Aus dem Staatlichen Serotherapeutischen Institute in Wien.
(Vorstand: Hofrat Prof. R. Paltauf.)

Ueber das Verhalten embryonaler Zellen gegenüber Nabelblut und Retroplazentars serum.

Ein weiterer Beitrag zur Karzinomreaktion nach Freund-Kaminer.
3. Mitteilung.

Von Prof. R. Kraus, Prof. K. Ishiwara (Tokio)
und Dr. J. Winternitz.

Bei unseren Studien (Kraus, v. Graff und Ranzi¹⁾) über die Zellreaktion nach Freund-Kaminer waren wir aus verschiedenen Gründen bemüht, für die zur Reaktion notwendigen menschlichen Karzinomzellen Ersatz zu schaffen. Trotz vieler darauf gerichteter Untersuchungen erwiesen sich sowohl menschliche als auch tierische Zellen verschiedener Organe als unbrauchbar, da sie vom normalen menschlichen Serum nicht gelöst wurden. Verlangt doch die Reaktion, daß die Zellen vom normalen Serum gelöst, vom Serum Karzinomkranker nicht gelöst werden. Nur Zellen der experimentell erzeugten Mäusekarzinome verhielten sich ähnlich wie Karzinomzellen. Nach diesen Untersuchungen war demnach anzunehmen, daß menschliches Serum nur Karzinomzellen, nicht aber normale Zellen zu lösen imstande ist.

Die von uns (Kraus und v. Graff²⁾) festgestellte Tatsache, daß Nabelblutserum sich gleich verhält wie Serum Karzinomkranker, d. h. im Gegensatz zum Serum Gesunder Karzinomzellen nicht zu lösen vermag, ließ uns die Vermutung aussprechen, daß die Plazenta oder der Embryo die Ursache dieses veränderten Verhaltens des Nabelschnurblutes sein könnte. Diese Arbeit über die Eigenschaften des Nabelschnurblutes gegenüber Karzinomzellen legte den Gedanken nahe, in gleicher Weise wie Karzinomzellen auch embryonale Zellen auf ihr Verhalten gegenüber Blutserum zu prüfen.

In Fortführung dieser Arbeit haben wir nun zunächst embryonale menschliche Zellen³⁾ (drei bis fünf Monate alte Früchte) in ihrem Verhalten gegenüber mütterlichem (retroplazentaren) und foetalem (Nabelschnurblut) Serum einer eingehenden Prüfung unterzogen.

Technik: Bei der Verarbeitung der Föten hielten wir uns an die Angaben von Freund-Kaminer. Zur Untersuchung wurde zumeist Leber, aber auch andere Organe herangezogen. Die Organe wurden

¹⁾ Zeitschrift für Immunitätsforschung, Bd. 12, S. 65.

²⁾ Wiener klinische Wochenschrift 1911, No. 28. — ³⁾ ibid. 1911, No. 11. — ⁴⁾ Herrn Primararzt Prof. Latzko danken wir für die freundliche Ueberlassung des Materials.

in einer 1 %igen Natriumbiphosphor-Lösung verrieben und solange gewaschen, bis das Waschwasser vollständig klar war. Die Zellemlusion wurde, um isolierte Zellen zu gewinnen, dann noch mit Porzellankügelchen geschüttelt. Nur Emulsionen mit gut erhaltenen isolierten Zellen wurden verwendet. Die Emulsionen wurden bei niedriger Temperatur im Kühlraum aufbewahrt. Die Sera waren zumeist frisch gewonnen.

Der Versuch wurde nach den Angaben von Freund-Kaminer ausgeführt, indem in 1 ccm einer 0,6 %igen Kochsalzlösung soviel Tropfen der Emulsion gebracht wurden, daß ein großes Quadrat der Thoma-Zeisschen Zählkammer etwa 20 Zellen enthielt. Ebensoviele Tropfen der Zellemlusion wurden dann in 1 ccm der Sera gebracht, gut geschüttelt und sofort, sowie die Kontrolle in Kochsalzlösung gezählt. Zur Konservierung wurde 1 Tropfen 1 %ige Fluornatriumlösung verwendet. Es wurden stets zehn große Quadrate gezählt und auch Doppelzählungen ausgeführt. Nachher kamen die mit Kautschukpfropfen versehenen Röhrchen in den Brutschrank (37°) und wurden nach 24 Stunden wieder gezählt.

Zunächst sei bemerkt, daß sich embryonale Zellen nicht immer zu diesen Versuchen als brauchbar erwiesen haben, da schon in der Kochsalzlösung nach 24 Stunden eine deutliche Abnahme zu konstatieren war. Diese Feststellung erinnert an die von uns häufig gemachten gleichen Beobachtungen mit Karzinomzellen.

(Womit diese Erscheinung zusammenhängt, wollen wir hier nicht weiter diskutieren, bemerkt sei nur, daß wir gewisse Anhaltspunkte dafür gewonnen haben, daß die von Freund-Kaminer 0,6 % angegebene Kochsalzlösung nicht immer für Karzinomzellen isotonisch sein dürfte. Wir konnten uns überzeugen, daß manchmal embryonale Zellen selbst in 0,5 %igen Kochsalzlösungen weniger geschädigt wurden als in 0,6—0,85 %igen Kochsalzlösungen.)

Auch noch in anderer Beziehung verhielten sich embryonale Zellen wie Karzinomzellen. Wir werden sehen, daß meist embryonale Zellen vom Nabelblutserum viel weniger gelöst werden als vom Retroplazentarserum. Doch trifft man manchmal auf embryonale Zellen, die auch vom Retroplazentarserum nicht gelöst werden. Von Karzinomzellen wissen wir, daß sie sich nicht immer für die Reaktion nach Freund-Kaminer eignen, da sie vom normalen Serum nicht gelöst werden¹⁾.

Eine viel auffallendere Analogie mit den Karzinomzellen zeigen jedoch embryonale Zellen in ihrem Verhalten gegenüber Nabelschnurblut und Retroplazentarserum. Karzinomzellen werden nach unseren Untersuchungen vom Retroplazentarserum gelöst, ebenso wie vom normalen Serum und werden nicht gelöst vom Nabelblutserum und vom Serum Karzinomkranker. Die embryonalen Zellen (Leber) verhalten sich analog, indem sie häufig vom Nabelblutserum nicht gelöst, dagegen stark gelöst werden vom Retroplazentarserum.

1. Versuch. Foetus 30 cm.

Nabelblutserum sofort 154 nach 24 Stunden 144 Abnahme um 10 (6,4%)
Retroplazentarserum sofort
150 „ 24 „ 78 „ „ 72 (48%)

2. Versuch. Foetus 13½ cm (Leber).

Nabelschnurblutserum sofort 150 nach 24 Stunden 156 keine Abnahme (0)
Retroplazentarserum sofort 139 nach 24 Stunden 92 Abnahme um 47 (33%)
Kontrolle in
0,3%iger Kochsalzlösung „ 199 „ 24 „ 181 „ „ 18 (9%)

3. Versuch. Foetus 30 cm (Leber).

Nabelschnurblutserum sofort 156 nach 24 Stunden 148 Abnahme um 8 (5,1%)
Retroplazentarserum „ 156 „ 24 „ 111 „ „ 45 (28,8%)
Kontrolle in
0,3%iger Kochsalzlös. „ 139 „ 24 „ 134 „ „ 5 (3,5%)

4. Versuch. Foetus 30 cm (Leber)

Nabelschnurblutserum sofort 177 nach 24 Stunden 147 Abnahme um 30 (16,8%)
Retroplazentarserum „ 187 „ 24 „ 114 „ „ 73 (37,9%)
Kontrolle in
0,3%iger Kochsalzlös. „ 177 „ 24 „ 171 „ „ 6 (3,3%)

¹⁾ Freund-Kaminer geben auch an, nur diejenigen Karzinomzellen zu Versuchen zu verwenden, welche vom normalen Serum gelöst, vom Serum Karzinomkranker ungelöst bleiben.

5. Versuch. Foetus 30 cm (Leber)

Nabelschnurblutserum sofort 216 nach 24 Stunden 185 Abnahme um 31 (14,3%)
Retroplazentarserum „ 222 „ 24 „ 168 „ „ 54 (24,3%)
Kontrolle in
0,3%iger Kochsalzlös. „ 252 „ 24 „ 256 Zunahme „ 4

In diesen hier angeführten und auch in weiteren Versuchen hat sich immer wieder gezeigt, daß das Nabelschnurserum ein anderes Verhalten gegenüber embryonalen Zellen (Leber) aufweist als Retroplazentarserum. Das letztere vermag sehr häufig die Zahl der embryonalen Zellen viel stärker herabzusetzen als das zugehörige Nabelblutserum. Eine Konstanz fanden wir allerdings hier ebensowenig wie bei der Reaktion nach Freund-Kaminer. (Wir fanden manchmal, daß ein und dieselbe Emulsion von einem Nabelschnurserum gar nicht oder nur wenig gelöst wurde, von einem anderen aber viel stärker, sodaß gar kein Unterschied gegenüber dem Retroplazentarserum nachweisbar war. Auch fanden wir, daß Retroplazentarserum auch nicht immer imstande war, embryonale Zellen, welche von einem anderen Retroplazentarserum gelöst werden, zu vermindern.)

Nicht bloß embryonale Leberzellen, sondern auch andere embryonale Zellen (Lungen) zeigen, wie die folgenden Versuche, gleiches Verhalten. (Es scheint als ob diese Zellart noch deutlichere Unterschiede ergeben würde als Leberzellen.)

6. Versuch. Foetus 10 cm

a) Nabelschnurblutserum 1 sofort 270 nach 24 Std. 207 Abnahme um 62 (23,3%)
Retroplazentarserum „ 258 „ 24 „ 62 Abnahme um 196 (79%)
Kontrolle in
0,6%iger Kochsalzlös. „ 256 „ 24 „ 250 „ „ 6 (2,3%)
b) Nabelschnurblutserum 2 „ 252 „ 24 „ 164 „ „ 88 (34,9%)
Retroplazentarserum „ 280 „ 24 „ 48 „ „ 232 (86,4%)

7. Versuch. Foetus 14 cm (Lunge)

Nabelschnurblutserum sofort 188 nach 24 Stunden 207 Abnahme keine (—)
Retroplazentarserum „ 175 „ 24 „ 42 „ „ 133 (76%)
Kontrolle in
0,6%iger Kochsalzlös. „ 200 „ 24 „ 190 „ „ 10 (5%)

Aus früheren Arbeiten wissen wir, daß normales Menschenserum weder menschliche, noch tierische (Pferd, Kaninchen, Meerschweinchen) Organzellen zu lösen vermag. Wegen der prinzipiellen Bedeutung der hier mitgeteilten Tatsachen haben wir zum Vergleiche Leberzellen (Erwachsener) mit Nabelblut und Retroplazentarserum in der oben beschriebenen Weise untersucht.

Die folgenden Versuche geben die Resultate wieder.

1. Versuch:

a) Nabelblutserum + Leberemulsion sofort 114 nach 24 Std. 115 keine Abnahme (—)
Retroplazentarserum + Leberemulsion sofort 82 nach 24 Std. 65 Abnahme um 17 — (20,37%)
b) Nabelblutserum + embryonale Zellen sofort 188 nach 24 Std. 207 keine Abnahme
Retroplazentarserum + „ „ 175 „ 24 Std. 42 Abnahme um 133 (76%).

Auch noch weitere Versuche haben gezeigt, daß dem Retroplazentar- gegenüber Nabelschnurblutserum die Eigenschaft zukommt, normale Zellen Erwachsener (Leber) zu schädigen, sodaß eine geringe Abnahme derselben zahlenmäßig feststellbar ist. So starke Abnahmen jedoch, wie man sie mit den embryonalen Zellen beobachten kann, sind allerdings mit Zellen Erwachsener niemals gesehen worden.

Es wäre noch die Frage zu erörtern gewesen, wie sich einerseits Karzinomserum gegenüber embryonalen Zellen, andererseits Nabelblut- und Retroplazentarserum, gleichzeitig auf Karzinom und embryonale Zellen geprüft, verhält. Erst durch diese Untersuchungen könnte man der Frage nähere treten, ob das Verhalten des Nabelblutserums Karzinomzellen gegenüber

als identisch anzusehen sei mit dem Verhalten des Serums Karzinomkranker. Auch ließe sich damit entscheiden, ob Karzinomzelle und embryonale Zelle biologisch identische Reaktionen geben. Aus Mangel an Material müssen wir jedoch diese Untersuchungen auf einen späteren Zeitraum verschieben.

Vorderhand kann als feststehend angenommen werden, daß embryonale Zellen ein ähnliches biologisches Verhalten aufweisen wie Karzinomzellen. Das Nabelblutserum löst Karzinomzellen und embryonale Zellen viel weniger als normales oder Retroplazentarserum.