

EIN VIRUS ALS URSACHE MYELOISCHER LEUKÄMIEN BEI DER MAUS UND DER RATTE* **

A. GRAFFI

(Eingegangen am 1. Dezember 1958)

Im Jahre 1954 gelang uns der Nachweis, daß myeloische Leukämien der Maus (Abb. 1) durch ein virusartiges filtrierbares Agens erzeugt werden [1—4] und damit ein ähnlicher Tatbestand vorliegt, wie ihn GROSS 3 Jahre früher für die lymphatische Mäuseleukämie festgestellt hat [5]. Die ersten positiven Resultate (ca. 50% Leukämien) erzielten wir mit zellfreien Filtraten aus verschiedenen transplantablen Mäusetumoren, z. B. den Sarkomen Sa I und Sa II, dem Ehrlich-Ascites-Karzinom und unserer transplantablen Leukose SOV 16 (Tab. I). Bald konnten wir jedoch nachweisen, daß zellfreie Filtrate leukämi-

Tabelle I

Versuchsordnung		Tierzahl	Leukämien	% Leukämien	Latenzzeit (Monate)
Unbehandelte Kontrollmäuse.....		2548	19	<1	>12
Behandelte Kontrollen (Filtrate aus Normalgewebe und Rattentumoren)		466	40	9	~17
Zellfreies Filtrat an neugeborene Mäuse	Sa 1.....	1120	561	50	~ 7
	Sa 2.....	33	15	45	~ 7
	Ehrlich-Ascites	146	74	50	~ 7
	SOV 16	79	49	62	~ 4
	leukämische Lymphknoten .	234	172	74	~ 4
	Gehirn leukämischer Mäuse	72	51	71	~ 4

scher Lymphknoten sowie der Milz, der Leber und des Gehirns nach Filtratapplikation erkrankter Mäuse noch viel wirksamer sind als Filtrate der genannten Ausgangstumoren, in dem ein noch höherer Prozentsatz an Leukämien mit abgekürzter Latenzzeit (3—4 Monate) erzielt wird [6, 7]. Aus diesem Grunde wurden von uns in den letzten Jahren hauptsächlich leukämische Lymphkno-

* Vortrag, gehalten vor der Ungarischen Akademie der Wissenschaften, am 29. Nov. 1958.

** Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. K. Thomas zum 75. Geburtstag gewidmet.

ten zur Herstellung zellfreier Filtrate angewandt. Ich möchte Ihnen nun im Rahmen dieses Referates über einige neuere Ergebnisse über die Wirkungsweise sowie die chemische und biologische Natur des Virus der myeloischen Leukose der Maus berichten. Wir verfügen zur Zeit über ein Material von über 3 000 Leukämien, die durch zellfreie Filtrate hervorgerufen wurden.

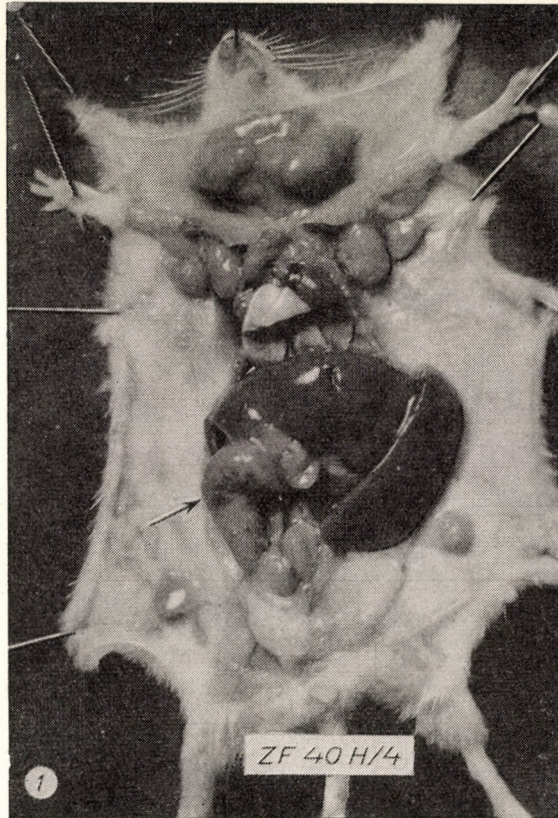


Abb. 1. Chloroleukämie einer Maus 7 Monate nach Injektion eines zellfreien Filtrats aus dem Tumor Sa II.

Nachdem wir in früheren Untersuchungen nachgewiesen hatten, daß die Wirkung unseres Leukämievirus von der genetischen Konstitution der Tiere weitgehend unabhängig ist [8], da es bei drei verschiedenen Inzuchtstämmen ungefähr die gleiche Leukämiequote auslöst (40–60%) und außerdem sowohl auf neugeborene Tiere als auch in abgeschwächtem Maße auf erwachsene Mäuse [9] wirksam ist (Tab. II), wandten wir uns der Frage der *Spezies-Spezifität* dieses Virus zu. Es wurde versucht, durch zellfreie Filtrate aus leukämischen Lymphknoten der Maus bei Ratten Leukämien zu erzielen [10] (Tab. III). Die Filtrate wurden neugeborenen Ratten subcutan, intra-

Tabelle II

	Tiermaterial	Tierzahl	Zahl der Leukämien	% Leukämien
Alter der Tiere bei der Filtrat- injektion	bis 24 Stunden	82	38	46
	2—11 Tage	89	38	42
	3—4 Monate	101	22	22
Unterschiedliche genetische Konstitution	Stamm AB	87	42	48
	Stamm sg	41	29	70
	Stamm db	51	21	41

Tabelle III

Leukämieerzeugung bei Ratten durch zellfreie Filtrate leukämischer Lymphknoten der Maus

	Tierzahl	Zahl der Leukosen	% Leukosen
Unbehandelte Kontrollratten (Wistarstamm).....	317	—	—
Behandelte Kontrollen (Filtrate von Ratten- tumoren).....	107	—	—
Filtrate aus leukämischen Lymphknoten der Maus an neugeborene Ratten.....	126	19	15

cerebral oder intraperitoneal appliziert, wobei hauptsächlich Wistartiere zur Anwendung gelangten, bei denen wir spontane Leukämien bisher überhaupt noch nicht beobachten konnten. 15% der mit Mäuseleukämiefiltrat behandelten Tiere erkrankten im Alter von 3—5 Monaten an einer tödlich verlaufenden, vorwiegend myeloischen Leukose, die in den meisten Fällen als intrathorakaler Tumor in Erscheinung trat, der Walnußgröße erreichte (Abb. 2). Diese Rattenleukosen waren gut transplantabel. Filtrate aus ihnen führten bei Ratten und Mäusen wiederum zu myeloischen Leukämien, die sich für den elektronenmikroskopischen Virusnachweis (s. später) im ultradünnen Schnitt als besonders günstig erwiesen. Damit war der Beweis erbracht, daß das Virus der myeloischen Leukämie der Maus eine breitere, über diese Spezies hinausgehende Wirksamkeit besitzt, und es wird von uns zur Zeit untersucht, ob auch andere in der phylogenetischen Reihe weiter entfernte Tierarten darauf ansprechen.

In einer weiteren Versuchsserie konnten wir einen interessanten Zusammenhang zwischen Viruswirkung und Milzfunktion nachweisen (Tab. IV). Durch eine *Splenektomie* unmittelbar vor oder nach der Filtratinjektion wird bei Mäusen die Leukämiequote stark herabgesetzt [11]. Eine Milzextirpation einige Wochen nach der Filtratverabfolgung läßt diesen Effekt nur andeutungsweise erkennen, und im späteren Alter ist sie völlig unwirksam. Der Mechanis-

mus dieser Milzwirkung ist uns noch weitgehend unbekannt. Es ist jedoch interessant, daß auch hinsichtlich der Erzeugung von myeloischen Mäuseleukämien durch Röntgenstrahlen eine ähnliche Wirkung der Splenektomie nachgewiesen werden konnte, während die Entstehung lymphatischer Strahlen-



Abb. 2. Intrathorakale Leukose bei einer Wistar-Ratte 5 Monate nach Injektion eines zell-freien Filtrats aus leukämischen Lymphknoten der Maus

Tabelle IV

Beziehung zwischen Filtratwirkung bei der Maus und Splenektomie

	Tierzahl	Zahl der Leukämien	% Leukämien
1. Kontrollen (ohne Splenektomie).....	73	53	73
2. Splenektomie kurz vor Filtratinjektion	24	2	8
3. Splenektomie 1—5 Tage nach Filtratinjektion	20	3	15
4. Splenektomie 1—2 Monate nach Filtratinjektion	26	14	54

leukämien durch eine Thymektomie weitgehend unterdrückt werden kann. Auf Grund unserer cytologischen und histologischen Untersuchungen wissen wir, daß Knochenmark und Milz wahrscheinlich die primären Angriffspunkte des Virus der myeloischen Mäuseleukämien sind. Zur Zeit wird von uns untersucht, ob durch die Injektion von Milzextrakten die negativen Auswirkungen einer Splenektomie im Hinblick auf die Viruswirkung wieder aufgehoben werden können.

Ich möchte nun einige Versuche zur *chemischen und physikalischen Charakterisierung des Leukämievirus* anführen [12]. Aus früheren Experimenten ergab sich seine Thermolabilität, corpusculäre Natur, Resistenz gegenüber Einfrierung und Glycerin, hohe Empfindlichkeit gegenüber Äther, Desoxycholsäure, Formalin und anderen Einwirkungen. In der letzten Zeit haben wir uns vor allem mit der Resistenz des Virus gegenüber verschiedenen Fermenten befaßt und nachweisen können, daß seine Wirksamkeit durch DNase und RNase auch bei kombinierter Wirkung beider Fermente überhaupt nicht beeinträchtigt wird, während eine sehr kräftige Trypsinbehandlung zu einer deutlichen Abschwächung der Wirkung führt. Daraus resultiert, daß es sich bei diesem Virus sicher nicht um eine freie Nukleinsäure handelt, sondern Eiweißsubstanzen und eventuell auch Lipotide als weitere Bausteine beteiligt sind. Mit chemisch isolierter DNS (Dodecylsulfatmethode) und RNS (Phenolmethode nach GIERER und SCHRAMM) konnten wir bis jetzt ebenfalls keine eindeutigen Resultate erzielen. Auch gegenüber einer UV-Bestrahlung mit der Wellenlänge 260 m μ ist eine um mindestens 2 Zehnerpotenzen geringere Empfindlichkeit vorhanden als bei dem aus reiner DNS bestehenden transforming principle der Bakterien, was gleichfalls gegen die reine Nukleinsäurenatur dieses Agens spricht.

Wir haben weiterhin unsere *immunologischen* Kenntnisse über das Leukämievirus zu erweitern versucht (Tab. 5). Bekanntlich konnten wir 1955 nachweisen, daß es spezifische Antigeneigenschaften besitzt und durch ein heterologes Antiserum vom Kaninchen inaktiviert wird [13], während Antiseren

Tabelle V

Immunologische Versuche mit dem leukämogenen Agens der Maus

Versuchsordnung	Tierzahl	Zahl der Leukämien	% Leukämien
Sa 1 — Filtrat + Anti-Sa 1 — Kaninchenserum (Kombiniert an neugeborene Mäuse)	155	7	5
Sa 1 — Filtrat + Kaninchen-Antiserum gegen normales Mäuseknochenmark	65	51	78
Leukämiefiltrat (bei der Geburt) + Anti-Leukämie-Kaninchenserum nach 1—2 Monaten (Therapieversuch)	85	46	54

gegen normales Mäusegewebe (Knochenmark, Lymphknoten) wirkungslos waren. Zunächst untersuchten wir, ob mit einem Kaninchenantiserum auch dann ein therapeutischer bzw. prophylaktischer Effekt erzielt werden kann, wenn das Serum nicht gleichzeitig mit dem Filtrat, sondern erst mehrere Wochen oder Monate später verabfolgt wird [14]. Eine derartige Wirkung konnte leider nicht nachgewiesen werden. Weiterhin wurde untersucht, ob auch bei homologer Immunisierung mit Filtraten, d. h. also bei der Maus spezifische Antikörper gegen das Virus erzeugt werden. Die Testung erfolgte in der Weise, daß das Mäuseimmunserum, kombiniert mit Filtrat, neugeborenen Mäusen appliziert wurde, also mit der gleichen Methode, die sich bei den Versuchen mit dem Kaninchenantiserum als sehr wirksam erwiesen hatte (Tab. V). Das Mäuseimmunserum zeigte nur einen geringen Inaktivierungseffekt, der sich in einer leichten Herabsetzung des Leukämieprozentsatzes und in einer Verlängerung der Latenzzeit äußerte. Auch Versuche einer aktiven Immunisierung von Mäusen, wobei durch Formalinzusatz oder längeres Stehen bei 0° abgeschwächtes Filtrat als Vakzine benutzt wurde, verliefen bis jetzt nicht sehr erfolgreich.

In den letzten Jahren haben wir uns intensiver mit *Züchtungsversuchen* unseres Virus in der *Geweb.kultur* und auf der *Chorioallantois* des Hühnereies beschäftigt [15, 16]. Es konnte zunächst festgestellt werden, daß das Virus auch in der Kultur von leukämischen Zellen laufend an die Nährflüssigkeit abgegeben wird, da diese, in filtriertem Zustand an neugeborene Tiere verimpft, selbst, nach mehreren Passagen leukämogene Wirkung erkennen läßt. Wichtiger sind jedoch Züchtungsversuche unter Verwendung der Chorioallantois des Hühnereies. Schon 1955 konnten wir nachweisen, daß in Klatschpräparaten der mit Filtrat beimpften Chorioallantois stark virusverdächtige Partikeln in Haufenformen mit Hilfe des Elektronenmikroskops nachweisbar sind, die einen Durchmesser von 40—60 $m\mu$ aufwiesen [17]. In der letzten Zeit stellten wir fest, daß nach einer ausreichenden Anzahl von Passagen der Virusnachweis mit Filtraten der beimpften Chorioallantois auch im Tierversuch möglich ist, indem nach Verimpfung an neugeborene Mäuse Leukämien auftraten. Diese Versuche werden von uns zur Zeit auf breiterer Grundlage wiederholt.*

Vorausgehend wurde schon auf den *elektronenmikroskopischen Nachweis* unseres *Leukämievirus* hingewiesen. Es handelte sich zunächst um virusverdächtige Partikeln in Ausstrichen von hochtourigen Sedimenten der Ascitesflüssigkeit vom leukämogen wirksamen Tumor Sa I und von der beimpften Chorioallantois. Speziell die Partikeln aus der Ascitesflüssigkeit hatten eine sehr charakteristische morphologische Struktur [18], indem sie eine zentrale Eindellung erkennen ließen, die auch Gross beim Virus der lymphatischen Mäuseleukämie 1956 beschrieben hat. Im vergangenen Jahr ist uns nun die elektronenmikroskopische Sichtbarmachung unseres Virus auch im ultradün-

* Siehe Anmerkung bei der Zusammenfassung

nen Schnitt gelungen [19], und zwar sowohl im Cytoplasma leukämischer Zellen aus den erkrankten Lymphknoten als auch außerhalb der Zellen im extrazellulären Raum (Abb. 3, 4). Die Teilchen, die einen Durchmesser von 60–90 $m\mu$ besitzen und von runder Gestalt sind, haben eine äußere Membran

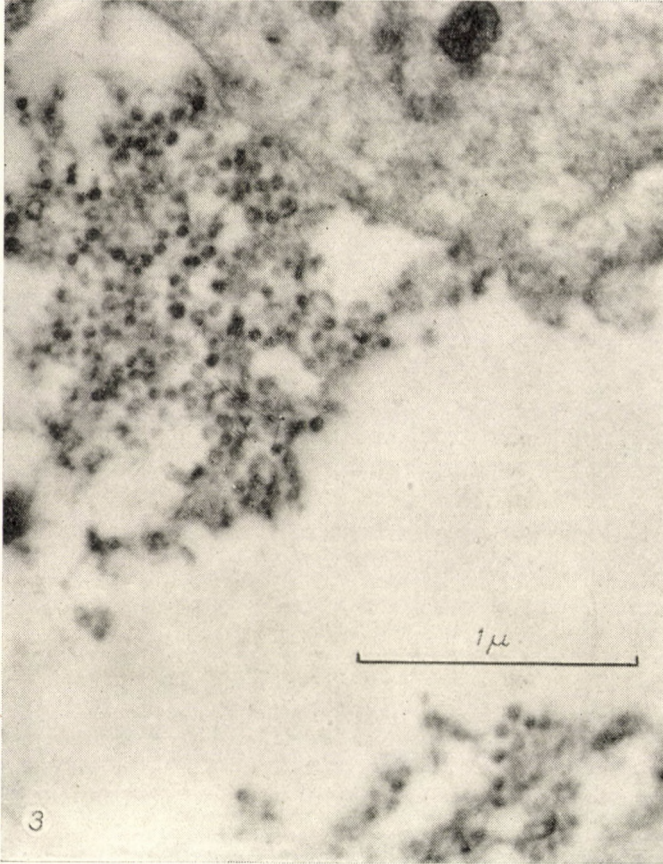


Abb. 3. Extrazelluläre virusverdächtige Partikeln im ultradünnen Schnitt eines leukämischen Lymphknotens der Maus. 32 000 \times

und einen inneren zentralen oder auch exzentrisch gelegenen dichteren Kern von ungefähr 30–40 $m\mu$ Durchmesser. Sie zeigen damit Ähnlichkeit mit dem Milchfaktor, Rous-Agens und den Viren der Hühnerleukämien. Vielfach findet man die Viruspartikeln auf der äußeren Oberfläche der Zellmembran in kleinen knopfartigen Ausstülpungen derselben. Möglicherweise sind dies Phasen der Virusausschleusung, die bekanntlich von OBERLING und BERNHARD [20] vor allem für das BITTNERsche Virus des Mamma-Karzinoms der

Maus beschrieben wurde. Allenfalls zeigen unsere elektronenmikroskopischen Untersuchungen recht eindeutig, daß es sich bei dem leukämogenen Agens in unseren Filtraten tatsächlich um ein echtes Virus konkreter Form und Struktur handelt.

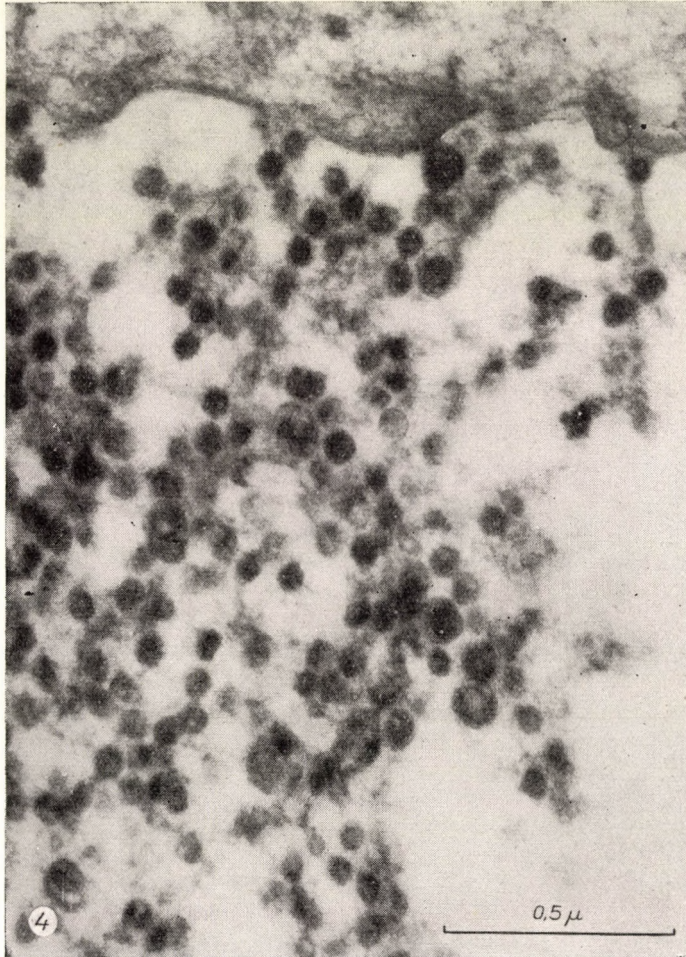


Abb. 4. wie Abb. 3 bei 80 000 facher Vergrößerung. In vielen Viruspartikeln sind die äußere Membran und eine Innenstruktur zu sehen

Zusammenfassend ergibt sich aus unseren Untersuchungen, daß auch die myeloische Leukämie der Maus durch ein Virus bedingt wird, wobei es besonders bemerkenswert ist, daß dieses Virus auch auf andere Spezies, z. B. auf die Ratte, wirksam ist, so daß man ihm möglicherweise fast den Charakter eines allgemeinen Leukämievirus zusprechen könnte. Wir erblicken in unseren

Befunden außerdem einen weiteren Beitrag zur Frage der Virusätiologie maligner Tumoren, da wir die Leukämien und Leukosen auch auf Grund unserer eigenen Untersuchungen als echte Geschwülste im Sinne eines Blastoms ansehen müssen.

Es ergibt sich die Frage, die bereits 1903 von BORREL [21] erstmalig gestellt wurde und in der Folge von einer Reihe sehr namhafter Wissenschaftler wie ROUS [22], OBERLING [23], GYE [24], BITTNER [25], SILBER [26], STANLEY [27] u. a. immer wieder diskutiert worden ist, ob nicht allen bösartigen Tumoren ein Virus als ursächlicher Faktor zugrunde liegt.

In Anbetracht der hohen Spezifität verschiedener chemischer Cancerogene, z. B. der wirksamsten cancerogenen Kohlenwasserstoffe wie Benzpyren, Methylcholanthren etc., von denen bereits Bruchteile eines mg bei verschiedenen Tierarten fast 100 %ig zu malignen Tumoren führen, möchten wir zu dieser Frage zunächst noch eine abwartende Stellung einnehmen. Die Annahme, daß diese Cancerogene einem ubiquitären, allgemeinen Tumovirus nur den Boden zu seiner Wirkung vorbereiten oder es aktivieren, erscheint mir vorerst zu hypothetisch trotz gewisser Analogien bei den Bakteriophagen lysogener Bakterienstämme. Wir bemühen uns daher um eine einheitliche Konzeption der Cancerogenese, bei welcher die Auslösung der Geschwulstbildung sowohl durch Viren als auch durch chemische oder physikalische Cancerogene verständlich wird, also der großen Heterogenität der onkogenen Reize Rechnung getragen wird.

Ich möchte mir erlauben, einige zunächst noch rein spekulative Gedankengänge zu diesem Fragenkomplex zu äußern.

Man könnte sich zum Beispiel vorstellen, daß der Generalnenner der Cancerogenese ganz allgemein im Auftreten neuer genetischer Materie in einer somatischen Zelle besteht. Hierbei ist in erster Linie an eine neue genetisch aktive Nukleinsäure zu denken [28, 38]. Es sind dabei beide Formen der Nukleinsäuren, nämlich DNS und RNS, in gleichem Maße in Betracht zu ziehen, da beiden genetische Bedeutung zugesprochen werden muß. Während die DNS das genetische Material der Chromosomen bildet, ist die RNS bekanntlich der wesentliche Determinant vieler Viren, z. B. des Tabakmosaikvirus etc., weiterhin der pflanzlichen Plastiden und der autoreduzierbaren Organellen (Mitochondrien, endozelluläres Reticulum usw.) des Cytoplasmas der tierischen Zelle. Auch das Rous-Agens und die Viren der Hühnerleukosen enthalten ausschließlich RNS [29, 30, 31]. Wir haben jedoch heute ausreichenden Grund zu der Annahme, daß eine genetisch wirksame RNS in der Zelle im Zuge ihrer Matrizenfunktion auch auf die DNS einen Einfluß ausüben kann und selbstverständlich auf die Konfiguration und die funktionellen Eigenschaften der Proteine, die ja unter ihrer unmittelbaren Mitwirkung entstehen. Folgendes Schema einer gegenseitigen Beeinflussung der genetischen Matrizen der Zelle und ihrer primären oder sekundären Produkte ist durchaus diskutierbar :

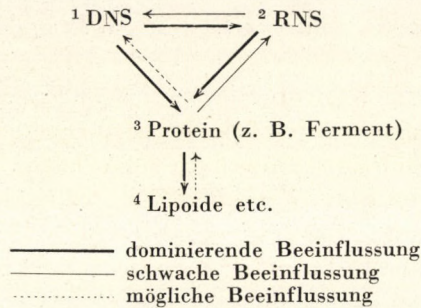


Abb. 5. (s. Text)

Auf Grund dieses Schemas würde sich ergeben, daß eine Änderung der genetischen Eigenschaften einer Zelle — wie dies für die Tumorzellen als neue Zellrasse a priori angenommen werden muß — am leichtesten dadurch zustandekommt, daß ein neues Nukleinsäuremuster (DNS oder RNS) entsteht oder von außen in die Zelle aufgenommen wird. Andererseits bleibt jedoch die Möglichkeit offen, daß eine primär abnorme RNS (z. B. Virus) auch die DNS der Zelle beeinflusst und außerdem gleichzeitig neue Proteinmuster erzeugt. Weiterhin würden diese abgeänderten Nukleinsäuren entweder direkt oder sekundär auf dem Wege einer primären strukturellen Abänderung von Proteinen oder Lipoiden entstehen können. Damit wäre die Möglichkeit gegeben, daß genetische Änderungen in der Zelle auf verschiedenen Wegen, d. h. über sehr unterschiedliche primäre Angriffspunkte (DNS, RNS, Proteine, Lipoiden) zustande kommen können, womit die Heterogenität cancerogener Reize eventuell verständlich wird.

Es wurde bereits erwähnt, daß einer Abänderung des zellulären Bestandes an Nukleinsäuren wegen ihrer direkten genetischen Wirkung allenfalls die erstrangige Bedeutung zukommen dürfte. Bei einer Virusinfektion der Zelle würde dieser Zustand unmittelbar auftreten, da nach unserem heutigen Wissen genetisch wirksame Nukleinsäuren (DNS oder RNS) in allen Fällen die wesentlichen Bestandteile der Viren sind (s. Versuche von GIERER und SCHRAMM [32] und FRAENKEL—CONRAT [33] mit reiner RNS vom Tabakmosaik-Virus). Bei den chemischen und physikalischen Cancerogenen kann mit gutem Grund eine Änderung des zellulären Bestandes an genetisch wirksamen Nukleinsäuren durch einen Mutationsvorgang (K. H. BAUER [34]) angenommen werden, gleichgültig ob diese Mutation durch eine direkte oder indirekte Wirkung (über Proteine und Lipoiden) des betreffenden Cancerogens auf die Nukleinsäuren zustande kommt. Auch hierbei ist in gleichem Maße sowohl an die RNS der Chromosomen als auch an die RNS des Kerns (Nukleolus) und vor allem der cytoplasmatischen Organellen: System der aus Lipoid-Ribonukleoproteiden aufgebauten Doppelmembranen (Mitochondrien, endozelluläres Reticulum, Golgi-Apparat etc.) zu denken, in welchen speziell die lipoidlöslichen

Cancerogene wie z. B. die polyzyklischen Kohlenwasserstoffe besonders stark angereichert werden [35].

Wenn man die Folgen, die eine abnorme Nukleinsäure mit Matrizenfunktion in der Zelle haben dürfte (Synthese abgeänderter Proteine, z. B. Fermente, abnorme Lipoid-Eiweißkomplexe etc.), bedenkt, gleichgültig ob diese auf dem Wege einer Mutation entstanden ist oder als exogene Nukleinsäure durch die Infektion mit einem Virus in die Zelle gelangte, so lassen sich viele Eigenschaften der Tumorzelle ziemlich zwanglos erklären. Die Erblichkeit der malignen Eigenschaften ist durchaus verständlich, da ja auch die als Virus eingebrachte Nukleinsäure sich im Zuge der Zellteilung vermehrt und auf die Tochterzellen verteilt. Es wird weiterhin die verminderte Korrelationsfähigkeit (Korrelationstauheit) und gesteigerte Autonomie der Tumorzelle verständlich, da die abgeänderten Nukleinsäure- und Eiweißmuster zwangsläufig zu einer verminderten Ansprechbarkeit der Zelle auf alle humoralen und geweblichen korrelativen Kräfte des Organismus führen müssen, durch welche die normalen Zellfunktionen und vor allem auch die zelluläre Wachstumsleistung reguliert werden. Schließlich kann angenommen werden, daß sich eine abnorme, genetisch wirksame Nukleinsäure auch auf die morphologische Feinstruktur der Zelle im Sinne einer Störung derselben auswirkt. Es ist dabei gleichgültig, ob die strukturelle Minderwertigkeit, die sich auch in der Funktion und im Zellstoffwechsel zeigen muß, unmittelbar durch die abnorme Nukleinsäure bedingt wird, die ja auch als wichtiges morphologisches Strukturelement der Zelle anzusehen ist, oder die Folge einer abgeänderten Protein- und Lipidsynthese darstellt. Bekanntlich zeigt die Tumorzelle auch auf Grund der elektronenmikroskopischen Untersuchungen verschiedene Anomalien ihrer Feinstruktur [36, 37], die vor allem die cytoplasmatischen Doppelmembranen betreffen (Mitochondrien, Ergastoplasma, endozelluläres Reticulum) und die alle im Sinne einer Strukturschädigung und strukturellen Minderwertigkeit zu deuten sind. Gerade auch bei einer Virusinfektion kann angenommen werden, daß die neueingeführte Nukleinsäure in den Verband der zelleigenen Nukleinsäuren (RNS oder DNS) einbezogen wird und damit am Aufbau der NS-haltigen Zellbestandteile (Mitochondrien, Kerne etc.) unmittelbar beteiligt ist und auf Grund ihrer Zellfremdheit submikroskopische Strukturfehler dieser hochorganisierten Zellelemente veranlaßt. Es ist nämlich ziemlich sicher, daß nur ein relativ kleiner Anteil der Virusnukleinsäure in Form charakteristischer infektiöser Viruspartikeln vorliegt und der größere Anteil in morphologisch nicht faßbarer Form in die Strukturelemente der Zelle selber eingeht. Damit erklärt sich auch die Tatsache, daß bei Virustumoren elektronenmikroskopisch nur in einer Minderzahl der Zellen und nur bei ganz bestimmten Zelltypen (Differenzierungsgrad, Alter etc.) charakteristische Viruspartikeln nachgewiesen werden können (bei Shope-Papillomen zum Beispiel nur in den verhornten Zellen!) [38].

Die strukturelle Minderwertigkeit der Tumorzelle ist auch aus verschiedenen biologischen Eigenschaften zu entnehmen, ihrer besonderen Hinfälligkeit, Labilität und Empfindlichkeit z. B. gegenüber Wärme, Strahlen, Nahrungsmangel (schnelle Nekrose) etc.

Es ist nun nicht uninteressant, daß man gerade von der Grundlage dieser strukturellen Minderwertigkeit der Tumorzelle aus eventuell in der Lage ist, auch deren charakteristische Stoffwechseleigenschaft, nämlich ihre abnorm hohe und autonome aerobe und anaerobe Glykolyse zu verstehen [39, 40, 28].

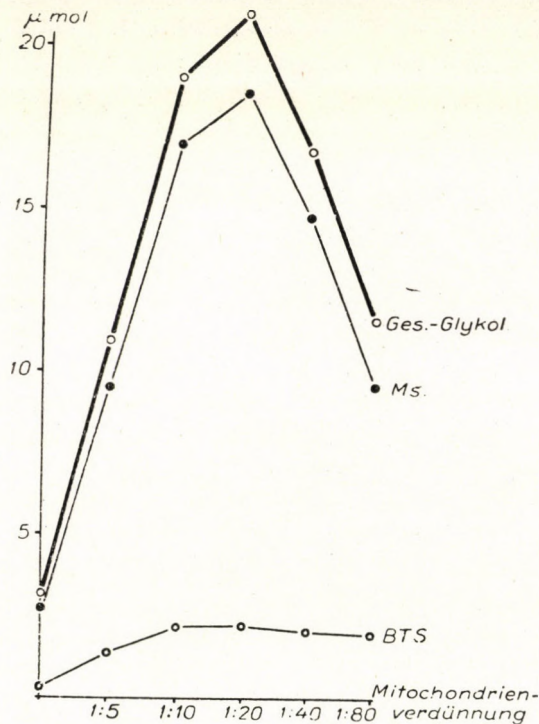


Abb. 6. Steigerung der anaeroben Glykolyse (Ordinate) eines hochtourigen Homogenisatüberstandes vom Sarkom S37 durch verschiedene Mitochondrienmengen (Verdünnungsstufen auf der Abszisse) aus Ehrlich-Ca. MS = Milchsäurebildung(h)Warburggefäß in μ mol. BTS = Brenztraubensäurebildung(h)Warburggefäß. Ges. Glykol. = Gesamtglykolyse. O = Ansatz ohne Mitochondrienzugabe

Wir konnten nachweisen, daß durch strukturgeschädigte Mitochondrien oder Mikrosomen die Glykolyse eines hochtourigen Gewebsextrakts stark gesteigert wird (Abb 6) (maximal um das 5–10 fache) [40]. Wir glauben, daß dieser Effekt vorwiegend auf die ATPase-Aktivität der strukturgeschädigten Zellorganellen zurückzuführen ist. In normalen Zellen ist die ATPase dieser Zellstrukturen völlig latent, womit der Glykolyse ein Riegel vorgeschoben wäre. Dagegen wird sie sehr schnell im Zuge der mannigfachen Strukturschädigungen aktiv,

und dies kann auch für eine Strukturschädigung innerhalb der Zelle in gleicher Weise wie *in vitro* angenommen werden. Auch die sogenannte Schädigungsglykolyse von normalen Geweben, die in wenigen Minuten nach erfolgter Schädigung einsetzt (z. B. nach kurzer Anaerobiose), dürfte z. T. durch eine Steigerung der intrazellulären ATPase-Aktivität infolge Strukturschädigung der Zellorganellen zustande kommen.

Eine zweite Möglichkeit bestünde darin, daß die erhöhte Glykolyse geschädigter Zellen auf eine erhöhte Glukosedurchlässigkeit der äußeren Zellmembran zurückzuführen ist. In diesem Fall müßte der gleiche Mechanismus auch für die Tumorglykolyse in Betracht gezogen werden und eine irreversible Strukturschädigung der äußeren Membran der Tumorzelle als wesentliches Element der Malignität angenommen werden. Die vorausgehend postulierte strukturelle Minderwertigkeit der Tumorzelle infolge einer abnormen Nukleinsäure wäre also auf die Zellmembran auszuweichen, was keinerlei gedankliche Schwierigkeiten bereiten dürfte, da die äußere semipermeable Zellmembran wahrscheinlich einen den inneren cytoplasmatischen Membranen sehr ähnlichen chemischen und feinstrukturellen Aufbau haben dürfte (evtl. ebenfalls Mosaik aus Lipoiden und Nukleoproteiden).

Von der autonomen Glykolyse der Tumorzelle aus ist es nun relativ leicht, die verschiedenen Stoffwechsel- und Wachstumsqualitäten derselben verständlich zu machen [41, 42]. Durch das Mißverhältnis zwischen Atmung und Glykolyse muß es zwangsläufig

1. zu einer starken Stauung von halb oxydierten Zwischenprodukten des Citronensäurezyklus (Oxy- und Ketosäuren) kommen, so daß ein hoher Überschuß an Bausteinen für die Eiweiß-, Nukleinsäure- und Lipoidsynthese zur Verfügung steht, woraus ein starker Wachstumsdruck resultieren muß [43, 44].

2. Das stark erhöhte Reduktionspotential, das durch das Übergewicht der Gärung bedingt wird (sichtbarer Ausdruck dieser Situation ist die Tatsache der Milchsäurebildung, d. h. die Brenztraubensäure wird selber zum Akzeptor für den von der Atmung nicht mehr zu bewältigenden Substrat-Wasserstoff), dürfte wesentlich dazu beitragen, daß a) die Aminosäurebildung aus Oxysäuren auf dem Wege der reduktiven Aminierung gefördert wird, b) das Gleichgewicht zwischen Ribose und Desoxyribose zugunsten der letzteren verschoben wird, womit die Synthese der DNS und damit der das Wachstum wahrscheinlich limitierenden Zellsubstanz aktiviert wird [42].

3. dürften meiner Meinung nach eventuell auch gewisse Besonderheiten des Gärungs-ATP gegenüber dem Atmungs-ATP für das spezielle Verhalten der Tumorzelle von Bedeutung sein [42]. Während das ATP der Atmung, das durch oxydative Phosphorylierung innerhalb der Mitochondrien gebildet wird (strukturgebundenes ATP nach WARBURG), nur begrenzte Beweglichkeit hat, da es zum großen Teil innerhalb der Membranen dieser Zellorganellen festgehalten und für intramitochondriale Funktionen und Synthesen verbraucht wird, ist das im strukturlosen Grundplasma durch die Glykolyse entstehende ATP durch Diffusion völlig frei beweglich. Wir glauben, daß damit eine günstigere Versorgung des Zellkerns mit diesem Energiematerial verbunden sein könnte und damit eine Förderung der innerhalb des Kerns sich abspielenden

synthetischen (Wachstum) und Bewegungsfunktionen (Mitose etc.) erfolgt. Außerdem dürften auch die verschiedensten Bewegungsvorgänge im Cytoplasma (amöboide Bewegung beim infiltrativen und destruktiven Wachstum, Zellteilung) eine positive Beeinflussung erfahren, da ja auch hierfür leicht diffusibles, nicht strukturgebundenes ATP für die kontraktile Elemente (Proteine) des Grundplasmas erforderlich ist. Auch bei den sich sehr intensiv bewegenden Leukozyten und Makrophagen findet man eine hohe Glykolyse, desgleichen bei der sich kontrahierenden Muskelzelle!

Schließlich kann auf Grund neuester Untersuchungen von SCHEID [45] angenommen werden, daß der Milchsäure, die bei der Gärung im Tumor entsteht, eine besondere Bedeutung für die Bereitung günstiger Ernährungsbedingungen für die Geschwulstzellen zukommt, indem durch sie in spezifischer Weise das lokale Gefäßnetz im Sinne einer günstigen Nahrungszufuhr beeinflußt wird. Damit würden durch die autonome Glykolyse des Tumors praktisch alle intra- und extrazellulären Bedingungen geschaffen werden, die für ein autonomes und gesteigertes Wachstum erforderlich sind.

Auf den zunächst rein hypothetischen Charakter dieser Betrachtungen über eine mögliche Wirkungsweise von onkogenen Viren und chemischen und physikalischen Cancerogenen möchte ich jedoch abschließend nochmals ausdrücklich hinweisen.

Anmerkung: In der letzten Zeit ist uns eine Züchtung des Virus auf Trypsinkulturen von Mäuseembryo gelungen (Graffi, Gimmy, u. Krause, Naturwiss. 1959. 330.). Die zellfreie Kulturflüssigkeit erzeugt bei Ratten in 4—8 Wochen in sehr grosser Zahl Nieren- und Knochensarkome. Im Gegensatz zum Polyoma-Virus von Stewart und Eddy, gibt unser polyvalentes Sa-Virus einen negativen Hämagglutinationstest. In der Kultur findet man cytoplasmatische Einschlusskörperchen und einen starken cytopathogenen Effekt.

Zusammenfassung

Ähnlich wie L. GROSS und BERGOLZ gelang dem Vortragenden und seinen Mitarbeitern die zellfreie Übertragung bestimmter Mäuseleukämien. Das Virus wurde in verschiedenen transplantablen Mäusetumoren und in den Organen, speziell den Lymphknoten leukämiekranker Tiere nachgewiesen. Die zellfreien Filtrate wurden sowohl an neugeborene als auch erwachsene Tiere mit Erfolg appliziert. Bei den Leukämien handelt es sich ausschließlich um myeloische Formen. Die Filtrate sind auch bei der Ratte, also heterolog wirksam. Durch Splenektomie wird die Wirkung des leukämogenen Virus fast völlig aufgehoben. Die Isolierung dieses wahrscheinlich humoralen Milzfaktors wurde in Angriff genommen. Das Virus hat spezifische Antigeneigenschaften und wird durch ein heterologes Antiserum inaktiviert. Es wird von den Leukämiezellen auch in der Gewebekultur laufend produziert, da die filtrierte Nährlösung starke leukämogene Wirkung besitzt. — Außerdem gelang die Züchtung des Virus auf der Chorio-allantois des Hühnereies. Das Virus ist sehr empfindlich gegen höhere Temperaturen (65°), Formalin, Äther, Desoxycholsäure; weniger empfindlich gegen Trypsin, Glycerin und UV-Strahlen und weitgehend resistent gegen DN-ase, RN-ase und Lipase. RNS und DNS aus dem leukämischen Gewebe sind völlig unwirksam. Das Virus konnte elektronenoptisch in ultradünnen Schnitten leukämischer Lymphknoten in Form runder Partikel von 60—90 μ Durchmesser mit charakteristischer Innenstruktur nachgewiesen werden.

Es wird der Versuch unternommen eine einheitliche Konzeption der Onkogenese zu entwerfen. Dabei wird als Generalnennen das Auftreten einer neuen genetisch wirksamen Nukleinsäure (RNS oder DNS) in einzelnen Zellen angenommen. Dieser Zustand kann entweder auf dem Wege einer Mutation durch ein chemisches oder physikalisches Cancerogen oder durch die zelluläre Infektion mit einem Virus zustande kommen. Die abnorme Nukleinsäure vermindert die normale Ansprechbarkeit der Zellen auf die korrelativen Wachstums-

kräfte und führt zur Autonomie. Außerdem wird durch das abnorme genetische Substrat eine Minderwertigkeit und Hinfälligkeit der morphologischen Feinstruktur mit erblichem Charakter bedingt. Als Folge dieser strukturellen Labilität speziell der cytoplasmatischen Doppelmembranen (Mitochondrien, Mikrosomen, Ergastoplasma, etc.) kann eine gesteigerte aktuelle ATPase-Aktivität in der Zelle angenommen werden, durch welche eine irreversible Steigerung der Glykolyse hervorgerufen wird. Die gesteigerte Glykolyse schafft alle weiteren wichtigen Voraussetzungen für die gesteigerte Wachstumstätigkeit und Zellvermehrung.

LITERATUR

1. GRAFFI, A., H. BIELKA, F. FEY, F. SCHARSACH und R. WEISS: (1954) Gehäuftes Auftreten von Leukämien nach Injektion von Sarkomfiltraten. *Naturwiss.* 41, 503; (1954) *Wiener med. Wschr.* 105, 61. — 2. GRAFFI, A., H. BIELKA und F. FEY: (1956) Leukämieerzeugung durch ein filtrierbares Agens aus malignen Tumoren. *Acta haematol.* 15, 145. — GRAFFI, A., F. FEY und H. BIELKA: (1956) Experimentelle Leukämieerzeugung durch zellfreie Geschwulstfiltrate. *Klin. Wschr.* 34, 15. — GRAFFI, A.: (1957) Vortrag auf dem VI. Hämatologen-Kongreß Kopenhagen. — 3. GRAFFI, A. und F. SCHMIDT: (1954) Methodische Versuche zur Frage einer subzellulären Übertragung von Mäusetumoren. *Dtsch. Gesundheitswes.* 9, 1309. — 4. SCHMIDT, F.: (1954) Über die Entstehung von lymphoiden Tumoren bei Experimenten auf der Basis der Induktionstheorie der Krebsentstehung. *Naturwiss.* 41, 504. — 5. GROSS, L.: (1954) "Spontaneous" leukemia developing in C3H mice following inoculation in infancy with AK-leukemic extracts or AK embryos. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 76, 27 (1951); Biological properties of the mouse leukemia agent. *Cancer* 6, 153 (1953); Transmission of Ak leukemic agent into newborn mice of the 657 brown/red inbred line. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 86, 734. — 6. GRAFFI, A., F. FEY und H. BIELKA: (1956) Induction of leukemia in mice by cell-free filtrates of sarcomas and carcinomas. *The Alexandria med. J.* 2, 167. — 7. KRISCHKE, W., A. GRAFFI und E. KRISCHKE: (1957) Untersuchungen über eine Anreicherung des leukämogenen Agens aus Mäusetumoren im Gehirn (16. Mitt.). *Naturwiss.* 44, 400. — 8. KRISCHKE, W., A. GRAFFI und E. HEYER: (1956) Untersuchungen über die Ansprechbarkeit genetisch verschiedener Mäusestämme auf zellfreie Filtrate maligner Tumoren. *Naturwiss.* 43, 332. — 9. GIMMY, J., W. KRISCHKE und A. GRAFFI: (1956) Über die leukämieerzeugende Wirkung zellfreier Tumorfiltrate nach Injektion in erwachsenen Mäusen. *Naturwiss.* 43, 305. — 10. GRAFFI, A. und J. GIMMY: (1958) Erzeugung von Leukosen bei der Ratte durch ein leukämogenes Agens der Maus (17. Mitt.). *Naturwiss.* 44, 518. (1957); Über die Wirkung des Virus der myeloischen Leukämie der Maus bei der Ratte. *Z. ges. inn. Med. Grenzgebiete* 13, 881. — 11. FEY, F. und A. GRAFFI: (1958) Beeinflussung der myeloischen Filtrateukämien der Maus durch Splenektomie. *Naturwiss.* 45, 471. — 12. GRAFFI, A., H. BIELKA, F. FEY und U. HEINE: (1955) Untersuchungen zur weiteren Charakterisierung des leukämieerzeugenden Agens in zellfreien Sarkomfiltraten der Maus. *Naturwiss.* 42, 421. — GRAFFI, A., F. FEY, H. BIELKA, U. HEINE und F. HOFFMANN: (1956) Weitere Untersuchungen zur Charakterisierung des leukämieerzeugenden Agens aus Mäusetumoren: *Naturwiss.* 43, 63. — BIELKA, H., A. GRAFFI und W. KRISCHKE: (1957) Zur Frage der Beteiligung von Nucleinsäuren an der chemischen Zusammensetzung des leukämogenen Agens aus filtrierbaren Mäusetumoren (14. Mitt.). *Naturwiss.* 44, 381. — GRAFFI, A. und H. BIELKA: (1957) Zum Verhalten des leukämogenen Agens aus filtrierbaren Mäusetumoren gegenüber Glycerin und Gefrier-trocknung (15. Mitt.). *Naturwiss.* 44, 382. — GRAFFI, A.: (1957) Chloroleukemia of mice. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 68, 540. — BIELKA, H.: (1957) Über die onkogene Wirkung zellfreier Filtrate transplantabler Mäusetumoren und einige Versuche zur Charakterisierung des wirk-samen Agens. *Sonderbd. 37 zur Strahlentherapie: Krebsforsch. u. Krebsbekämpfung*, 2, 111. — 13. GRAFFI, A. und F. FEY: (1955) Untersuchungen über die Antigen-Eigenschaften des leukämieerzeugenden Faktors aus dem Mäusetumor Sa I. *Naturwiss.* 42, 652. — FEY, F.: (1956) Beiträge zur Charakterisierung und Genese der nach Injektion zellfreier Tumorfiltrate auftretenden Leukämien der Maus. *Dissertation*, Jena. — GRAFFI, A., F. FEY, F. HOFFMANN und W. KRISCHKE: (1957) Inaktivierung des leukämieerzeugenden filtrierbaren Agens aus Mäusetumoren durch heterologe Immunsereen. *Klin. Wschr.* 35, 465. — 14. GRAFFI, A., F. FEY und F. HOFFMANN: (1956) Weitere Untersuchungen zur immunologischen Charakterisierung des Agens der myeloischen Leukämie der Maus. *Naturwiss.* 45, 471. — 15. GRAFFI, A., F. FEY, H. BIELKA, U. HEINE und F. HOFFMANN: (1956) Weitere Untersuchungen zur Charakterisierung des leukämieerzeugenden Agens aus Mäusetumoren. *Naturwiss.* 43, 63. — GRAFFI, A.: (1958) Experimentelle Untersuchungen zur Ätiologie der Leukämien. *Z. ges. inn. Med. Grenzgebiete*, 13, 961. — 16. GRAFFI, A., U. HEINE, L. KRAUSE und L. KRÜGER: unveröffentlicht. — 17. GRAFFI, A.: (1957) Experimentelle Cancerogenese. *Abhandl. Dtsch. Akad. Wiss. Bln., Kl. f. Med., Jahrg. 1955, Nr. 1.* — 18. GRAFFI, A., F. FEY und H. BIELKA:

- (1956) Induction of leukemia in mice by cell-free filtrates of sarcomas and carcinomas. *The Alexandria med. J.* 2, 167. — 19. HEINE, U., A. GRAFFI, J.—G. HELMCKE and A. RANDT: (1957) Virusartige Partikeln in zellfrei übertragbaren Mäuseleukämien (13. Mitt.). *Naturwiss.* 44, 449. — GRAFFI, A.: (1958) Zur Virusätiologie verschiedener Mäuseleukämien. *Acta haematol.* 20, 49. — 20. BERNHARD, W., M. GUÉRIN und CH. OBERLING: (1956) Mise en évidence de corpuscules d'aspect viral dans différentes souches de cancers mammaires de la souris. Étude au microscope électronique. *Acta univ. intern. cancer.* 12, 544. — 21. BORREL, A.: (1954) zit. von Ch. Oberling und M. Guérin. in: *Adv. Cancer Res.* 2, 353. — 22. ROUS, P.: (1936) The virus tumor and the tumor problem. *Amer. J. Cancer*, 28, 233. — 23. OBERLING, CH. und M. GUÉRIN: (1954) The role of viruses in the production of cancer. *Adv. Cancer Res.* 2, 353. — 24. GYE, W. E. und W. J. PURDY: (1931) The cause of cancer. Cassell & Co., London. — 25. BITTNER, J. J.: (1945) Inciting influences in the aetiology of mammary cancer in mice. A. A. S., Res. Conference on Cancer 1944, Lancaster, Pa. Science Press Publ. Co. pp. 63—96. — 26. Зильбер, Л. А.: (1954) Об этиологии и патогенезе раковой болезни в свете вирусологического и иммунологического эксперимента. *Клин. Мед. СССР.* 32, (3), 9. — 27. STANLEY, W. M.: (1957) Beziehungen zwischen Viren und Krebs. *Naturwiss. Rdsch.* 10, 401. — 28. GRAFFI, A.: (1958) Experimentelle Untersuchungen zur Ätiologie der Leukämien. *Z. ges. inn. Med. Grenzgebiete*, 13, 961. — 29. CLAUDE, A.: Particulate components of normal and tumor cells. *Science (New York)*, 1940, 77. — 30. BEARD, J. W. und Mitarb.: (1958) persönliche Mitteilung. — 31. BATHER, R.: (1957) The nucleic acid of partially purified Rous No. 1 sarcoma virus. *Brit. J. Cancer*, 11, 611. — 32. GIERER, A. und G. SCHRAMM: (1956) Die Infektiosität der Nucleinsäure aus Tabakmosaikvirus. *Z. Naturforsch.* 11b, 138. — 33. FRAENKEL—CONRAT, H.: (1956) The role of the nucleic acid in the reconstitution of active tobacco mosaic virus. *J. Amer. chem. Soc.* 78, 882. — 34. BAUER, K. H.: (1949) Das Krebsproblem. Springer-Verlag. — 35. GRAFFI, A.: (1939, 1940, 1941) Zelluläre Speicherung cancerogener Kohlenwasserstoffe. *Vorl. Mitt. Z. Krebsforsch.* 49, 477. Intrazelluläre Benzpyrenspeicherung in lebenden Normal- und Tumorzellen. 2. Mitt. *Z. Krebsforsch.* 50, 196.; Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen der Mäusehaut nach Pinselung mit Benzpyren-Benzollösungen. *Z. Krebsforsch.* 52, 165. — 36. OBERLING, CH., W. BERNHARD, A. GAUTIER und F. HAGUENAU: (1953) Les structures basophiles du cytoplasme et leurs rapports avec les cancers. Étude au microscope électronique. *Presse méd.* 61, 719. — 37. HOWATSON, A. F. und A. W. HAM: (1955) Electron microscope study of sections of two rat liver tumors. *Cancer Res.* 15, 62. — 38. MELLORS, R. C.: (1958) Viruses, genes, and cancer. *Federation Proc.* 17, 714. — 39. GRAFFI, A.: (1956.) Experimentelle Untersuchungen zur Frage der Beziehungen zwischen Virus und Geschwulstbildung. *Berliner Med.* 7, 418. — (1957) Über Beziehungen zwischen Virus und Geschwulstbildung. *Strahlentherapie* 104, 197.; — (1957) Chloroleukemia of mice. *Ann. New York Acad. Sci.* 68, 540. — 40. GRAFFI, A. und E. J. SCHNEIDER: (1956, 1956) Die Mitochondrien als wichtige Regulatoren der anaeroben Glykolyse. *Z. ärztl. Fortbild.* 50, 760. — Über die Beziehungen der Mitochondrien zur anaeroben Glykolyse. *Naturwiss.* 43, 376. — GRAFFI, A., E. J. SCHNEIDER und G. SYDOW: (1956) Stimulierung der anaeroben Glykolyse durch das Virus der Hühnermyeloblastose. *Naturwiss.* 43, 472. — 41. GRAFFI, A., E. J. SCHNEIDER und G. SYDOW: (1956) Über die mögliche Bedeutung der strukturgebundenen ATPase bei regenerativen Wachstumsvorgängen und der malignen Entartung. *Z. ärztl. Fortbild.* 50, 1026. — 42. GRAFFI, A.: (1958) Wirusy i powstawanie nowotworów (Viren und Entstehung von Neoplasmen). *Nowotwory (Polen)*, 8, 159. — 43. POTTER, V. R.: (1951) Studies on the reaction of the Krebs citric acid cycle in tumor, with homogenates, slices, and in vivo technics. *Cancer Res.* 11, 565. — 44. LETTRÉ, H.: (1953) Der Stand der Krebsforschung. *Die Medizinische*, 1953, 897. — 45. SCHEID, P.: (1958) persönliche Mitteilung.

ВИРУС, КАК ПРИЧИНА МИЭЛОИДНОЙ ЛЕЙКЕМИИ У МЫШЕЙ И КРЫС

А. ГРАФФИ

Автору и сотрудникам — подобно Л. Гроссу и Бергольцу — удалось провести бесклеточную передачу определенных лейкозов мышей. Вирус был выявлен в различных персаживаемых опухолях мышей, также как и в органах страдающих лейкомией животных, в частности в лимфатических узлах. Бесклеточные фильтраты были успешно применены, как на новорожденных, так и на взрослых животных. Речь шла всегда о миелоидных формах лейкомий. Фильтраты оказались эффективными также у крыс, значит они гетерологично эффективны. Удалением селезенки действие лейкогенного вируса было

почти совершенно прекращено. Авторы приступили к изоляции этого предположительно гуморального селезеночного фактора. Вирус имеет специфические антигенные свойства и инактивируется гетерологичной противосывороткой. Он постоянно производится лейкоэмическими клетками, также и в тканевых культурах, так как фильтрованный питательный раствор обладает сильным лейкоэмическим действием. Кроме этого удалось выращивание этого вируса также на хорионаллантоидной мембране куриного яйца. Вирус весьма чувствителен в отношении более высоких температур (65°C), далее к формалину, эфиру и дезоксиголевой кислоте. Он менее чувствителен к трипсину, глицерину и ультрафиолетовым лучам, весьма резистентный в отношении дезоксирибонуклеазы, рибонуклеазы и липазы. Рибонуклеиновая кислота и дезоксирибонуклеиновая кислота лейкоэмической ткани совершенно неэффективны. Вирус был выявлен электроннооптическим методом в ультратонких срезах лейкоэмических лимфатических узлов, в форме круглых частичек диаметром $60-90\text{ m}\mu$ с характерной внутренней структурой.

Авторы попытались составить однородную формулировку онкогенеза. При этом они в качестве общего знаменателя принимают появление в отдельных клетках новой, генетически эффективной нуклеиновой кислоты (рибонуклеиновой кислоты или дезоксирибонуклеиновой кислоты). Это состояние может возникнуть либо путем мутации посредством химического или физического канцерогенного вещества, либо путем вирусной инфекции клетки. Ненормальная нуклеиновая кислота снижает нормальную реактивную способность клеток в отношении коррелятивных сил роста и приводит к автономии. Кроме того ненормальный генетический субстрат обуславливает неполноценность и неустойчивость морфологической тонкой структуры с наследственным характером. Как следствие этой структурной неустойчивости, в частности цитоплазматических двойных мембран (митохондрий, микросомов, эргастроплазмы и т. д.), можно предполагать повышенную актуальную аденозинтрифосфатазную активность в клетке, обуславливающую необратимое повышение гликолиза. Повышенный гликолиз создает все дальнейшие важные предпосылки для повышенного процесса роста и для размножения клеток.

A VIRUS AS THE CAUSE OF MYELOID LEUCAEMIA IN THE MOUSE AND RAT

A. GRAFFI

Just like L. GROSS and BERGOLZ, GRAFFI et al. succeeded in transferring certain kinds of mouse leucaemia with cell-free media. The virus was demonstrated in various transplantable mouse tumours and in the viscera, especially in the lymph nodes, of animals suffering from leucaemia. The cell-free filtrates proved to be effective in newborn and adult animals alike. The leucaemia was exclusively of the myeloid type. Since the filtrates cause disease also in the rat, the transfer is heterologous. Splenectomy almost completely inhibits the leucaemia-inducing activity of the virus. Attempts have been made to isolate this splenic factor of apparently humoral nature. The virus has specific antigenic properties and is inactivated by a heterologous antiserum. It is produced continually by the leucaemic cells even in tissue cultures, because the filtered culture medium is highly leucaemogenic. Moreover, the virus was successfully grown on the chorio-allantoic membrane of the embryonated hen's egg. The virus is very sensitive to high temperature (65°C), formalin, ether, desoxycholic acid, and less sensitive to trypsin, glycerol and ultraviolet rays. It is greatly resistant to DN-ase, RN-ase and lipase. RNA and DNA from leucaemic tissue are wholly inactive. The virus could be demonstrated by electron microscopy in ultra-thin sections of leucaemic lymph nodes, as round particles 60 to $90\text{ m}\mu$ in diameter, with characteristic inner structure.

Attempts have been made to offer a uniform conception to explain oncogenesis. The appearance of a new genetically active nucleic acid (RNA or DNA) in certain cells is suggested as a factor. This may result either from mutation caused by a chemical or physical cancerogenic agent or from cellular infection with virus. The abnormal nucleic acid interferes with normal correlative cell growth and leads to autonomy. Moreover, the fine morphological structure will become inferior in quality and this may be hereditary. This structural lability, particularly of the cytoplasmic double membranes (mitochondria, microsomes, ergastoplasm, etc.) may give rise to an increased ATP-ase activity in the cell, that in turn may result in an irreversible increase of glycolysis. The increased rate of glycolysis will then create all the other important criteria of increased growth and multiplication.

Prof. Dr Arnold GRAFFI, Berlin-Buch, Lindenberger Weg 70. D. D. R.