(Aus der I. Chirurgischen Universitätsklinik Wien [Vorstand: Hofrat Professor
Dr. A. Eiselsberg].)

Über Versuche aktiver Immunisierung beim Mäusekrebs.

Von
Dr. Karl Nather,
Operateur der Klinik.

(Eingegangen am 19. April 1922.)

Mit der Erkenntnis der künstlichen Übertragbarkeit spontan entstandener Tumoren bei verschiedenen Tieren auf gesunde, artgleiche Tiere war nach dem kurz vorhergegangenen Aufschwung in der Bakteriologie und insbesondere in der Immunitätsforschung auch für die biologische Geschwulstforschung alle Veranlassung gegeben, Analogien zu den infektiösen Krankheiten herzustellen und die dort gewonnenen Prinzipien auf ein neues Arbeitsfeld zu übertragen und nutzbar zu machen. Ganz abgesehen von den zahlreichen Versuchen eines hypothetischen Krebserregers in Form eines niedrigen Lebewesens, pflanzlicher oder tierischer Abkunft, habhaft zu werden (vgl. *Fibiger*), führten die allorts angestellten Experimente frühzeitig in das Gebiet der Immunitätsforschung, deren offensichtliche Erfolge im Kampf gegen manche Infektionskrankheit zu ähnlichen Untersuchungen über erworbene Immunität, insbesondere bei malignen Tumoren geradezu aufreizen mußte. Der Wille zu helfen einerseits und auf der anderen Seite die Ohnmacht, mit der wir dem ganzen Geschwulstproblem noch heute gegenüberstehen, mögen es erklären, daß nur allzubald der Mensch selbst als Versuchsobjekt herangezogen wurde, bevor noch im Tierexperiment sichere Grundlagen geschaffen waren, die solche therapeutische Versuche hätten rechtfertigen können.

In praktischer Anlehnung an die Grundsätze der Bakteriologie und Immunitätslehre standen vor allem zwei Wege offen, die zur künstlichen Erzeugung einer spezifischen Immunität führen konnten: Die aktive und passive Immunisierung, eventuell noch die Kombination beider, wie sie heute als einzig wirksame Immunisierungsmethode in Form der sogenannten Simultanimpfung bei bestimmten Infektionskrankheiten üblich ist. (Über Versuche mit Simultanimpfung soll noch später berichtet werden.) Nach dem jeweils verfolgten Zweck haben wir bei jeder der drei Methoden zwischen prophylaktischer, i. e. vor Ausbruch der Krankheit und therapeutischer, nach Krankheitsausbruch statt-

findenden Immunisierung zu unterscheiden. Im folgenden soll ausschließlich zur Frage der erworbenen aktiven Tumorummunität ein Beitrag gegeben sein.

Schon die ersten Tierversuche größeren Stils über aktive Tumorummunisierung, die sich vor allem an die Namen: *Jensen* und *Ehrlich*, ferner *Michaelis*, *Lewin*, *Apolant*, *Bashford*, *Clowes* und *Baslack*, *Borrel* usw. knüpfen, zeigten widersprechende Resultate, die mit der Zunahme der späteren Autoren an Einheitlichkeit durchaus nicht gewonnen haben. Nicht die verschiedenen Immunisierungsmethoden allein erklären die verschiedenen Erfolge, sondern auch das verschiedene Tiermaterial, indem sich nämlich anderes Verhalten der gleichen Spezies gegenüber dem Haften eines Standardtumors in verschiedenen Gegenden, ja sogar bei verschiedener Zucht im selben Ort zeigte. Dazu kommt, daß verschiedene Tumoren mit verschiedener Virulenz zu den verschiedenen Versuchen verwendet wurden, wodurch dem Zufall beim Zustandekommen der Endresultate reichlich Spielraum geboten war. Kein Wunder, daß in dem widerspruchsvollen Chaos der Berichte die Orientierung immer schwieriger wurde und für dasselbe einfache Prinzip, das der Bakteriologie resp. der Immunitätsforschung entlehnt war, immer kompliziertere Namen ersonnen wurden, unter deren Deckmantel altes immer wieder neu erfunden wurde. Das Prinzip ist dabei das gleiche geblieben, insofern als alle hierhergehörigen Versuche darauf ausgehen, durch Injektion von verschieden abgeschwächtem und veränderten Virus resp. Tumormaterial das Angehen eines nachher implantierten virulenten Tumors zu verhüten oder dort, wo ein solcher bereits besteht, seine weitere Entwicklung zu hemmen oder seine Rückbildung zu verursachen. Erst waren es nicht weiter transplantable Tumoren, die zur prophylaktischen Schutzimpfung verwendet wurden, insbesondere das hämorrhagische Mäusecarcinom (*Ehrlich*), ferner artfremde Tumoren (*Lewin*), dann wurden Tumorzellen durch den Einfluß verschiedener Temperaturen oder durch Zusatz von Chemikalien (*Michaelis* u. a.) in ihrer Virulenz geschädigt und so zur Immunisierung verwendet.

Trotz der beschriebenen teilweisen Erfolge und zahlreicher darauf hin gerichteter Arbeiten gelang der biologische Nachweis von „Immunantikörpern“ (*Blumenthal*) nicht. Weder bei der aktiven noch passiven Immunisierung konnte spezifische Lyse-Agglutination oder Komplementbindung beim Tier (*Michaelis* und *Fleischmann*, *Doerr* und *Pick*, *Morgenroth* und *Bieling*) eben so wenig wie beim Menschen (*Salomon*, *Kullmann* und *Ranzi* u. a.) bis in die allerletzte Zeit (vgl. *Eisler*, *Silberstein*) nachgewiesen werden. Hatte schon *Ehrlich* bei seinen Versuchen die Möglichkeit der Erzeugung einer spezifischen Immunität mehr oder minder abgelehnt und den Begriff der „Panimmunität“ aufgestellt, so mußten die Versuche über Schutzwirkung durch Einverleibung artgleicher und

artfremder Organe, sowie von embryonalem Gewebe und unter anderem auch von Blut (*Schöne, Bashford* u. a.) den Glauben an spezifische Antikörperbildung stark erschüttern. Dementsprechend sprach man nur mehr von „Tumorresistenz“ und an Stelle der „Immunantikörper“ traten „Abwehrfermente“ (*Abderhalden*) und „onkolytische Substanzen“ (*Ficchera*). Was aber immer wieder gleich blieb, war das Bestreben, durch Injektion der verschiedensten Substanzen auf irgend eine Weise das wuchernde Tumorgewebe im Körper zum Stillstand und zum Einschmelzen zu bringen. Die Analogie zur spezifischen Immunotherapie blieb dabei insofern gewahrt, als vorzugsweise in der Praxis entweder der eigene Tumor z. B. nach der Exstirpation (*Delbet* u. a.) oder ein analoger Tumor eines anderen Individuums zur Herstellung des Antigens verwendet wurde. Unter den verschiedenen Methoden, nach welchen der Tumor zur Injektion präpariert wird, macht heute wohl das Autolysierungsverfahren noch am meisten von sich reden. Ähnlich wie bei Injektion von Aufschwemmungen abgeschwächter oder abgetöteter Tumorzellen bezweckt die Einverleibung von Autolysaten, das sind zellfreie Tumoreiweißlösungen, eine spezifische Wirkung auf das im Körper wuchernde Geschwulstgewebe. Über die Art der Wirkung der Autolysate haben uns die eiweißchemischen Untersuchungen von *Abderhalden*, sowie von *Herzfeld* und *Klinger* im Reagensglasversuch Aufschluß gegeben. Nach diesen Untersuchungen handelt es sich jedenfalls nicht um direkt gegen die Geschwulstzellen gerichtete Wirkungen bei Injektion außerhalb des Tumors, als vielmehr um eine Steigerung der proteolytischen Vorgänge im Organismus, welche nach den Untersuchungen beider letztgenannten Autoren im Serum alternder Menschen und bei Krebskranken deutlich herabgesetzt sind. Im Sinne der modernsten Auffassung aber sind alle diese Immunisierungsversuche resp. deren Ergebnisse als Proteinkörperwirkung aufzufassen, welcher kaum eine Spezifität zugesprochen werden kann (*Kaznelson*).

Dies als kurzer historischer Überblick. Für den Praktiker jedoch und speziell für den Chirurgen, der doch nur zu oft nach unradikalen Operationen oder bei inoperablen Fällen der Ohnmacht des Messers mit einer anderen Methode nachhelfen möchte, kommt es weniger darauf an, wie die Wirkung einer bestimmten Therapie zustande kommt, als vielmehr ob die Therapie überhaupt die erwünschte Wirkung erwarten läßt. Sich darüber Klarheit zu verschaffen, ist bei dem heutigen Stand der Frage nicht leicht. Die Resultate der verschiedenen Autoren sind zu widersprechend. Während zwar da und dort einmal in der Literatur ein Bericht über ganz eklatante Erfolge durch eine der verschiedenen Behandlungsmethoden beim tumorkranken Menschen auftaucht, die alle in ihrer Entwicklung auf das Prinzip der aktiven Immunisierung zurückzuführen sind, ist ihre Gesamtzahl doch kaum so groß, daß sie

zu weiterer Verbreitung und Anwendung der Methoden anregen würde. Im Gegensatz dazu sind die Resultate der Tierexperimente durchschnittlich derartige, daß sie wohl ähnliche gute Erfolge auch beim Menschen erwarten lassen müßten, was aber durchaus nicht der Fall zu sein scheint. Dieser Widerspruch in den Erfolgen ein und derselben Therapie beim Menschen und im Tierexperiment mag wohl weniger durch eine verschiedene Art der Reaktion, wie man meinen könnte, als vielmehr dadurch zustande kommen, daß die Bedingungen hinsichtlich der Malignität der Tumoren, wie sie sich am klarsten in der Prozentzahl der angehenden Überimpfungen ausdrückt, im Tierexperiment zu verschieden und den Verhältnissen beim Menschen nicht entsprechend gewählt sind. Die Möglichkeit einer kritischen Beurteilung der Resultate besteht nur bei Anwendung eines in 100% angehenden Tumors, da sonst Heilerfolge nur zu leicht durch das charakteristische Versagen in einem gewissen Prozentsatz vorgetäuscht werden können. Diese Fehlerquelle wird auch durch keine Kontrollversuche mit nicht behandelten Tieren genügend korrigiert und die Unterschiede der Versuchs- und Kontrollreihen zeigen nicht viel mehr, als daß es sich um einen mehr oder weniger leicht zu schädigenden Tumor handelt, was ja schon aus seiner prozentuell unvollständigen Übertragbarkeit zur Genüge hervorgeht. Daß ein solcher experimenteller Tumor keine entsprechende Analogie zum menschlichen Carcinom etwa darstellt, steht wohl außer Zweifel. Wollen wir aus der Beeinflußbarkeit eines tierischen Carcinoms auf das Carcinom beim Menschen Rückschlüsse machen, dann ist die erste Bedingung, daß die Tumoren einander wenigstens an Virulenz möglichst gleichwertig sind. Und dann können wir beim Tier gar kein Carcinom finden, daß malign genug zu einem vollwertigen Vergleich wäre, wie es die Erfahrungen der Pathologen und Kliniker immer wieder lehren. Denn wenn man nach 5 und 10 Jahren freien Intervalls nach einer Radikaloperation wieder ein Rezidiv auftreten sieht, was relativ gar nicht so selten vorkommt, dann zwingt einem die Unverwundlichkeit die enorme Lebensfähigkeit einer solchen Krebszelle, die etwa bei der ersten Operation zurückgeblieben sein mag, geradezu alle Bewunderung ab. Ob es sich nun wirklich bei einem solchen Spätrezidiv um Wucherung zurückgebliebener Tumorzellen handelt, oder ob eine Krebsdisposition weiter bestanden oder sich erneuert hat, ist für den Effekt ja ziemlich gleichgültig. Es zeigt uns jedenfalls eine Eigenschaft des Carcinoma humanum, für welche wir keine Analogie finden können. Und eher noch können wir uns erhoffen, ein rapid wachsendes Mäusecarcinom etwa, das in wenigen Wochen zum Tode führt, aufzuhalten, als das langsamer aber um so sicher fortschreitende Carcinom beim Menschen dauernd zu beeinflussen.

Von diesen Gesichtspunkten ausgehend habe ich durch fast 1½ Jahren an mehreren Hundert Mäusen dank der Unterstützung meines Chefs

Versuche anstellen können, welche den Zweck hatten, nach den beim Menschen vorzüglich geübten Methoden der Injektion von abgeschwächten oder abgetöteten Tumorzellen, sowie auch von entsprechenden Autolysaten Immunität gegen nachfolgende Impfung mit virulentem Tumor zu erzeugen resp. deren Wirkung auf bereits bestehende Tumoren zu studieren. Als Standardtumor diente mir dabei ein transplantables Mäusecarcinom (*Adenocarcinoma mammae*), für dessen Überlassung ich Hofrat Professor *Paltauf* zu danken habe und welches bei Übertragung regelmäßig in 100% anging. Gleichzeitige Versuche über spezifisches Abbauvermögen des Serums der Tiere gegenüber Tumorzellen nach Art der Methode mit dem Refraktometer, wie sie von *Koritschoner* und *Morgenstern* für die Untersuchung beim Menschen angegeben wurde, konnten wegen Mangel an Tiermaterial nicht zu Ende geführt werden, da genügende Mengen von Serum für eine Probe Blut von mindestens 4–5 Mäusen beanspruchte.

Die Versuche lassen sich nach dem eingangs skizzierten Schema in 2 Gruppen einteilen:

1. prophylaktische Injektion zwecks Erzeugung von Immunität gegen nachträgliche Tumoringplantation a) mit abgeschwächten resp. abgetöteten Tumorzellen, b) mit Autolysaten und
2. therapeutische Injektion bei bereits bestehendem Tumor zwecks Beeinflussung desselben, a) und b) wie bei 1.

Durch Wahrung peinlichster Asepsis bei Übertragung der Tumoren auf gesunde weiße Mäuse, wozu stets 16–18 Tage alte, frisch gewonnene Tumoren verwendet wurden, ließ sich ein vorzeitiges Herauseitern derselben infolge Infektion stets vermeiden. Die Übertragung wurde folgendermaßen vorgenommen: Der steril auspräparierte Tumor einer oder mehrerer durch Decapitation getöteter Mäuse wurde bei sorgfältiger Ausscheidung nekrotischer Partien mit physiologischer Kochsalzlösung bis zur Herstellung eines dicken Breis mit dem Pistill in der Reibschale oder mit Skalpell und Schere möglichst gleichmäßig zerkleinert. Oder aber wurde der Tumor in eine nach Art der anatomischen schraubbaren Injektionsspritzen konstruierten Quetschspritze eingefüllt, einmal durchgetrieben, dann vermengt und wiederum in die Spritze eingefüllt. Auf beide Arten gelingt es, ziemlich genau gleiche Mengen des zu transplantierenden Tumors einem jeden Tier einzubringen. Die Injektion erfolgte stets intramusculär in einen Hinterschinkel. Die Tiere aller einzelnen Versuchsreihen standen unter genau denselben Ernährungs- und Haltungsverhältnissen. Um innerhalb jedes Versuches die Bedingungen möglichst gleich zu gestalten, wurden immer ungefähr gleichviel wiegende Tiere, womöglich desselben Geschlechtes verwendet. Dementsprechend waren auffallende Unterschiede im Gewicht der Tiere und in der Größe der Tumoren bei den einzelnen Tieren im Laufe eines Versuches im allgemeinen nicht zu beobachten.

Die Herstellung der zur Immunisierung verwendeten Tumorzellaufschwemmungen geschah in folgender Weise: 16–18 Tage alte Tumoren wurden gleich wie zur Transplantation steril auspräpariert, mit Messer und Schere möglichst verkleinert und durch eine vierfache Lage steriler Gaze in physiologische Kochsalzlösung durchgepreßt, so daß schließlich eine milchige, blutig tingierte Flüssigkeit resultierte. Beim Stehenlassen setzten sich bald die Zellen am Boden der Standgefäße ab,

während das meiste Blut mit der überstehenden Flüssigkeit abpipettiert wurde. Durch wiederholtes Waschen der abgesetzten Zellen ließ sich schließlich eine milchige Aufschwemmung erzielen, die keine blutige Tinktion mehr zeigte und die bei mikroskopischer Betrachtung fast ausschließlich aus Tumorzellen bestand. Solche gewaschene Zellen wurden nun mit steigenden Mengen physiologischer Kochsalzlösung versetzt, daß sich das Zellvolumen zum Flüssigkeitsvolumen wie 1 : 1, 1 : 5, 1 : 10, 1 : 20, 1 : 50, 1 : 100 verhielt. Zur Abschwächung, resp. Abtötung und Konservierung wurden dann solche Mengen Phenol resp. Thymol zugesetzt, daß der Zusatz stets ein halbes Prozent der Emulsion ausmachte. Zur Vermeidung chemischer Einwirkungen auf das Zelleiweiß wurden wieder andere Tumorzellen in analog ansteigender Verdünnung mit bei Zimmertemperatur gesättigter Kochsalzlösung versetzt, eine Methode, wie sie *Koritschoner* zur Konservierung der Krebszellen bei der refraktometrischen Untersuchung von Blutserum angegeben hat und bei der die Zellen bis zu einem halben Jahr und darüber reaktionsfähig bleiben. Vor Injektion der solcherart präparierten Zellen wurden dieselben mehrfach gewaschen, so daß sie nicht in konzentrierter sondern in physiologischer Kochsalzlösung den Tieren eingebracht wurden. Diese Zellaufschwemmungen wurden bis zu 4 Wochen im Eisschrank aufbewahrt und vor Verwendung auf Zimmertemperatur erwärmt. Selbst bei stärkster Zellkonzentration in den Emulsionen konnte niemals, auch nicht bei Injektion größtzulässiger Flüssigkeitsmengen ein Angehen der Tumorzellen im Tierkörper beobachtet werden. Je nach der Menge der injizierten Emulsion entstanden größere oder kleinere Infiltrate sofort an der Stelle der Einbringung, die in längstens 3 Wochen, meist aber schon nach wenigen Tagen vollkommen verschwunden waren. Die Injektionen erfolgten teils subcutan, teils intramuskulär und wurden fast ausnahmslos gut vertragen. Bei kurzem Intervall zwischen den einzelnen Injektionen, 3—5 Tage, kamen nie Erscheinungen von Anaphylaxie zur Beobachtung. Die Injektionen zur Erzielung einer Immunität gegen nachträgliche Tumorüberimpfung wurden verschieden lang bis zu 4 Monaten und darüber bei demselben Tier fortgesetzt, wobei einmal mit starken Verdünnungen begonnen und allmählich bis zu einer Zellkonzentration von 1 : 1 fortgeschritten wurde. In anderen Versuchsreihen wieder erhielten die Tiere während der ganzen Behandlungszeit stets gleiche Zellmengen in den verschiedenen Reihen verschieden eingebracht. Oder aber wurden konzentrierte Emulsionen einmal, evtl. mit einmaliger Wiederholung injiziert. Hier sei noch erwähnt, daß mehrmals auch gekochtes Tumoreiweiß zur Immunisierung verwendet wurde, desgleichen zerriebene Tumoren, die mit Blut tumorkrankter oder gesunder Mäuse in gewisser Analogie zum hämorrhagischen Mäusecarcinom, mit dem *Ehrlich* erfolgreich immunisiert hatte, vermengt waren; ich will gleich vorwegnehmen, daß bei letzterer Versuchsanordnung regelmäßig Tumoren aufgingen, die relativ früh ulcerierten, jedoch auf der anderen Seite weiter wucherten und ausnahmslos zum Tode führten. Das Volumen der eingespritzten Aufschwemmung war im selben Versuch immer das gleiche, entweder 0,2 oder 0,5 cem. Bei den durch Monate hindurch behandelten Tieren, die bis zu 30 Injektionen und darüber erhielten, wurde der Ort der Applikation immer gewechselt, so daß die Einspritzung stets in bereits vollkommen erhaltenes Gewebe erfolgte. Die Transplantation des virulenten Tumors geschah in verschiedenen Zeitabständen, seit der letzten immunisierenden Injektion von einem Tag bis zu 4 Monaten. In einzelnen Versuchsreihen wurden auch die Injektionen nach Überimpfung des virulenten Materials fortgesetzt.

Ganz ähnlich wurde verfahren, wenn zur Immunisierung gegen nachträgliche Überimpfung virulenten Materials Tumorauslysate in Verwendung kamen. Die Autolysate wurden in der gewöhnlich geübten Weise dargestellt, indem steril gewonnener Tumorbrei mit der 20-, 30- und 50fachen Menge steriler physiologischer

Kochsalzlösung versetzt und gut durchgeschüttelt während 3 Tagen im Brutschrank bei 37° gehalten wurde. Hierauf wurden die Gefäße im Eisschrank aufbewahrt und jeweils vor der Injektion die nötigen Quantitäten abfiltriert. Das milchige Filtrat wurde stets auf seine Sterilität geprüft. Zur Verwendung kamen 2—3 Wochen alte Autolysate, so daß immer Autolysate frisch hergestellt werden mußten, wozu ja bei den laufenden Versuchen stets reichlich Material gegeben war. Die Verwendung solcher frischer Autolysate sollte ihre Wirksamkeit sichern, die nach den Angaben der bisherigen Experimentatoren nur eine zeitlich beschränkte ist. Zum Teil wurden in den einzelnen Versuchsreihen stets gleiche Mengen gleich konzentrierter oder gleiche Mengen von Autolysatoren in steigender Konzentration verwendet. Das Flüssigkeitsquantum einer Injektion betrug 0,2—0,5 ccm. Die Injektionen wurden teils subcutan, teils intramuskulär vorgenommen, und zwar jeden 3. bis 5. Tag, bis zu 4 Monaten hindurch fortgesetzt. Auch bei Verwendung dieser Autolysate wurden nie ernstere schädliche Nebenwirkungen bemerkt, höchstens daß die Tiere ganz vorübergehend nach der Injektion etwas weniger Freßlust aufwiesen und ein struppiges Fell zeigten.

Andere Versuchsreihen wieder gingen darauf aus, die Heilwirkung von Aufschwemmungen abgeschwächter oder abgetöteter Zellen und von Autolysaten bei schon bestehendem Tumor zu studieren. Dabei wurde mit den therapeutischen Injektionen entweder sofort nach Transplantation des virulenten Tumors begonnen, am gleichen oder doch am folgenden Tag, oder aber setzte die Therapie erst ein, nachdem der erste positive Palpationsbefund das Angehen des überimpften Tumors bewiesen hatte. Dieser Zeitpunkt fiel bei quantitativ möglichst gleicher Übertragungsdosis ziemlich regelmäßig in das Ende der ersten Woche nach der Übertragung. Da die Tiere innerhalb 3—4 Wochen schon ihrem Tumor erlagen, wurden die Injektionen in möglichst kurzen Intervallen, auch tagweise vorgenommen und von den schwächeren Verdünnungen bald zu hohen Konzentrationen übergegangen. Auch diese kurzfristigen Injektionen wurden im allgemeinen gut vertragen. Intervall zwischen den einzelnen Injektionen, Quantität und Konzentration des Antigens wurden in den einzelnen Versuchen systematisch variiert.

Die Versuchsergebnisse müssen in allen 4 Versuchsgruppen als absolut negativ bezeichnet werden, insofern weder durch Vorbehandlung mit Zellaufschwemmungen, noch mit Autolysaten eine Immunität gegen nachträgliche Tumorimplantation erzielt werden, noch irgendein günstiger Einfluß derselben Therapie auf einen bereits bestehenden Tumor konstatiert werden konnte. Aus diesem Grunde halte ich es auch für überflüssig, durch genauere Anführung der einzelnen Versuchsprotokolle Raum zu verschwenden. Trotzdem möchte ich aber wenigstens ein Versuchsprotokoll hier kurz zitieren, weil es so recht zeigt, wie leicht man Selbsttäuschungen unterliegen kann, wenn man nicht mit schonungsloser Kritik seine Versuchsergebnisse durch immer wieder neu angestellte Proben kontrolliert oder wie wenig ein positives Resultat besagen will, wenn man es nicht, exakte Versuchsbedingungen vorausgesetzt willkürlich oft wiederholen kann.

Versuch A II, begonnen am 22. II.: Zehn weiße Mäuse von ungefähr demselben Einzelgewicht, erhalten je 0,2 ccm 8 Tage alter Carcinomzellaufschwemmung in 50facher physiologischer Kochsalzverdünnung mit 1/2% Phenolzusatz subcutan am Rücken links. Zehn Kontrolltiere von beiläufig gleichem Gewicht bleiben unbehandelt unter genau denselben Haltungsbedingungen.

Am 26. II. und am 2. III. wird dieselbe Injektion wiederholt.

Am 7. III. die injizierte Dose verdoppelt.

Am 11. III. werden die vorbehandelten Tiere mit einem 18 Tage alten frisch gewonnenen Tumor infiziert, desgleichen die Kontrolltiere.

Am 18. III. ist bei einem einzigen von den 10 vorbehandelten Mäusen an der Stelle der Implantation im linken Hinterschenkel ein Infiltrat tastbar, das einem angegangenen Tumor entspricht, während die anderen neun normal erscheinen. Von den nicht vorbehandelten zehn Tieren haben bereits neun deutliche palpable Tumordinfiltrate an der Injektionsstelle, bei einem ist der Tastbefund unsicher.

Am 22. III. ist bei fünf von den vorbehandelten Tieren ein Tumor nicht mit Sicherheit durch Palpation nachzuweisen, während bei den übrigen schon eine deutliche Verdickung des Oberschenkels, in welchem die Implantation erfolgt war, zu sehen und zu fühlen ist. Von den nicht vorbehandelten Mäusen ist bei neun der Tumor etwa kirschkerngroß sichtbar und fühlbar, bei der 10. etwas kleiner.

Am 25. III. finden sich etwa kirschkerngroße Tumoren bei fünf Tieren der vorbehandelten Reihe, bei weiteren zweien werden kleinere Tumoren eben deutlich palpabel, während bei den übrigen drei Tieren nichts aufgegangen zu sein scheint. In der Kontrollserie 10 Tumoren, die merklich gewachsen sind.

Am 28. III. haben alle Tiere beider Serien ausgesprochene Tumoren, wobei die zuletzt aufgetretenen etwas kleiner sind.

Am 31. III. sind die Größenunterschiede der Tumoren schon mehr verwischt.

Innerhalb 4 Wochen nach der Implantation des virulenten Tumors sind alle Tiere tot, ohne daß sich ein auffallender Unterschied in der Lebensdauer der Tiere innerhalb beider Versuchsreihen gezeigt hätte.

Dieser Versuch, der zu den zuerst angestellten zählt, schien doch sehr für das Bestehen einer gewissen Immunität zu sprechen und wenn dieselbe auch nur von kurzer Dauer gewesen sein konnte, so schien das Resultat doch dafür zu sprechen, daß vielleicht durch intensivere Vorbehandlung ein höherer Immunitätsgrad zu erzielen wäre. Wie unberechtigt diese Voraussetzung aber war, erwiesen die folgenden Versuche, bei denen mehr Aufmerksamkeit als die ersten paar Male auf möglichst exakte gleiche Dosierung des Implantationsstoffes verwendet wurde. In keiner der folgenden Versuchsreihen konnte mehr ein so auffallender Zeitunterschied bis zum Manifestwerden der gelungenen Implantation konstatiert werden, so daß das von vornherein bestrickende Resultat nur einen Zufall in folge nicht genügend sorgfältig gleichmäßiger Überimpfung bedeuten konnte.

Ein Teil der Tumoren begann zu ulcerieren, sobald sie eine bestimmte Größe erreicht hatten, meist nach der dritten Woche. Auch das Auftreten der Ulceration sowie deren Intensität blieb durch die Behandlung vollkommen unbeeinflusst. Im Allgemeinen gingen die Tiere meist in der 4. Woche, einzelne auch in der 5. Woche nach der Implantation ein. Eine längere Lebensdauer der behandelten Tiere im Vergleich zu den nicht behandelten Kontrollen konnte nicht als Regel festgestellt werden. Ein einziges Tier lebte 8 Wochen lang mit einem riesigen ulcerierten Tumor, neben dem der übrige Körper schon fast wie ein kleines Anhängsel aussah — und dieses war nicht vorbehandelt worden. Auch hinsichtlich der Metastasenbildung ergaben sich keine Unterschiede, wie denn Metastasen überhaupt bei dem verwendeten Mäusecarcinom, das sich ja selbst wie eine Metastase verhält, auch in den regionären Lymphdrüsen eigentlich zu den Ausnahmen zählen.

Eine Zeitlang wurden auch Versuche angestellt, nach der von *Koritschoner* und *Morgenstern* angegebenen Methode das Abbauvermögen des Mäuseserums gegenüber Mäusekrebszellen im Refraktometer zu studieren. Auch dabei müssen anfänglich scheinbar positive Resultate auf Versuchsfehler zurückgeführt werden, da die später vielfach wiederholten Versuche immer vollkommen negativ ausfielen. So viel aber scheint aus den einschlägigen Versuchen mit Sicherheit hervorzugehen, daß weder das Serum von gesunden noch von tumorkranken weißen Mäusen Mäusekrebszellen abzubauen imstande ist, während das Serum verschiedener Abarten grauer Mäuse, auf denen der Tumor nicht anging, deutliches Abbauvermögen in der überwiegenden Mehrzahl der Versuche zeigte. Dieses sicherlich interessante verschiedene Verhalten des Serums weißer und grauer Mäuse, die sich auch der Implantation von Tumorbrei gegenüber verschieden verhielten, konnte wegen Schwierigkeiten in der Beschaffung des Tiermaterials leider nicht weiter verfolgt werden.

Zusammenfassung.

Diese durchaus negativen Resultate mit Aufschwemmungen abgeschwächter resp. abgetöteter Mäusecarcinomzellen einerseits und entsprechenden Autolysaten andererseits, sowohl hinsichtlich Erzeugung einer Immunität gegen nachträgliche Tumorimplantation, als auch hinsichtlich therapeutischer Beeinflussung von entstehenden oder schon voll entwickelten Tumoren, glaube ich schon deshalb nicht verschweigen zu sollen, da vielleicht gerade die Publikationen auf diesem Gebiete eine strenge Selbstkritik oft vermissen lassen, dafür aber ein gewisser Hang unverkennbar ist, Unsicheres im Sinne eines positiven Erfolges zu deuten. Von besonderer Wichtigkeit erscheint mir dabei, daß meine Versuche mit einem sicher hoch virulenten Tumor ausgeführt wurden der in 100% der Überimpfungen anging, so daß Scheinerfolge, wie sie bei weniger vollkommen übertragungsfähigen Tumoren nur zu leicht vorkommen können, von vornherein ausgeschlossen waren.

Bei dieser Eigenschaft des verwendeten Tumors halte ich auch einen Hinweis auf das Carcinom beim Menschen noch eher berechtigt, als bei minder virulenten Tiergeschwülsten, deren leichtere Beeinflussbarkeit schon in ihrer unvollkommenen Übertragbarkeit zum Ausdruck kommt und damit in vollem Widerspruch zum Carcinom des Menschen steht. Die Unmöglichkeit, mit Zellaufschwemmungen und Autolysaten eine Immunität gegen nachträgliche vollwertige Tumorimpfung zu erzeugen, spricht wohl gegen die Annahme einer spezifischen Wirkung auf Tumorzellen und Tumoreiweiß. Mit der Mitteilung obiger Versuchsergebnisse soll natürlich keineswegs die Möglichkeit der Erzeugung einer aktiven Immunität in irgend einer Ausdrucksform derselben gelehnet werden. Wissen wir doch nur zu gut aus der Bakteriologie und Immuni-

tätslehre, daß bei den verschiedenen Infektionskrankheiten eben oft nur eine ganz bestimmte Immunisierungsmethode zum Ziel führt. Hier liegt noch ein weites Arbeitsfeld offen, Methoden und Prinzipien, die an den Bakterien gewonnen wurden, bezüglich ihrer Anwendbarkeit auf Tumorzellen im Tierexperiment zu überprüfen. Jedenfalls scheiden die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Methoden wenigstens für einen Mäusetumor, der noch am ehesten mit dem malignen Krebs beim Menschen verglichen werden kann, aus. Und daraus ergibt sich für die Praxis die Folgerung, mit einer gewissen Reserve an die Beurteilung der Resultate heranzugehen, wie sie etwa beim Menschen mit den gleichen Methoden angeblich da und dort erzielt wurden. Vorübergehende „Besserungen“ kommen gerade beim Carcinom des Menschen durch eine ganze Reihe von äußeren Einflüssen und auch scheinbar spontan gar nicht so selten vor, die dann nur zu leicht auf das Konto einer „Therapie“ gesetzt werden können, wenn sie zufällig mit einer solchen zusammenfallen; andererseits aber liegt bei der Unsicherheit unseres heutigen Wissens auf diesem Gebiete die Versuchung nur zu nahe, Zuflucht bei neuen Methoden zu suchen, deren Leistungsfähigkeit jedoch noch zu fraglich ist, als daß sie allgemeine Anwendung finden dürften.

Literaturverzeichnis.

- Abderhalden*, Abwehrfermente. 4. Aufl. 1914. — *Apolant*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therap. **10**. 1911. — *Apolant*, Zeitschr. f. Krebsforsch. 1911 u. 1912. — *Apolant*, Zeitschr. f. allg. Physiol. 1909. — *Bashford*, Report of the imp. canc. res. fund. 1906; Brit. med. journ. 1906. — *Bashford-Murray-Haaland*, Zeitschrift f. Krebsforsch. 1908. — *Blumenthal*, Revue générale des sciences pures et appliquées, A. Colin, Paris 1907. — *Blumenthal*, Med. Klinik 1910, S. 50. — *Blumenthal*, Zeitschr. f. Krebsforsch. 1912. — *Blumenthal* und *von Leyden*, Dtsch. med. Wochenschr. 1902, S. 36. — *Borrel*, Le problème du cancer. 1907. — *Clowes*, Brit. med. journ. 1906. — *Clowes* und *Baslack*, Journ. of exp. med. **8**. 1906. — *Delbet*, Travaux de la deuxième conférence internat. pour l'étude du cancer. Paris, Felix Alcan 1911. — *Doerr* und *Pick*, Biochem. Zeitschr. **50**. 1913. — *Doerr* und *Pick*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. **19**. 1913. — *Ehrlich*, Konf. f. Krebsforsch. Sept. 1906, Heidelberg. — *Ehrlich*, Zeitschr. f. Krebsforsch. **5**. 1907. — *Ehrlich* und *Apolant*, Arbeiten aus dem kgl. Inst. f. exp. Therapie, Frankfurt a. M., Heft 1. — *Eisler* und *Silberstein*, Zentralbl. f. Bakteriöl. u. Parasitenk. **81**. 1918. — *Fibiger*, Det kgl. Danske Videnskabernes Selskabs Biologiske Meddelelser. **1**, 11. — *Fichera*, Arch. internat. de chirurg. Gand. 1910. — *Fichera*, Zeitschr. f. Krebsforsch. **14**. — *Herzfeld* und *Klinger*, Dtsch. med. Wochenschr. **5**. 1918. — *Jensen*, Hospitals-tidende 1902, S. 19. — *Jensen*, Bericht zur 2. internat. Krebskonf. Med. Klin. 1900, S. 43. — *Jensen*, Biologiske Selskabs Forhandlinger Kjöbenhavn, 1901—1902; Zentralblatt f. Bakteriöl., I. Orig., **34**. 1903. — *Kaznelson*, Ergebnisse der Hyg., Bakt. Imm. u. experim. Therap. **4**. 1920. — *Koritschoner* und *Morgenstern*, Biochem. Zeitschr. 1920. — *Kullmann*, Berl. klin. Wochenschr. **8**. 1904. — *Kullmann* und *Ranzi*, Arch. f. klin. Chirurg. **84**. 1908. — *Lewin*, Zeitschr. f. Krebsforsch. **4**. 1906; **6**. 1908. — *Lewin* und *Meidner*, Zeitschr. f. Krebsforsch. **11**. 1912. — *Michaelis*, Med. Klinik 1904. — *Michaelis*, Zeitschr. f. Krebsforsch. **5**. 1907. — *Michaelis* und *Fleischmann*, Zeitschr. f. klin. Med. **58**. — *Morgenroth* und *Bieling*, Biochem. Zeitschr. **68**. — *Salomon*, Dtsch. med. Wochenschr. 1903. — *Schöne*, Münch. med. Wochenschr. **51**. 1906.