: Acta path. et microbiol. Scand. **12**, 9, 1940 a.
— Studier over Methylcholantren og dets kræftfremkaldende Virkning paa Mus. Copenhagen, 1940 b.
- FIBIGER, J. & BANG, F.: Compt. rend. Soc. de Biol. **83**, 1157, 1920.
— — D. Kgl. Danske Vidensk. Selskab, Biol. Medd. **III**, 4, 1921.
- FIESER, L. F.: Am. J. Cancer **34**, 37, 1938.
- FIESER, L. F. & SELIGMAN, A. M.: J. Am. Chem. Soc. **58**, 2482, 1936.
- FURHT, J. & FURTH, O. B.: Am. J. Cancer, **34**, 169, 1938.
- HAAGENSEN, C. D. & KREHBIEL, O. F.: Am. J. Cancer **26**, 368, 1936.
- HVAL, E.: Om 1 : 2 : 5 : 6-dibenzanthracensarcomernes udvikling. Bergen, 1937.
- ILFELD, F. W.: Am. J. Cancer **26**, 743, 1936.
- KEIJSIR, S.: Nederl. tijdschr. v. geneesk. **79**, 2019, 1935.
- KLINKE, J.: Ztschr. f. Krebsforsch. **47**, 348, 1938.
- LACASSAGNE, A.: Compt. rend. l'Acad. Sci. **195**, 630, 1932.
— Am. J. Cancer **27**, 217, 1936.
- LEWIS, M. R.: Am. J. Cancer **29**, 510, 1937.
- LEWIS, M. R. & LICHTENSTEIN, E. G.: Am. J. Cancer **27**, 246, 1936 a.
— — Am. J. Cancer **28**, 746, 1936 b.
- LYNCH, C. J.: J. Exp. Med. **43**, 339, 1926.
— Am. J. Cancer **31**, 77, 1937.
- MAISIN, J. & COOLEN, M.-L.: Compt. rend. Soc. de Biol. **117**, 109, 1934.
- MERCIER, L.: Compt. rend. Soc. de Biol. **102**, 503, 1929.
— Compt. rend. Soc. de Biol. **103**, 125, 1930.
- NAKAHARA, W. & FUJIWARA, T.: Gann **31**, 568, 1937 a.
— — Gann **31**, 660, 1937 b.
- NICOD, J. L. & REGAMEY, J.: Bull. l'Assoc. Franc. p. l'Étud. du Cancer **27**, 706, 1938.
- PEACOCK, P. R. & BECK, S.: Brit. J. Exp. Path. **19**, 315, 1938.
- PEERS, H. J.: Am. J. Path. **15**, 261, 1939.
- RUSSEL, B. R. G.: J. Path. & Bact. **25**, 409, 1922.
- SCHABAD, L. M.: Ztschr. f. Krebsforsch. **42**, 295, 1935.
- SEEDORFF, J.: Compt. rend. Soc. de Biol. **87**, 466, 1922.
- SELIGMAN, A. M. & SHEAR, M. J.: Am. J. Cancer **37**, 364, 1939.
- SHEAR, M. J.: Am. J. Cancer **26**, 322, 1936.
— Am. J. Cancer **33**, 499, 1938.
- STRONG, L. C.: J. Exp. Zool. **36**, 67, 1922.
- TSUTSUI, H.: Gann **12**, 17, 1918.

II. Untersuchungen über die Fähigkeit des Methylcholanthrens, abseits der Applikationsstelle Geschwülste hervorzurufen.

Im ersten Teil dieser Untersuchungsreihe traten bei auffallend jungen Versuchsmäusen Lungenadenome auf, und bei 1 % der 500 Versuchstiere haben sich Lymphoblastome entwickelt, die vermutlich vom Thymus ausgegangen sind. Die lymphatischen Leiden können bereits am 56. Tage nach Beginn der Untersuchung auftreten, also früher, als man die Entstehung von Tumoren an der Behandlungsstelle erwarten kann. Es ist daher zwecklos, über die Häufigkeit, mit der Lymphoblastome bei realen Versuchstieren vorkommen, Berechnungen anzustellen, weil dieser Begriff ja auf Angaben über das Vorkommen der Geschwülste an der Applikationsstelle aufgebaut ist. Die Lymphoblastome entstanden hauptsächlich bei Mäusen, die mit Methylcholanthrenlösungen gepinselt wurden, oder bei Tieren, denen der kristallinische Stoff im Peritoneum oder in stark vaskularisierten Organen deponiert worden war. Man darf annehmen, dass unter allen diesen Umständen besonders günstige Bedingungen für eine Resorption der chemischen Verbindung bestehen.

Im folgenden habe ich mir die Aufgabe gestellt zu beweisen, dass die Lymphoblastome durch die Wirkung des Methylcholanthrens entstehen.

Die hauptsächlichste Aufgabe zur Erreichung dieses

Zieles muss sein, den Stoff in der Weise einzuführen, dass die Resorptionsverhältnisse besonders günstig werden. Es wird ausserdem wünschenswert sein, in grösstmöglichem Ausmass die krebserzeugende Fähigkeit des Stoffes an der Applikationsstelle zu eliminieren. Ich habe mich deshalb dahin entschieden, das Methylcholanthren entweder durch Pinselungen mit einer Benzollösung oder durch subkutane Injektionen einer Emulsion dieses Stoffes zuzuführen. Bei diesen Untersuchungen wurde der Maus die Verbindung an 12 bzw. 8 verschiedenen Stellen zugeführt, und die Behandlung wurde in der Reihenfolge vorgenommen, dass immer 4 bis 8 Wochen vergingen, bis der Stoff dem Tiere wieder an derselben Stelle beigebracht wurde. Eine ähnliche Pinselungstechnik wurde früher u. a. bei Untersuchungen mit Teer angewandt (MURPHY & STURM, 1925, und LYNCH, 1927), wo man Lungentumoren hervorzurufen beabsichtigte; eine entsprechende Injektionstechnik hat aber bisher noch keine Anwendung gefunden.

Versuche.

Eine Untersuchung, wobei dreimal wöchentlich mit einer 0,3 %igen Lösung von Methylcholanthren in Benzol gepinselt wurde, umfasste 50 Mäusemännchen und 50 Weibchen, von denen die Hälfte Kontrollversuchen diente. Die Kontrolltiere wurden in der gleichen Weise behandelt, doch nur mit Benzol. Die Pinselungen wurden fortgesetzt bis die Tiere eingingen. Der Reihenfolge nach wurde an folgenden 12 Stellen gepinselt: rechte Achsel, linke Hüfte, rechte Flanke, linke Flanke, rechte Hüfte, linke Achsel, Hals, Regio sacralis, Abdomen, Rücken, Regio publica und Nacken. Die letzte Versuchsmaus ging am 201.

Tage ein, und die Kontrolltiere wurden 29 Wochen nach Beginn des Versuches getötet.

Leider war es nicht zu vermeiden, dass in der Haut Geschwulstbildungen entstanden, die oft multipel auftraten. Die Tumoren hatten den gleichen Charakter wie bei den gewöhnlichen Pinselungsversuchen. Um einen Ueberblick über die Sterblichkeit zu geben, mag erwähnt werden, dass die erste Geschwulst in der Haut 16 Wochen nach Beginn der Untersuchung konstatiert wurde, zu welchem Zeitpunkt noch 23 Versuchstiere (8 ♂ und 15 ♀) am Leben waren.

Bei 4 reellen Versuchstieren, alle Weibchen, wurden Geschwülste an den inneren Organen konstatiert. In 3 Fällen handelte es sich um Lungenadenome. Das eine Tier verendete am 170. Versuchstage ohne Geschwülste an anderen Stellen, während die 2 anderen Mäuse am 170. bzw. 201. Tage mit ausgesprochenen Plattenepithelzellenkarzinomen in der Haut eingingen. Im 4. Falle handelte es sich um eine Maus, die am 161. Versuchstage mit einem Lymphoblastom verendete, das gleiches Aussehen, gleiche Lage und gleichen Charakter hatte, wie ich es beim ersten Pinselungsversuch beschrieben habe. Ausserdem hatte das Tier ein Plattenepithelzellenkarzinom und ein Spindelzellensarkom in zwei verschiedenen Regionen.

Wenn man subkutane Injektionen von Methylcholanthren in der Weise vornehmen will, dass die günstigsten Bedingungen für eine Resorption geschaffen werden, ist es am zweckmässigsten, Emulsionen zu verwenden, weil dadurch eine grössere Gewebeoberfläche mit dem Stoff in Berührung kommt. Die verwendete Emulsion war in entsprechender Weise hergestellt wie die von BURROWS (1932) bei einigen Versuchen benutzte, wo er Ratten intraperitonäal 1:2:5:6-Dibenzanthracen injizierte.

Das Methylcholanthren wird in einer Konzentration von 0,4 ‰ bei einer 100° nicht übersteigenden Temperatur in Olivenöl aufgelöst. Die Lösung wird in 3 Teilen einer 5 ‰igen wässrigen Akaziengummilösung emulgiert, die zwecks Stabilisierung der Emulsion bis auf ein p_H von 8,2 gebracht wird. Diese enthält also schliesslich 0,1 ‰ des Kohlenwasserstoffs. Für die Kontrollmäuse wird eine ähnliche Emulsion hergestellt, der aber der krebserzeugende Stoff nicht zugesetzt wird. Alle verwendeten Flüssigkeiten sind autoklaviert, und die Zubereitung geschieht unter sterilen Vorsichtsmassregeln.

Die Injektionen wurden einmal wöchentlich mit einer Tuberkulinspritze vorgenommen. Die Haut wurde an der Einstichstelle mit Alkohol behandelt; der Stichkanal wurde so lang wie möglich gemacht, einmal damit die eingespritzte Flüssigkeit nicht wieder herausfliessen kann, und dann, um eine Infektion an der Deponierungsstelle zu vermeiden. Der Reihenfolge nach wurden subkutane Injektionen an folgenden 8 Stellen vorgenommen: linke Achsel, rechte Flanke, Lendenregion, rechte Achsel, linke Flanke, rechte Inguinalregion, Nacken und linke Inguinalregion. Es vergingen also 8 Wochen, bis wieder an der gleichen Stelle injiziert wurde.

Die Untersuchung wurde in zwei Versuchsreihen vorgenommen, weil die erste eine grosse Sterblichkeit unter den Versuchsmäusen aufwies.

Der erste Versuch wurde an 50 Versuchs- und 50 Kontrolltieren gemacht mit gleich vielen Männchen und Weibchen in jeder Gruppe. Die wöchentlichen Injektionen betragen 0,625 ccm. Bei Tieren, die frühzeitig während des Versuches verendeten, sah man Reste der einzelnen Injektionen. Wasser wurde schnell resorbiert, während sich

Olivenöl mit dem Methylcholanthren über Areale von 2—3 ccm verteilt hatte. Die Resorptionsmöglichkeiten für das eingespritzte Methylcholanthren müssen daher sehr günstig sein. An Tieren, die lang genug lebten, wurden insgesamt 16 Einspritzungen vorgenommen, was soviel besagt wie dass jedem Tier 10 mg des krebserzeugenden Stoffes zugeführt wurden. Es bekamen aber nur 5 Versuchstiere die gesamte Dosis. Die letzte Versuchsmaus ging am 159. Tage ein; die Untersuchung wurde am folgenden wöchentlichen Untersuchungstage abgeschlossen und die Kontrolltiere wurden getötet.

Bei dieser Versuchsanordnung begegnete man zum erstenmal einer ausgesprochen toxischen Wirkung des Methylcholanthrens. 4, 8 und 12 Wochen nach Beginn des Versuches lebten, in entsprechender Reihenfolge aufgeführt, 16, 15 und 13 Versuchstiere, während 36, 28 und 22 Kontrolltiere zu den gleichen Zeitpunkten noch am Leben waren. Die Zahlen zeigen, dass der Verlust an Versuchstieren infolge von Intoxikation im Laufe der ersten 4 Wochen erfolgt, weshalb die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen ist, dass die Tiere sich an die Giftwirkung des Stoffes gewöhnen.

Leider war es nicht zu vermeiden, dass im subkutanen Gewebe Spindelzellensarkome vorkamen, die oft multipel auftraten. Von der 13. Woche an konnten solche Tumoren in einem klinisch malignen Stadium nachgewiesen werden. Zu diesem Zeitpunkt lebten noch 12 Versuchstiere, ebenso viele Männchen wie Weibchen.

Bei keinem Versuchstier wurden Lungenadenome konstatiert. Unter den Versuchsmäusen wurden bei 2 Weibchen Lymphblastome im Mediastinum gefunden. Die Tiere verendeten schon am 89. bzw. 90. Tage nach Beginn der

Untersuchung, also zu einem Zeitpunkt, wo noch keine Tumoren im subkutanen Gewebe konstatiert werden konnten.

Die grosse Sterblichkeit infolge von Intoxikation hat dazu angeregt, die Untersuchung mit geringeren Dosen vorzunehmen. Der Versuch wurde deshalb mit wöchentlichen Injektionen von 0,31 ccm wiederholt. Die letzte Versuchsmaus ging am 181. Tage ein, und die Kontrolltiere wurden 27 Wochen nach Beginn der Untersuchung getötet. Kein Versuchstier hat also 32 Injektionen bekommen, was 10 mg Methylcholanthren entsprechen würde. Bei dieser Dosierung wurde der Versuch nicht durch Sterblichkeit infolge von Intoxikation gestört. 16 Wochen nach Beginn des Versuches wurde die erste Geschwulst im subkutanen Gewebe konstatiert, und zu diesem Zeitpunkt lebten noch 34 Versuchstiere, wovon die Hälfte Männchen waren.

Bei 3 Tieren dieses Versuches kamen Lungenadenome vor, nämlich bei 1 Männchen und 2 Weibchen, die am 155., 149. bzw. 184. Tage eingingen. Alle diese Mäuse hatten ausserdem multiple oder solitäre subkutane Sarkome.

Zwei Versuchstiere, ein Männchen und ein Weibchen, die am 130. bzw. 187. Untersuchungstage ausschieden, hatten vermutlich vom Thymus ausgehende Lymphblastome, während sonst an anderen Stellen bei den Tieren keine Tumoren konstatiert wurden. Zwei weitere Mäuseweibchen verendeten am 137. bzw. 139. Versuchstage mit ähnlichen Lymphblastomen, und gleichzeitig wurden solitäre Spindelzellensarkome im subkutanen Gewebe gefunden.

Bei den Tieren mit Lymphblastomen sind niemals Metastasen, vergrösserte Lymphdrüsen am Halse, in der Achsel, in der Inguinalregion oder im Abdomen gefunden worden. Leber und Milz haben keine sicheren Veränderungen aufzuweisen gehabt. Eine Zählung der Blutkör-

perchen hat sich an den von selbst verendeten Tieren nicht durchführen lassen, und Präparate vom Knochenmark sind leider misslungen. Alles spricht dafür, dass es sich um ein lokales, lymphatisches Leiden handelte, weshalb ich mich auf die Bezeichnung Lymphoblastom beschränke. Die Geschwülste waren haselnussgross und haben im oberen Teil des Mediastinums gelegen, wo sie hauptsächlich um die grossen Gefässe herum gelagert waren. Sie infiltrierten die Muskulatur an der Apertura thoracis superior, bildeten Ausläufer ins Mediastinum hinab und breiteten sich mantelförmig an den Gefässen der Lunge und an den Bronchien entlang aus. Der vordere Teil der Tumoren war oft deutlich abgegrenzt und wie von einer Kapsel umgeben; in anderen Fällen waren die Bildungen aber auch unlösbar mit der vorderen Thoraxwand verbunden. Die Geschwülste bestanden aus Rundzellen, die als kleine oder auch als grosse Lymphozyten aufgefasst werden mussten. Zeichen einer Follikelbildung waren nicht vorhanden, und man konnte einzelne Mitosen beobachten. Eine dieser Geschwülste, die bereits am 56. Tage nach einer intrapulmonalen Injektion von 10 mg kristallinischem Methylcholanthren aufgetreten war, hat im Gegensatz zu den übrigen Lymphoblastomen überwiegend aus kleinen Lymphozyten bestanden.

Der Ausgangspunkt der Lymphoblastome hat sich nicht mit Sicherheit bestimmen lassen. Bei der Sektion dieser Tiere waren keine Reste des Thymus zu finden, weshalb ich diesem Organ meine besondere Aufmerksamkeit zugewandt habe. Andererseits habe ich bei mikroskopischen Untersuchungen keine Reste von Hassallschen Körperchen in den Geschwülsten nachweisen können.

Die Lymphoblastome müssen als primäre Tumoren auf-

gefasst werden, da sie unabhängig von malignen Geschwülsten an Stellen entstehen, die in direktem Kontakt mit dem Methylcholanthren gewesen sind.

Spontane lymphatische Leiden ähnlichen Charakters sind bei Bagg-Mäusen bisher nicht beschrieben worden. Unter den 650 Kontrolltieren, die bei allen Versuchen zusammen angewandt wurden, konnten keine Lymphoblastome gefunden werden, weshalb man mit Sicherheit annehmen darf, dass die verwendeten Lösungs- oder Schmiermittel nicht imstande sind, in den Versuchsperioden solche Prozesse hervorzurufen.

Diskussion.

Im folgenden sollen die Versuche, die im vorigen Artikel beschrieben wurden, als erste Untersuchungsreihe, und die letzten Versuche als zweite Untersuchungsreihe bezeichnet werden.

Da Lymphoblastome entstehen können noch bevor sich Geschwülste an den Applikationsstellen entwickeln, wird die Aufstellung auf Grund der absoluten Anzahl von Versuchsmäusen berechnet. Die erste Untersuchungsreihe umfasst 500 Versuchstiere, von denen $5 = 1\%$ Lymphoblastome bekommen haben. Bei der zweiten Untersuchungsreihe gelang es, das Leiden bei $7 = 4,7\%$ von 150 Mäusen hervorzurufen. Bei einem Versuch, bei dem die Maus an verschiedenen Stellen der Haut mit einer Methylcholanthrenlösung gepinselt wurde, gelang es nur unter 50 Tieren 1 Lymphoblastom hervorzurufen. Man kann daher nicht annehmen, dass das Leiden bei diesem Versuch häufiger als bei der vorhergehenden Untersuchungsreihe entstanden sei. Bei einem Versuch, bei dem die Methylcholanthren-

emulsion in Mengen von 0,625 ccm injiziert wurde, wurden nur 2 Lymphoblastome hervorgerufen, da der Versuch eine grosse Sterblichkeit infolge von Intoxikation aufwies. Als die Untersuchung mit Injektionen von 0,31 ccm wiederholt wurde, lagen die idealsten Versuchsbedingungen vor; denn jetzt entstand das Leiden bei $4 = 8\%$ der Mäuse.

Die Lymphoblastome sind überwiegend bei Mäuseweibchen entstanden; nur einer von sämtlichen 12 Fällen kam bei einem Männchen vor. Mit dem Leiden behaftete Tiere wurden durchschnittlich 125 Tage nach Beginn des Versuches seziert, und das Leiden wurde frühestens am 56. und spätestens am 187. Untersuchungstage festgestellt.

In seltenen Fällen sind hin und wieder spontan lymphatische Leiden mit ähnlichen Lokalisationen beschrieben worden. TYZZER (1907) hat unter 20 Mäusen einen Fall von Lymphosarkom gesehen. Aus seiner Beschreibung geht hervor, dass die Geschwulst in keinem Punkte von den Tumoren abwich, die ich hervorgerufen habe. HAALAND (1911) hat unter 499 Mäusen mit verschiedenen Geschwülsten 4 Fälle von Lymphomen konstatiert, die im Mediastinum oder im Thymus lokalisiert waren. Bei 15.000 Autopsien von Mäusen aus Slyes Stall hat SIMONDS (1925) 32 Lymphosarkome mit intrathorakalem Ausgangspunkt beschrieben; das Leiden hatte sich aber ausserdem noch in Leber und Milz gezeigt. Schliesslich hat McCoy HILL (1930) bei einem Material von 216 Mäusen eines in Inzucht gehaltenen Stammes 24 Lymphosarkome gefunden, die im Mediastinum oder Mesenterium lokalisiert waren, wenn auch oft andere Organe mit angegriffen waren.

Aus den Beschreibungen der Lymphosarkome gewinnt man den Eindruck, der gleichen Tumorform gegenüberzustehen, die ich als Lymphoblastom bezeichnet habe.

Der Grund, weshalb ich diese mehr symptomatische Diagnose vorgezogen habe, ist der, dass das Leiden in allen meinen Fällen rein lokaler Natur war.

Die erwähnten, spontan vorkommenden Lymphosarkome sind in mehreren Fällen zum Gegenstand von Transplantationsversuchen gemacht worden, die jedoch keine positiven Resultate ergaben.

Wie man sieht, kann also dasselbe lymphatische Leiden in seltenen Fällen spontan bei Mäusen entstehen, und durch Inzucht kann man Mäusestämme erzielen, bei denen derartige Leiden besonders häufig vorkommen.

Bei experimentellen Versuchen hat man hin und wieder entsprechende Krankheiten angetroffen. MAISIN & LIÉGOIS (1933) haben bei 1 von 50 Mäusen ein Lymphosarkom im Mediastinum gesehen; die Mäuse waren 3 mal wöchentlich mit einer gesättigten Lösung von 1:2:5:6-Dibenzanthracen in Benzol gepinselt worden. Die Geschwulst wurde 137 Tage nach Beginn des Versuches gefunden. DOBROVOLSKAĪA-ZAVADSKAĪA & ADAMOVA (1939) haben einen Fall von Lymphosarkom im Thymus einer Maus beschrieben, die zwei Monate vorher eine subkutane Injektion von 1:2:5:6-Dibenzanthracen bekommen hatte. Bei dem Versuch waren insgesamt 271 Mäuse in der gleichen Weise behandelt worden. KREBS, RASK-NIELSEN & WAGNER (1930) haben 10 Fälle von Lymphomatosis infiltrans (Lymphosarkomatose) gefunden, die im Mediastinum lokalisiert waren. Hiervon hatte der eine Neigung, knotenförmige Metastasen zu bilden. Von diesen Geschwülsten waren 6 unter 5550 Mäusen entstanden, die Gegenstand einer Röntgenbestrahlung gewesen waren, während die übrigen 4 unter 10.500 Mäusen vorkamen, die keine Röntgenbestrahlung erhalten hatten. Einem der röntgenbehandelten Tiere war

ausserdem ein Tropfen Teerlanolin in beide Testes injiziert worden, und eine der unbestrahlten Mäuse war früher mit Teerpinselungen behandelt worden. Eines dieser Sarkome hat sich transplantieren lassen. Die Geschwulst wird im Institut immer noch weitergeführt, und es darf in diesem Zusammenhang erwähnt werden, dass die Bagg-Mäuse für solche Transplantationsversuche nicht geeignet sind (KAA-LUND-JÖRGENSEN, 1936).

LACASSAGNE (1936, 1937 und 1938) hat in einem Material von ca. 200 Mäusen 15 Lymphosarkome bei Tieren verschiedener Stämme entstehen sehen. Ausser mit Oestrin waren die Mäuse mit einem oder mehreren der folgenden Präparate behandelt worden: Hypophysenvorderlappenextrakt, Progesteron, Equilin oder Equilenin. Die Geschwülste, die oft Metastasen bildeten, wurden nach einer Behandlung von 155—403 Tagen konstatiert, und fast alle scheinen vom Thymus ausgegangen zu sein. Die verwendeten Mäusestämme waren frei von spontanen Lymphosarkomen; sie hatten aber eine verschieden starke Neigung zu Brustkrebs. Ein einzelner Stamm war völlig frei von Tumoren. GARDNER (1937) berichtet über 3 Thymustumoren und einen Fall von Leukämie, die unter ca. 100 östrinbehandelten Mäusen vorkamen. Die eine dieser Geschwülste wurde mit Erfolg transplantiert. Von anderer Seite (BURNS, SUNTZEFF & LOEB, 1938) wird über eine von 247 Mäusen berichtet, die $7\frac{1}{2}$ Monate hindurch wöchentliche Injektionen von Progynon B bekommen hatten. Bei ihrem Tode fand man ein Sarkom in der Vaginalwand, ein Lymphosarkom in der Brusthöhle und ausserdem ein Mammakarzinom.

Hieraus geht hervor, dass im Mediastinum lokalisierte Lymphosarkome im allgemeinen auch unter experimentellen Verhältnissen seltene Leiden sind.

Unter den 650 Kontrolltieren wurden solche Leiden nicht angetroffen. Es ist jedoch zu bedenken, dass diese Tiere spätestens getötet wurden, wenn sie ein Jahr alt waren. Ausserdem hat das Kontrollmaterial nur 209 Mäuse enthalten, die mehr als ca. $9\frac{1}{2}$ Monate alt waren, d. h. Tiere, die nach dem 203. Versuchstage eingingen. Es ist deshalb nicht ausgeschlossen, dass die Linie von Bagg-Mäusen, mit der hier gearbeitet wurde, vielleicht in einem späteren Alter spontan solche Geschwülste bekommen könnte. Diese Möglichkeit erscheint jedoch kaum wahrscheinlich, da bei alten Zuchtmäusen, die unser Lieferant routinemässig einer Sektion unterwirft, keine Lymphoblastome oder ähnliche Leiden gefunden wurden. Auch bei Bagg-Mäusen, die sonst in den Laboratorien der Radiumstation verwendet wurden, sind keine solchen Symptome gefunden worden.

Wenn es sich nicht gerade um besonders in Inzucht gehaltene Stämme handelt, entstehen Lymphosarkome im Mediastinum nur äusserst selten spontan. Trotz dieser Tatsache habe ich nicht recht glauben können, dass die Lymphoblastome, die bei meiner ersten Untersuchungsreihe mit einer Häufigkeit von 1 % vorkamen, durch eine Wirkung des Methylcholanthrens hervorgerufen sein sollten. Da hier nicht mit einem durchkontrollierten Stamm gearbeitet wurde, besteht die Möglichkeit, dass der Stoff nur das Auftreten eines spontanen Leidens beschleunigt hat. Wenn es bei der letzten Untersuchungsreihe gelungen ist, mit einer Häufigkeit von 4,7 % Lymphoblastome hervorzurufen, so spricht alles dafür, dass die Krankheit direkt durch den cancrogenen Kohlenwasserstoff hervorgerufen wurde. Bei einem einzelnen Versuch, bei dem die idealsten Versuchsbedingungen geschaffen waren, haben 8 % von 50

Versuchstieren Lymphoblastome gehabt. Man darf also wohl sagen: es ist der Beweis geführt worden, dass das Leiden durch das Methylcholanthren hervorgerufen wurde. Hätte man die Versuche ausschliesslich an Mäuseweibchen vorgenommen, so wäre zu erwarten gewesen, dass das Leiden doppelt so häufig hätte hervorgerufen werden können.

Da ähnliche Leiden bei den zahlreichen Versuchen mit Methylcholanthren oder anderen krebserzeugenden Kohlenwasserstoffen fast niemals beschrieben worden sind, lässt sich die Möglichkeit nicht gänzlich von der Hand weisen, dass Mäuse des hier verwendeten Stammes vielleicht besonders geeignete Versuchstiere sind, wenn es sich darum handelt, Lymphoblastome hervorzurufen. Es muss jedoch daran erinnert werden, dass meine Untersuchungen, im Gegensatz zu den meisten früheren Versuchen, mit weit grösseren Dosen vorgenommen wurden, und dass in grösserem Ausmasse Mäuseweibchen verwendet wurden.

Es ist merkwürdig, dass die Lymphoblastome ausschliesslich im oberen Teil des Mediastinums lokalisiert waren und dass keine Zeichen von Metastasen gefunden wurden. Generalisierte leukämische Zustände wurden ebenfalls nicht angetroffen, wie BRUES & MARBLE (1939) sie bei Teerpinselungsversuchen mit einer Linie von Baggmäusen beschrieben haben, bei der gelegentlich spontane Fälle von solchen Leiden vorkommen.

In Anbetracht dessen, dass Methylcholanthren oder ähnliche Stoffe möglicherweise bei einem abnormen Gallensäure- oder Cholesterolfstoffwechsel entstehen können (COOK, 1936, und ESMARCH, 1939), eröffnet die Untersuchung die Möglichkeit, gewisse lymphatische Krankheiten durch abnorme Stoffwechselprozesse zu erklären. Lacassagnes Ver-

suchsbericht über Mäuse, die im wesentlichen mit grösseren Dosen östrogenen Hormone behandelt worden waren, nötigt uns, unsere Aufmerksamkeit auch diesen Verbindungen zuzuwenden. Allen diesen Stoffen gemeinsam ist, dass sie das Cyclopentanoperhydrophenanthren-Ringsystem enthalten. Bei meinen Versuchen ist es auffallend, dass die Lymphoblastome fast ausschliesslich bei Mäuseweibchen entstanden sind. Dies könnte darauf hindeuten, dass das Leiden im weiblichen Organismus leichter hervorgerufen werden kann, da hier, wie man sich denken könnte, die Lymphoblastome durch ein Zusammenwirken des Methylcholanthrens mit den natürlich vorkommenden östrogenen Hormonen entstehen. Leider lassen sich aus dem vorhandenen Material keine sicheren Schlüsse ziehen. Dies würde weit umfassendere Untersuchungen mit diesen und ähnlichen Stoffen an Mäusen verschiedener, in Inzucht gehaltener Stämme erfordern. Die Versuche schaffen jedoch die Möglichkeit für zielbewusste experimentelle Forschung über die Aetiologie gewisser lymphatischer Leiden.

Bei den einzelnen Versuchen der letzten Untersuchungsreihe sind merkwürdigerweise Lungenadenome nicht so häufig entstanden wie bei gewissen Versuchen der ersten Untersuchungsreihe. Bei der Zusammenstellung dieser Geschwülste besteht also kein Grund, die beiden Versuchsreihen getrennt zu behandeln. An insgesamt 19 Versuchsmäusen wurden Lungenadenome nachgewiesen, die bei der histologischen Untersuchung keine Zeichen von Malignität entdecken liessen. In 8 Fällen wurde das Leiden bei Männchen und in 11 Fällen bei Weibchen gefunden. Die Adenome in den Lungen entstanden, ebenso wie die Lymphoblastome, im Mediastinum, unabhängig von Tumoren, die an jenen Stellen auftreten können, wo das Methylcholanthren ange-

bracht wurde. Von 650 Versuchstieren bekamen 2,9 % Lungenadenome, während bei den Kontrolltieren 2,0 % unter einer gleichen Anzahl von Mäusen gefunden wurden. Der kleine Zahlenunterschied deutet nicht darauf hin, dass das Leiden wesentlich häufiger bei mit Methylcholanthren behandelten Tieren entsteht als bei den entsprechenden Kontrolltieren.

Bei den Kontrolltieren wurde die erste Maus mit einem Lungenadenom am 203. Versuchstage seziert. Unter 441 Kontrolltieren, die an diesem Tage oder vorher eingegangen waren, fanden sich also 0,2 % mit Adenomen in den Lungen. Bei den übrigen 209 Kontrollmäusen hatten 12 = 5,7 % ein Lungenleiden. Von 595 Versuchsmäusen, die bis zum 203. Untersuchungstage ausgeschieden waren, hatten 13 = 2,2 % Lungenadenome, von den übrigen 55 Mäusen 6 = 10,9 %. Diese Aufstellung zeigt, dass die Lungenadenome bei jungen Versuchsmäusen weit häufiger auftreten als bei jungen Kontrollmäusen.

Bei Tieren, die mit Methylcholanthren behandelt waren, wurden Lungenadenome frühestens am 122. Tage festgestellt und, wie bei den Kontrolltieren, spätestens am 280. Tage nach Beginn der Untersuchung. Durchschnittlich gelangten die 19 Versuchsmäuse und die 13 Kontrollmäuse am 194., bzw. 269. Tage zur Sektion. Diese Zahlen zeigen auch, dass das Leiden als Folge der angewandten Technik bei den Versuchstieren früher vorkommt.

Die Untersuchung bestätigt im wesentlichen frühere Beobachtungen. Versuche mit Teerpinselung von Mäusen haben gezeigt, dass die Tiere nach einer Behandlung von ca. 6 bis 10 Monaten weitaus häufiger primäre Lungeneschwülste bekommen können als unbehandelte Kontrollmäuse. Auch wenn keine Tumoren auf der Haut entstehen,

erscheinen doch Geschwülste in den Lungen (MURPHY & STURM, 1925, BONNE, 1927, SCHABAD, 1928 und 1930 u. a.). Diese Geschwülste sind Gegenstand einer Reihe von Ueberlegungen gewesen, weil es schwer zu entscheiden ist, ob sie im wesentlichen durch eine universelle Teerintoxikation verursacht oder auf eine besondere Reizung des Lungengewebes durch Teer zurückzuführen sind. Ausserdem ist diskutiert worden, wie der Teer vom Organismus aufgenommen wird. MURPHY & STURM (1925) nehmen an, dass der Stoff wahrscheinlich durch den Verdauungskanal oder möglicherweise durch die Haut aufgenommen wird, während CAMPBELL (1934) und SEELIG & BENIGNUS (1936) vermuten, dass der Stoff durch die Lungen eingeführt wird, weil man an Mäusen Lungengeschwülste hervorrufen kann, wenn sie teerhaltigen Staub einatmen. Diese letzte Anschauung hat P. MÖLLER bereits 1924 anlässlich einer Untersuchung an Ratten vertreten, und später haben SEELIG & BENIGNUS (1938) bei Mäusen, die unter Versuchsbedingungen lebten, wo sie Gelegenheit hatten, russhaltiges Material einzuatmen, Russpartikel in den Lungen mikroskopisch nachweisen können. Schliesslich wurde gezeigt (LYNCH, 1927, 1933 und 1936 u. a.), dass die Empfänglichkeit für Lungengeschwülste infolge Teerpinselung erblich bedingt ist. Histologisch bestehen die Tumoren aus Bindegewebsfalten, die mit Zellen von zylindrischem oder kubischem Charakter bekleidet sind (MURPHY & STURM, 1925, und LYNCH, 1936).

Man darf sicher cancrogenen Kohlenwasserstoffen nicht ohne weiteres alle die Eigenschaften beilegen, die an Teer festgestellt worden sind. In jedem einzelnen Falle muss man einen experimentellen Beweis verlangen. Da Teer ein Mischprodukt ist, so besteht die Möglichkeit, dass er ausser einer oder vielleicht mehreren Verbindungen, die an der

Applikationsstelle cancrogen wirken, noch Stoffe enthält, die an anderer Stelle im Organismus Geschwülste hervorrufen können.

Durch Versuche an Mäusen hat sich indessen gezeigt, dass 1:2:5:6-Dibenzanthracen eine dem Teer entsprechende Fähigkeit besitzt, primäre Lungengeschwülste hervorzurufen. Dies wurde sowohl bei Pinselungsversuchen (SCHABAD, 1936) beschrieben wie bei Versuchen, bei denen der Stoff subkutan (ANDERVONT, 1935, SCHABAD, 1935 u. a.), oder in Oel oder Fett aufgelöst, intramuskulär injiziert wurde (KEIJSIR, 1937). Das Einatmen von Partikeln des krebserzeugenden Stoffes ist also zum Entstehen der Lungengeschwülste nicht erforderlich. Durch intravenöse Injektion von Suspensionen von 1:2:5:6-Dibenzanthracen oder Methylcholanthren in Dosen von 0,1 mg lassen sich an erblich belasteten Mäusen ebenfalls Lungengeschwülste hervorrufen, und im Vergleich zu den Ergebnissen, die bei intrachealer Injektion derselben Stoffe erzielt werden, gibt das intravenöse Verfahren eine grössere Ausbeute (SHIMKIN, 1939). Genauere Studien an in Inzucht gehaltenen Mäusestämmen, denen 1:2:5:6-Dibenzanthracen- und Methylcholanthrenlösungen subkutan injiziert wurden, zeigen, dass man bei gewissen Mäuserassen besonders leicht Lungentumoren hervorrufen kann. Es handelt sich dabei insbesondere um Stämme, bei denen ältere Mäuse spontan Lungengeschwülste bekommen (ANDERVONT, 1937 a und 1938 a, b u. a.). LYNCH (1935) hat 3 subkutane Injektionen von in Fett gelöstem 1:2:5:6-Dibenzanthracen an Mäusen des Baggschen Albinostammes gemacht. Die Einspritzungen wurden in einem Abstand von 14 Tagen vorgenommen, und insgesamt wurde den Tieren 4 mg des krebserzeugenden Stoffes zugeführt. Hierbei entstanden bei 81 bis 89 %

der Tiere, die nach der Feststellung der ersten Lungengeschwulst noch am Leben waren, Geschwülste in den Lungen. Spontan pflegten 32 % der Mäuse, die über $\frac{1}{2}$ Jahr alt waren, Tumoren in den Lungen zu bekommen.

Die erbliche Konstitution der Tiere ist jedoch nicht der einzige Faktor, der die Häufigkeit beeinflusst, mit der sich Lungengeschwülste bei Mäusen hervorrufen lassen. Die Art und Weise, wie das 1:2:5:6-Dibenzanthracen zugeführt wird, ist ebenfalls von Bedeutung. Wenn man 1 ccm einer Dispersion in Pferdeserum, das 1 mg des Stoffes enthält, in die Subkutis einspritzt, so bekommt man eine grössere Ausbeute an Lungengeschwülsten, als wenn die gleiche Menge, in Fett gelöst oder in Glycerin suspendiert, zugeführt wird (ANDERVONT, 1937 b). Ausserdem muss man eine gewisse Menge des cancrogenen Kohlenwasserstoffs eingeben, bevor man erwarten kann, dass in den Lungen Tumoren auftreten. Dies ist aus LETTINGAS Versuch (1937) zu ersehen. Die erforderliche Dosis wird hier auf 2,5 mg in Fett gelöstes 1:2:5:6-Dibenzanthracen angesetzt. Schliesslich zeigen LETTINGAS (1937) und SCHABADS (1936) Untersuchungen, dass eine grössere Dosis von Dibenzanthracen auch eine grössere Ausbeute an Lungengeschwülsten gibt.

Es liegen nur vereinzelte Mitteilungen darüber vor, dass es mit cancrogenen Kohlenwasserstoffen gelungen sein soll, Geschwülste anderer Art abseits der Applikationsstelle hervorzurufen.

MAISIN & COOLEN (1936) haben bei einem Pinselungsversuch unter Mäusen, die dreimal wöchentlich mit einer 0,3 %igen Lösung von Methylcholanthren in Benzol behandelt wurden, 20 % Cancer mammae gesehen. Aehnliche Beobachtungen wurden an Tieren gemacht, die mit einer 0,2 %igen Lösung des Stoffes gepinselt wurden. Die Ver-

suche umfassten 67, bzw. 85 Mäuse, und es wird angegeben, dass der Brustkrebs weit häufiger bei den Versuchstieren auftrat als bei unbehandelten Mäusen gleichen Alters und gleicher Zucht. Von 4 in Inzucht gehaltenen Mäusestämmen, bei denen die Weibchen praktisch frei von Cancer in der Mamma sind, haben DOBROVOLSKAĪA-ZAVADSKAĪA & ADAMOVA (1938) 103 Tiere mit Teerpinselungen und 445 Tiere mit subkutanen Injektionen von in Olivenöl oder Fett gelöstem 1:2:5:6-Dibenzanthracen behandelt. Der krebserzeugende Kohlenwasserstoff wurde in Dosen gegeben, die zwischen 0,005 und 0,1 mg lagen. Es gelang nicht, bei auch nur einem Tier einen glandulären Cancer hervorzurufen. In einer späteren Untersuchung (DOBROVOLSKAĪA-ZAVADSKAĪA & ADAMOVA, 1939) wurde der Versuch an einem gründlich kontrollierten Mäusestamm, bei dem die Weibchen sehr häufig Brustkrebs bekamen, wiederholt. 63 Mäuse wurden mit Teer behandelt, und 271 bekamen subkutane Injektionen von 1:2:5:6-Dibenzanthracen in Dosen von 0,0025 bis 0,1 mg. Die Fälle von Cancer mammae, die bei den Versuchstieren entstanden, liessen sich nicht auf eine Wirkung des Stoffes zurückführen. Bei dem verwendeten Stamm konnten überhaupt keine Lungenadenome hervorgerufen werden.

Zusammenfassung.

Unter besonderen Versuchsbedingungen gelang es, Lymphoblastome im Mediastinum mit einer Häufigkeit von 4,7 % hervorzurufen. Bei einem einzelnen Versuch, bei dem die idealsten Bedingungen geschaffen waren, entstand das Leiden unter 50 Mäusen mit einer Häufigkeit von 8 %. Die Lymphoblastome kamen fast ausschliesslich bei Mäuse-

weibchen vor; 11 von sämtlichen 12 Fällen wurden bei diesem Geschlecht festgestellt. Die Bedeutung der Beobachtung wird erörtert, und die Ueberlegungen eröffnen die Möglichkeit, dass die Aetiologie gewisser lymphatischer Leiden sich zum Teil aus abnormen Stoffwechselfprozessen erklären lässt.

Sämtliche Untersuchungen zeigen ferner, dass die Lungenadenome unter den gegebenen Versuchsbedingungen nicht wesentlich häufiger hervorgerufen werden, dass das Leiden aber bei den Versuchstieren in einem früheren Alter als bei den Kontrolltieren auftritt.

Aus der Abteilung für Röntgen- und Lichtbehandlung des Städtischen Krankenhauses in Aarhus und der Radiumstation für Jütland.

(Direktor: Chefarzt Dr. CARL KREBS.)

Die Versuche sind mit freundlicher Unterstützung des Landesvereins zur Krebsbekämpfung ausgeführt.

Literaturverzeichnis.

- ANDERVONT, H. B.: Pub. Health Rep. **50**, 1211, 1935.
— Pub. Health Rep. **52**, 212, 1937 a.
— Pub. Health Rep. **52**, 1584, 1937 b.
— Pub. Health Rep. **53**, 229, 1938 a.
— Pub. Health Rep. **53**, 232, 1938 b.
BONNE, C.: Ztschr. f. Krebsforsch. **25**, 1, 1927.
BRUES, A. M. & MARBLE, B. R.: Am. J. Cancer **37**, 45, 1939.
BURNS, E. L., SUNTZEFF, V. & LOEB, L.: Am. J. Cancer **32**, 534, 1938.
BURROWS, H.: Proc. Roy. Soc., Ser. B. **111**, 238, 1932.
CAMPBELL, I. A.: Brit. J. Exp. Path. **15**, 287, 1934.
COOK, J. W.: Berichte A. **69**, 38, 1936.
DOBROVOLSKAĪA-ZAVADSKAĪA, N. & ADAMOVA, N.: Bull. l'Assoc. Franc.
p. l'Étud. du Cancer **27**, 308, 1938.
— — Bull. l'Assoc. Franc. p. l'Étud. du Cancer **28**, 76, 1939.
ESMARCH, O.: Ugeskr. f. Læger 1939 p. 156.
GARDNER, W. U.: Occas. Pub. Am. Assoc. Advancem. of Sci. 1937 p.
67.
HAALAND, M.: IV Sci. Rep. Imp. Cancer Res. Fund. 1911 p. 1.
KAALUND-JØRGENSEN, O.: Experimental studies on a transmissible
myelomatosis (reticulosis) in mice. Suppl. Acta radiol. XXIX.
Copenhagen, 1936.
KELJSIR, S.: Nederl. tijdschr. v. geneesk. **79**, 2019, 1935.
KREBS, C., RASK-NIELSEN, H. C. & WAGNER, A.: The origin of lym-
phosarcomatosis and its relation to other forms of leucosis
in white mice. Suppl. Acta radiol. X. Stockholm, 1930.
LACASSAGNE, A.: Compt. rend. Soc. de Biol. **121**, 607, 1936.
— Compt. rend. Soc. de Biol. **126**, 193, 1937.
— Bull. l'Assoc. Franc. p. l'Étud. du Cancer **27**, 96, 1938.
LETTINGA, T. W.: De carcinogene werking van kleine doses 1:2:5:6-
dibenzanthracen. Assen, 1937.

- LYNCH, C. J.: J. Exp. Med. **46**, 917, 1927.
— Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. **31**, 215, 1933.
— Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. **33**, 401, 1935.
— Am. J. Clin. Path. **6**, 293, 1936.
MAISIN, J. & COOLEN, M.-L.: Compt. rend. Soc. de Biol. **123**, 159, 1936.
MAISIN, J. & LIÉGOIS, P.: Compt. rend. Soc. de Biol. **114**, 536, 1933.
MCCOY HILL, F.: J. Cancer Res. **14**, 325, 1930.
MURPHY, J. B. & STURM, E.: J. Exp. Med. **42**, 693, 1925.
MØLLER, P.: Acta path. et microbiol. Scand. **1**, 412, 1924.
SCHABAD, L. M.: Compt. rend. Soc. de Biol. **99**, 1497, 1928.
— Ztschr. f. Krebsforsch. **30**, 24, 1930.
— Ztschr. f. Krebsforsch. **42**, 295, 1935.
— II. Internat. Cancer Congr. Bruxelles 1936 Bd. 2 p. 12.
SEELIG, M. G. & BENIGNUS, E. L.: Am. J. Cancer **28**, 96, 1936.
— Am. J. Cancer **33**, 549, 1938.
SHIMKIN, M. B.: Am. J. Cancer **35**, 538, 1939.
SIMONDS, J. P.: J. Cancer Res. **9**, 329, 1925.
TYZZER, E. E.: J. Med. Res. **17**, 155, 1907.
-
-

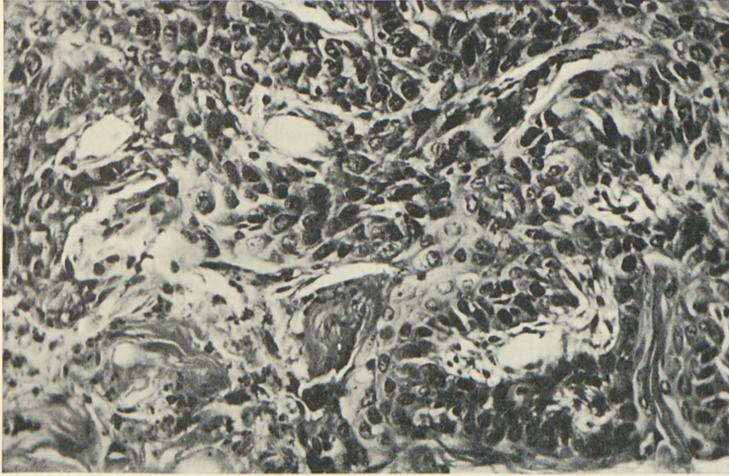


Fig. 1. Plattenepithelzellenkarzinom einer Maus, die mit Methylcholanthren gepinselt wurde ($\times 250$).

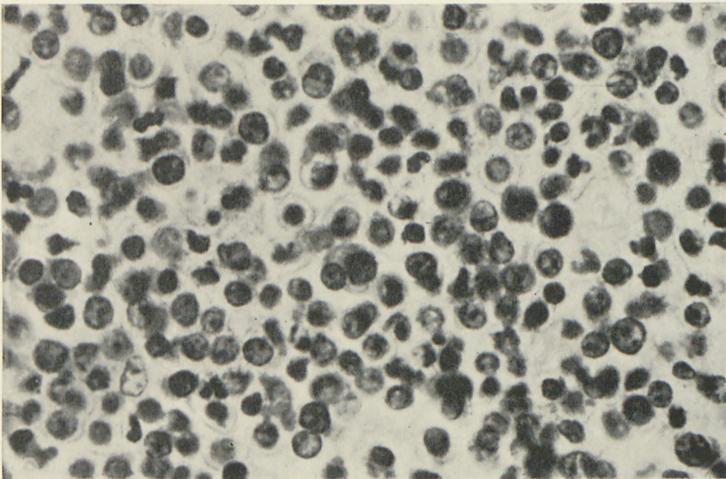


Fig. 2. Vermutlich vom Thymus ausgehendes Lymphoblastom einer Maus, die auf der Rückenhaul mit Methylcholanthren gepinselt wurde ($\times 1150$).

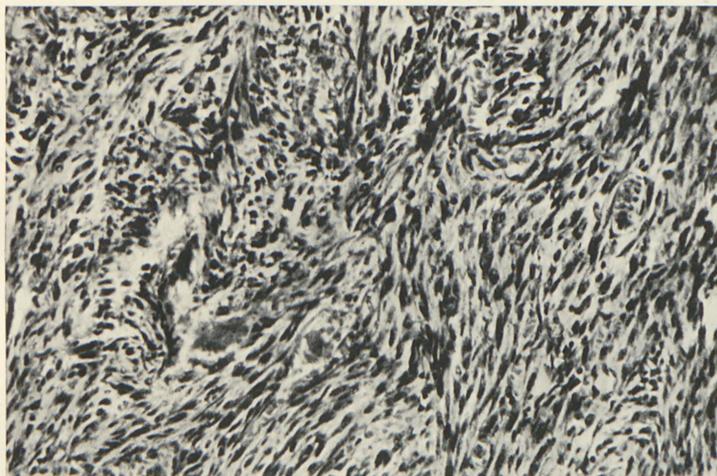


Fig. 3. Spindelzellensarkom einer Maus, der Methylcholanthren subkutan deponiert wurde ($\times 250$).

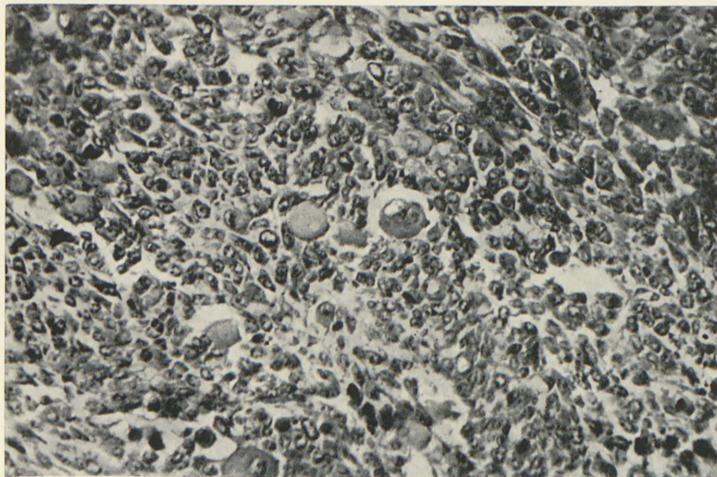


Fig. 4. Polymorphzelliges Sarkom einer Maus, der Methylcholanthren subkutan deponiert wurde ($\times 250$).



Fig. 5. Plattenepithelzellenkarzinom + Spindelzellensarkom, an der Berührungsstelle photographiert ($\times 70$).

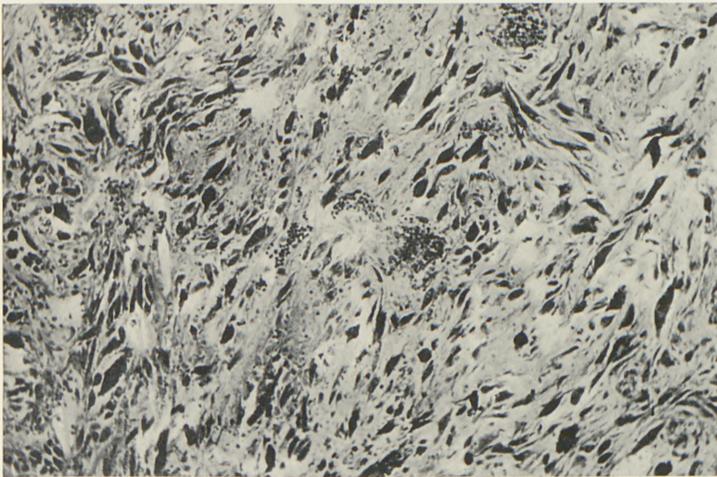


Fig. 6. Polymorphzelliges Sarkom (Rhabdomyosarkom?) einer Maus, der Methylcholanthren intramuskulär deponiert wurde ($\times 150$).

