

I. Institut für Pathologische Anatomie und Experimentelle Krebsforschung
der medizinischen Universität in Budapest

(Vorstand: Prof. J. Baló)

ÜBER DURCH URETHAN VERURSACHTE EXPERIMENTELLE LUNGENADENOME

József Baló, Jenő Juhász und Gyula Varga

(Eingegangen am 11. Juli 1952)

Einleitung

Dem Studium des Lungenadenoms bei Versuchstieren muss von zwei Gesichtspunkten aus eine Bedeutung in der Geschwulstforschung zuerkannt werden. Voreinst aus dem Grunde, dass sich in neuester Zeit immer mehr und mehr Angaben anhäufen, die darauf hinweisen, dass Adenome auch in der menschlichen Lunge vorkommen können. Zweitens aber auch deshalb, weil sich das Lungenadenom bei Versuchstieren auch experimentell herbeiführen lässt und wir dabei in die Lage versetzt sind, die Wirkung von fördernden oder hemmenden Faktoren auf die Geschwulstentwicklung zu studieren.

In der Tierwelt kommen Lungenadenome beim Schaf vor. Die Krankheit ist in Südafrika unter dem Namen »Jaagsiekte« bekannt (De Kock, [3]). Man hat sich mit der Ätiologie dieser Erkrankung eingehend befasst. Nach der Ansicht Mitchells [10] soll die Krankheit virusbedingt sein. Nach Dungal, Gislason und Taylor [5] soll dieselbe in Island schwere Schäden anrichten; laut diesen Autoren werden, falls gesunde und kranke Schafe zusammen gehalten sind, die gesunden Schafe infiziert und die Krankheit soll mittels zerriebenen Adenomgewebes übertragbar sein. Dungal, Gislason und Taylor versuchten die Krankheit auch auf Mäuse und Kaninchen zu übertragen, sowohl wie mittels des Geschwulstfiltrates von Schaf zu Schaf, doch sind all diese Versuche erfolglos geblieben.

Das multiple Adenom der Lunge kommt bei Mäusen auch spontan vor. Tyzzer [19] fand im Jahre 1907, dass das multiple papilläre Zystadenom in der Lunge der Maus vorkommt. Slye, Holmes und Wells [18] stellten bei Mäusen, die älter als 7 Monate waren, das multiple Lungenadenom in 4% fest. In 1925 haben Murphy und Sturm [11] Mäuse mit Teer gepinselt; sie haben dabei beobachtet, dass die derart behandelten Tiere einen beträchtlich höheren Prozentsatz von Lungenadenom ohne Entwicklung eines Krebses der Haut aufgewiesen hatten, als die unbehandelte Kontrollgruppe.

L. M. Schabad [14] untersuchte das Vorkommen des Lungenadenoms der Mäuse auf einem ansehnlichen Material. In erster Linie untersuchte er 228 Mäuse, die spontan eingegangen sind: unter diesen fand er Lungenadenom

in 3,5%. Nachdem er 6—8 Monate hindurch zweimal wöchentlich die Haut der Mäuse mit Teer bepinselt hatte, konnte er unter ihnen Lungenadenome bei 20% nachweisen. Während multiples Lungenadenom spontan bei 37% der Mäuse vorkam, erreichte dessen Prozentsatz unter geteerten Tieren 63%.

Nettleship und Henshaw [12] beobachteten in 1943 bei Mäusen, denen Urethan verabfolgt worden ist, eine Erhöhung der Häufigkeit des Lungenadenoms. Larsen und Heston [9] stellten fest, dass auch einige Derivate des Urethans eine ähnliche Wirkung aufweisen. Werner G. Jaffé [6] konnte auch bei der Ratte Lungenadenome mittels Urethan hervorrufen.

Boyland und Horning [1] konnten Lungenadenome bei Mäusen durch Senfgas verursachen. Norris [13] beobachtete Lungenadenom beim Meer-schweinchen.

Eigene Untersuchungen

Wir selbst verabreichten 100 weissen Mäusen von einem Durchschnittsgewicht von 18—25 g und einem Durchschnittsalter von 2 Monaten Urethan per os. Wir fütterten die Mäuse täglich mit in 0,0015 g Urethan pro 1 ccm enthaltende Milch geweichtem Brot. Diese Dosierung wurde durch 70 Tage fortgesetzt. 10 Monate nach einer derartigen Behandlung wurden die Tiere getötet, doch fanden wir Lungenadenom nur bei einem einzigen Tier. In unserer Mäusezucht kommt demgemäss das Lungenadenom bei 14 Monate alten Tieren äusserst selten vor.

In anderen Versuchen wiederum untersuchten wir die Lunge von 224 Mäusen unter dem Alter von 1 Jahr, doch konnten wir Lungenadenom in keinem Tier finden. Wir sind demnach berechtigt festzustellen, dass das spontane Lungenadenom unter den zu unseren Experimenten verwendeten, jünger als einjährigen Mäusen eine grosse Seltenheit darstellt. Desgleichen vermochte auch das in unseren Fütterungs-Experimenten eingeführte Urethan Lungenadenom nicht in einer solchen Anzahl hervorzurufen, dass es nicht als spontanes Adenom zu betrachten gewesen wäre.

Im nachfolgenden wurde eine intensive Urethan-Behandlung durchgeführt. Wir verabfolgten 42 Mäusen 0,2 ccm einer 10%-igen Urethanlösung zweimal wöchentlich intraperitoneal. Diese Behandlung, die wir während 7 Wochen fortsetzten, wurde von den Tieren gut ertragen. Während Ratten nach intraperitonealer Einführung einer ihrem Körpergewicht entsprechend gleichen Menge von Urethan mehrere Stunden lang schliefen, trat nach der vorerwähnten intraperitonealen Injektion bei der Maus nur eine vorübergehende Benommenheit auf. Nach einer 7 wöchigen Behandlungsperiode hielten wir eine Pause von 3 Wochen in der Behandlung, nach deren Ablauf die Mäuse durch weitere 2 Wochen auf die geschilderte Weise und mit der beschriebenen Dosis weiterbehandelt wurden. Jedes Tier erhielt während der ganzen Behand-

lungsdauer 19 intraperitoneale Injektionen, mit einer Gesamtmenge von 0,38 g Urethan. Die eingegangenen Versuchstiere unterzogen wir einer sorgfältigen Untersuchung. Die Ursache des Umkommens mag auch das Urethan gewesen sein, doch in anderen Fällen eine interkurrente Krankheit. Das Lungenadenom wurde zum erstenmal am 76-ten Tage nach Beginn des Experimentes beobachtet. Nach diesem Zeitpunkt kamen Lungenadenome häufig vor. 6 Monate nach Beginn des Versuches wurden die noch am Leben gebliebenen Versuchstiere getötet. Ein Lungenadenom wurde bei 18 von den 42 Mäusen gefunden, was einem Prozentsatz von 42% entspricht. In Anbetracht unserer Vorversuche, ferner auf Grund der Tatsache, dass wir unter den aus derselben Zucht stammenden Mäusen, falls Urethan per os verabreicht wurde, das Lungenadenom nur bei 1% beobachten konnten, ist es nicht zu bezweifeln, dass diese Lungenadenome mittels Urethan herbeigeführt worden waren.

Demnach erweisen unsere Experimente, dass das Lungenadenom mit Hilfe des vorher geschilderten Verfahrens in einer verhältnismässig kurzen Zeitspanne und in erheblicher Anzahl hervorgerufen werden kann. Unsere Versuchstiere waren zur Zeit, wo ihre Behandlung begonnen worden ist, im Alter von 2 Monaten. Nach Ablauf von 6 Monaten, also in einem Alter von 8 Monaten, kam unter den Mäusen das Lungenadenom in einem hohen Prozentsatz vor. Während wir selbst Urethaninjektionen serienweise verabfolgt hatten, konnte Brachetto—Brian [2] auch nach einer einzigen Urethaninjektion Lungenadenome hervorrufen. Es ist der Erwähnung wert, dass Schabad [14] Lungenadenome infolge von Teerpinselung der Haut am frühesten bei 12½ Monate alten Mäusen beobachten konnte und dass dieselben am häufigsten im Alter von 15—17 Monaten erschienen sind. Samssonow [16] hat Mäuse 9 Monate lang mit Teer und mit daraus hergestellten Leichtöl gepinselt. Er beobachtete die erste Lungengeschwulst bei den mit Teer gepinselten Mäusen 23 Wochen nach Beginn des Experiments, während sich bei den mit Leichtöl behandelten Mäusen die erste Lungengeschwulst nach 50 Wochen entwickelt hatte. Sasaki und Yoshida [17] fütterten weisse Ratten mit einem Futter, welchem in Olivenöl gelöstes Orthoamidoazotoluol beigemischt worden war. Nach 250—300 Tagen trat Leberkrebs auf. Jüngst konnten Korpássy und Mosonyi [8] mittels subkutaner Injektionen von Gerbsäurelösung in einer Zeitdauer von 103—320 Tagen Hepatome und Cholangiome herbeiführen. Schabad [15] verwendete bei weissen Mäusen in Sonnenblumenöl gelöstes Dibenzanthracen subkutan, wodurch er bei 39% eine Lungengeschwulst erzielte, usw. am frühesten 110 Tage nach Beginn des Versuches.

Die linke Lunge der Maus besteht aus einem, die rechte aus vier Lappen. Die Adenome kommen in sämtlichen Lappen vor. Man beobachtet aber auch häufig in der Lunge Knötchen von Mohn- bis Hirsekorngrosse, die den Verdacht des Adenoms wachzurufen geeignet sind, die sich jedoch bei der histologischen Untersuchung nicht als solche bestätigen werden können. Nach unseren

Erfahrungen können dortselbst auch graulichweisse oder graulichgelbe Knoten vorkommen, die den Anschein eines Adenoms erwecken, wobei sie sich histologisch jedoch als Bronchiektasen oder basalzellige Metaplasien erweisen. Durch die makroskopische Betrachtung können Adenome von Bronchiektase oder basalzelligen Metaplasien nur mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit differenziert werden. Die letzteren sind cystische Gebilde, während die Adenome eine solide Struktur besitzen. In der Höhle einer Bronchiektase kann Schleim und Exsudat vorhanden sein, wohingegen an der Stelle der Metaplasie eine Anhäufung von Hornmassen als Folge der Verhornung zu beobachten ist.

Der durchschnittliche Durchmesser der kleinsten Adenome beträgt 0,5 mm. Die Gebilde erscheinen am häufigsten an der Lungenoberfläche, unter

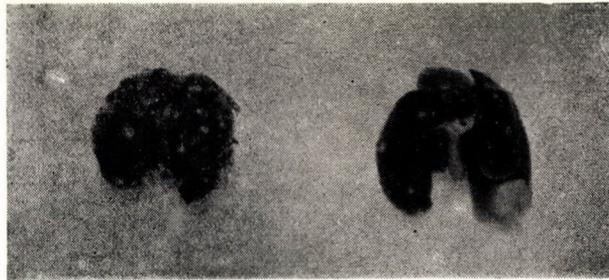


Abb. 1. Lungenadenome der mit Urethan intraperitoneal behandelten Mäuse. In der links abgebildeten Lunge waren 47 Adenome zu zählen. Die rechts abgebildete Lunge enthält ein Adenom von Erbsengrösse und mehrere kleinere Adenome

der Pleura, oder sich aus der Pleura hervorhebend. Häufig beobachteten wir Adenome an der scharfen Kante der Lungenlappen. Das umfangreichste Adenom, das wir je beobachtet haben, erreichte die Grösse einer Erbse. Die Oberfläche der subpleuralen Adenome ist rund erhaben, die grösseren sind mit einer Umrandung versehen und besitzen eine Delle. Einzeln können Adenome nur im Frühstadium vorgefunden werden, zumeist kommen sie in grösserer Anzahl vor. Oft beobachteten wir in den beiden Lungen insgesamt 4—6 Adenome, allerdings können dieselben auch in einer Gesamtzahl von 40—50 vorkommen. Obwohl am leichtesten die unter der Pleura sitzenden Adenome zu erkennen sind, sind diese nichtsdestoweniger im Inneren des Lungenparenchyms gleichfalls häufig, woselbst sie beim Anschneiden der Lunge sichtbar werden. Kleinere Adenome sind häufig allein durch histologische Untersuchung festzustellen. Die Konsistenz der Adenome ist dichter, als jene des benachbarten Lungenparenchyms.

Wir studierten das Frühstadium der Adenome mittels histologischer Methoden und haben den Vorgang des Wachstums verfolgt. Die subpleural gelegenen Gebilde bestehen aus Säulen kubischer Zellen, zwischen denen unregelmässige Lücken vorhanden sind. In diese Lücken wölben sich Zotten hinein.

Die Zellsäulen enthalten spärliches Bindegewebe, in welchen dünnwandige Kapillaren sichtbar sind. Um das Gebilde herum fanden wir im Frühstadium keine Kapsel, es entsteht lediglich aus der Zusammenpressung benachbarter

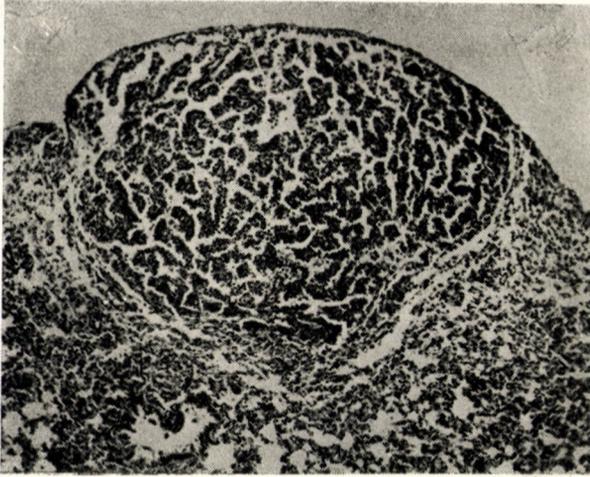


Abb. 2. Subpleurales Lungenadenom, welches am 76-ten Tage der Urethanbehandlung gefunden wurde

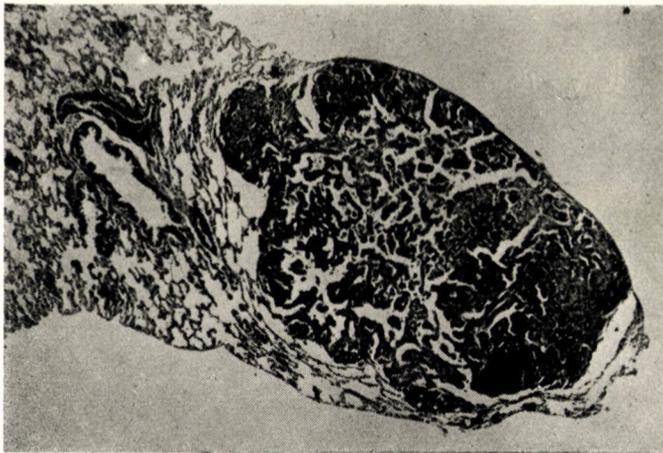


Abb. 3. Lungenadenom einer mit Urethan per os behandelten Maus

Lungenalveolen eine dünne Grenzschiote. Hat das Adenom durch Wachstum einen grösseren Umfang erreicht, so kann es von einer schmalen Bindegewebs-schicht umgeben sein. Die Pleura ist unversehrt, unter ihr können kubische Zellen eine regelrechte Schicht bilden. Die subpleuralen Adenome stehen in keiner Beziehung zu den Bronchien; sie entstehen an Orten, an welchen das

Zylinderepithel der Bronchien bereits aufgehört hat. Umfangreichere Adenome drücken den benachbarten Bronchus zusammen und bedingen Stauung und Atelektase, in dem sie auf die Venen und das Lungenparenchym Druck ausüben.

Adenome können auch in der Nachbarschaft der grossen Bronchien, in der Nähe des Lungenhilus vorkommen. Hier ist es möglich, den Übergang des die Bronchien bekleidenden Flimmerepithels in das Adenom zu verfolgen. Die Anhäufung des Zylinderepithels führt auch hier zu Zellbalken, die sich aufeinander häufen und untereinander nur enge Spalten übrig lassen, in welche sich Zotten vorbuchten. Auch hier lässt sich keine Kapsel um das Adenom nach-

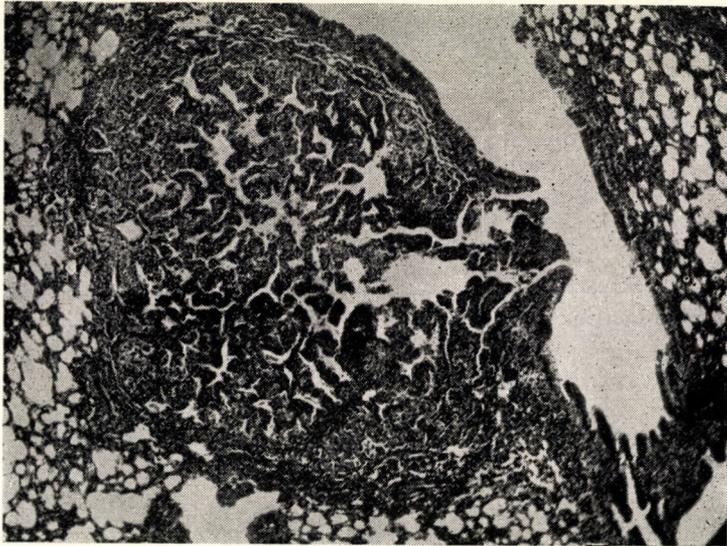


Abb. 4. Lungenadenom in der Nähe des Hilus. Der Übergang des Bronchusepithels in das Adenom ist deutlich sichtbar

weisen. Die in Hilusnähe gelagerten Adenome sind vereinzelt oder in der Mehrzahl vorhanden und können gleichfalls Erbsengrösse erreichen.

Man kann auch Adenome beobachten, welche sich in der Umgebung von kleinen Bronchialästen anordnen; diese sind vom Lumen des Bronchus oft nur durch normales Bronchusepithel getrennet. Doch auf Serienschnitten lässt sich der Übergang des Bronchialepithels in das Adenom nachweisen. Vielfach kann man Adenome an jenen Orten beobachten, an welchen der Bronchiolus in den Ductus alveolaris übergeht und das Zylinderepithel des Bronchiolus aufhört. Adenome dieser Art erreichen in der Regel nicht die Pleuraoberfläche.

Die Adenome können einen lockereren oder dichteren Aufbau besitzen. In den dichter gefügten sind die Zotten gegeneinander gepresst und die zwischen denselben vorhandenen Lücken eng. Die das Adenom bildende Zellen sind im allgemeinen regelrechte kubische Epithelzellen. Die Zellkerne sind im grossen

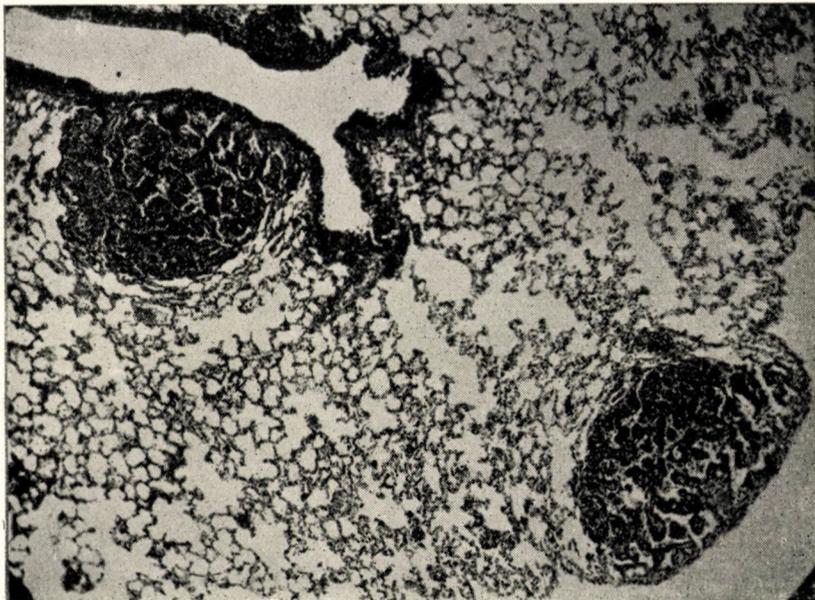


Abb. 5. Zwei Adenome in der Lunge der Maus

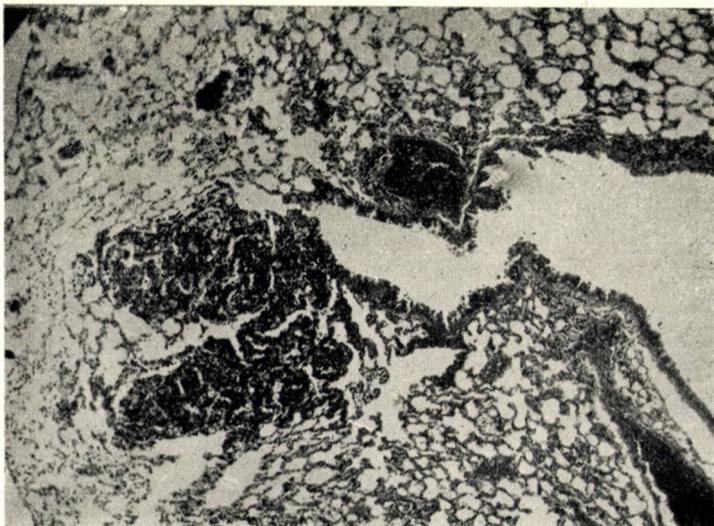


Abb. 6. Lungenadenom, das an der Stelle des Übergangs zwischen einem Bronchiolus und einem Ductus alveolaris entstanden ist

und ganzen gleich und es kommen keine mitotische Formen vor. Das histologische Bild entspricht demjenigen des papillären Adenoms. Doch konnten wir in mehreren grossen Adenomen eine abweichende Struktur wahrnehmen. Während das Zentrum von derartigen Adenomen einen lockeren, warzigen Bau besitzt, ordnen sich in den peripherischen Bezirken die kubischen Zellen in dichten Haufen an und bilden keine Drüsenlumina. In diesen Gebieten hat die Gleichheit der Grösse der Zellkerne ebenfalls aufgehört: unter gleichen Zellkernen findet man auch Zellen, die mit grösseren, unregelmässig geformten, chromatinreichen Kernen versehen sind. Auch hier konnten wir keine mitotische Zellteilung auffinden, es kommen jedoch Erscheinungen vor, die auf eine direkte Teilung hinweisen. Wir konnten weder ein infiltratives Wachstum, noch Metastasen feststellen. Unter unseren 18 mit Lungenadenom behafteten Mäusen beobachteten wir bei zweien nebenbei einen Plattenepithelkrebs der Haut.

Die Histogenese der Lungenadenome

Es herrschen zwei Auffassungen hinsichtlich der Histogenese des Lungenadenoms. Tyzzer [19] schreibt letzteren eine Herkunft aus dem Epithel der Alveolen zu. Nach Jobling [7] sollen die Adenome aus dem Epithel der Bronchiolen stammen. Nach Slye, Holmes und Wells [18] können diese Tumoren den beiden vorerwähnten Orten entspringen. Dieselbe Ansicht wird auch von Schabad [14] vertreten. Wir sind der Meinung, dass die Adenome zumeist vom Bronchialepithel ausgehen. In zahlreichen Fällen war es uns möglich, den unmittelbaren Übergang des Bronchusepithels in ein Adenom zu studieren. Sehr häufig sahen wir die Entwicklung des Adenoms an der Grenze zwischen dem Bronchiolus und dem Alveolengang usw. an der Stelle, an welcher das Epithel des Bronchiolus aufhört. Die Tumoren, welche unmittelbar unter der Pleura gelegen sind und keinen Zusammenhang mit den Bronchiolen besitzen, mögen wohl aus dem Alveolarepithel stammen. Nach der Auffassung zahlreicher Autoren entstände jene Alteration des Alveolenepithels, welche zu einer adenomatösen Wucherung führt, auf entzündlichem Grunde infolge von physikalisch-chemischen Noxen, die sich von der Pleura her geltend machen. So injizierte Young [20] in die Pleurahöhle von Kaninchen in Olivenöl gelöstes Sudan III. und Natriumcholatlösung und konnte hiernach Wucherungen des subpleural gelegenen Alveolarepithels feststellen. Desbaillet [4] injizierte in Olivenöl gelösten Steinkohlenteer in die Pleurahöhle des Meerschweinchens. Die Pleura ging infolge des Entzündungsprozesses zugrunde, das unter ihr gelegene Alveolenepithel wies adenomartige Wucherung auf. Persönlich können wir den entzündlichen Ursprung der subpleural gelagerten Adenome nicht bestätigen, nachdem wir in unseren Fällen sowohl die Pleura, wie auch die Umgebung des Adenoms immer entzündungsfrei gefunden haben.

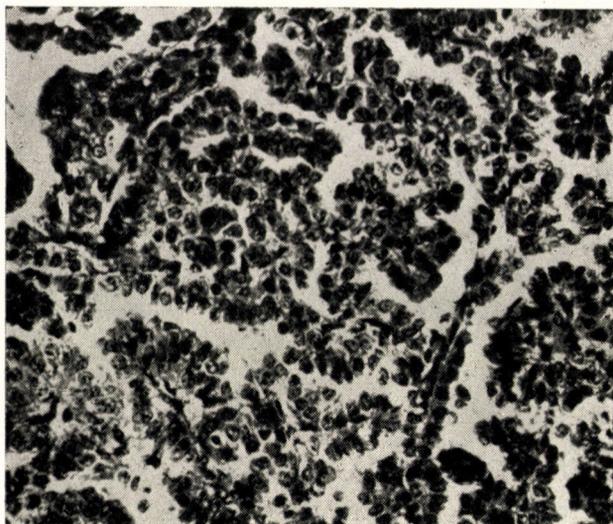


Abb. 7. Urethanadenom mit starker Vergrößerung

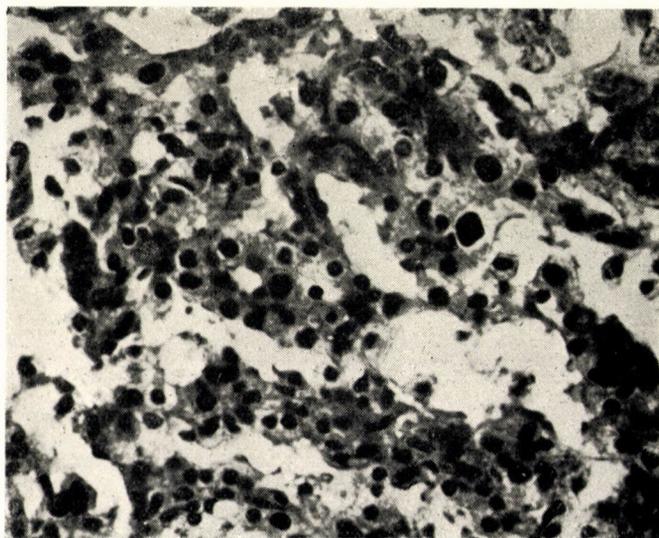


Abb. 8. Zellkerne von ungleicher Grösse im Lungenadenom

Zusammenfassung

Spontane Lungenadenome sind äusserst selten in unseren einheimischen Züchten weisser Mäuse. In unserer eigenen Mäusezucht kam das spontane Lungenadenom bei 1% vor; unter der Einwirkung intraperitonealer Urethaninjektionen kommen Lungenadenome häufig vor. In unseren Experimenten sahen wir unter dem Einflusse serienweise verabreichter Urethaninjektionen eine Entstehung von Lungenadenom bei 42% der Mäuse.

Die durch das Urethan verursachte Lungenadenome sind in der Regel gutartige Geschwülste, die häufig multipel auftreten. Eine maligne Entartung ist nach längerer Zeit möglich.

Im Vergleiche mit hochwirksamen tumorerregenden Substanzen lässt sich feststellen, dass Lungenadenome mittels Urethan in verhältnissmässig kurzer Zeit regelmässig herbeizuführen sind. Die sich unter der Einwirkung von intraperitonealen Urethaninjektionen entwickelnden experimentellen Lungenadenome sind geeignet zum Studium von Faktoren, welche die Geschwulstbildung, sei es in förderndem, sei es in hemmendem Sinne, beeinflussen.

LITERATUR

1. *Boylard und Horning* : (1949) The Brit. J. of Cancer 3.
2. *Brachetto-Brian* : (1950) V. Congrès Internat. du Cancer, Paris.
3. *De Kock* : (1929) 15. Annual Report of the Director of Veterinary Services Union of South Africa, Onderstepoort, Pretoria.
4. *Desbaillet* : (1928) Arch. Internat. Med. Exper. 3.
5. *Dungal, Gislason und Taylor* : (1938) Journ. Comp. Path. 51.
6. *Werner G. Jaffé* : (1947) Cancer Research 7.
7. *Jobling* : (1910) Monogr. Rockefeller Inst. Med. Res. Nr. 1.
8. *Korpássy und Mosonyi* : (1950) Orvosi Hetilap 91.
9. *Larsen und Heston* : (1945) Cancer Research 5.
10. *Mitchell* : (1929) cit. De Kock : 15. Annual Rep. Directors of Veterinary Service, Union of South Africa, Onderstepoort, Pretoria.
11. *Murphy und Sturm* : (1925) J. Exp. Med. 42.
12. *Netleship und Henshaw* : (1943) J. Nat. Cancer Inst. 4.
13. *Norris* : (1947) Arch. Path. 43.
14. *Schabad* : (1930) Zeitschr. f. Krebsf. 30.
15. *Schabad* : (1935) Zeitschr. f. Krebsf. 42.
16. *Samssonow* : (1939) Zeitschr. f. Krebsf. 49.
17. *Sasaki und Yoshida* : (1932) Virchows. Arch. 283.
18. *Slye, Holmes und Wells* : (1914) J. Med. Res. 30.
19. *Tyzzar* : (1909) J. Med. Res. 17 (1907); 21.
20. *Young* : (1928) J. of Path. Bact. 31.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ АДЕНОМЫ ЛЕГКИХ, ВЫЗВАННЫЕ УРЕТАНОМ

Др. Йозеф Балó, Ене Юхас и Др. Дьула Варга

Резюме

В венгерских штаммах белых мышей спонтанные аденомы легких встречаются относительно редко. Среди своих собственных штаммов мы нашли спонтанные аденомы в 1% случаев; под влиянием внутрибрюшинного впрыскивания уретана аденомы легких развиваются часто. В наших опытах, под влиянием ряда впрыскиваний уретана аденомы в легких возникли в 42% случаев. Аденомы легких, вызванные уретаном, обычно являются доброкачественными — часто множественными — опухолями. После длительного времени они могут становиться злокачественными.

Сравнивая действие уретана со действием сильных канцерогенных веществ, можно установить, что уретаном удается вызвать аденомы легких регулярно, в относительно короткое время. Экспериментальные аденомы легких, возникающие под влиянием внутрибрюшинного впрыскивания уретана годятся к изучению факторов способствующих и задерживающих развитие опухолей.