

U. Schneeweiß, E.-M. Fabricius, W. Schmidt

Tumorforschung am biologischen Modell

Tumorforschung am biologischen Modell

**Experimentelle und theoretische Grundlagen
des Tumor-Tetanus-Phänomens**

**Professor Dr. med. habil. Ulrich Schneeweiß
Chemie-Ing. Eva-Maria Fabricius**

Zentralinstitut für Krebsforschung der Akademie der Wissenschaften der DDR,
Bereich Diagnostik, Abteilung Diagnostik-Forschung, Berlin

Dr. rer. nat. Willi Schmidt

Zentralinstitut für Molekularbiologie der Akademie der Wissenschaften der DDR,
Bereich Molekularbiophysik, Abteilung Mathematische Biologie, Berlin

Mit 54 Abbildungen und 22 Tabellen



Walter de Gruyter · Berlin · New York 1980

CIP-Kurztitelaufnahme der Deutschen Bibliothek

Schneeweiss, Ulrich:

Tumorforschung am biologischen Modell : experimentelle u. theoret. Grundlagen d. Tumor-Tetanus-Phänomens / Ulrich Schneeweiss ; Eva-Maria Fabricius; Willi Schmidt. — Berlin, New York : de Gruyter, 1980.

ISBN 3-11-008320-5

NE: Fabricius, Eva-Maria.; Schmidt, Willi:

1. Auflage

Alle Rechte vorbehalten

© VEB Gustav Fischer Verlag Jena, 1980 — Lizenznummer 261700/157/80 — LSV 2715 — Lektor Dr. Roland Itterheim — Printed in the German Democratic Republic — Gesamtherstellung: VEB Druckerei „Thomas Müntzer“, 5820 Bad Langensalza

**Dem Begründer
der Tumor-Klostridien-Forschung,
Herrn Professor Dr. Josef R. Möse in Graz,
gewidmet**

Vorwort

Die Monographie ist das Ergebnis einer zehnjährigen experimentellen und mathematischen Zusammenarbeit. Ihre Inspiration kommt aus der Medizinischen Mikrobiologie und Immunologie. Als Studienobjekt diente das Modell eines aus zwei heterogenen Zellpopulationen zusammengesetzten Wachstumssystems. Unter natürlichen Bedingungen werden diese Teilungswachstumsprozesse als Neoplasie bzw. Tetanusinfektion mit eigenen biologischen Gesetzmäßigkeiten beobachtet.

Mit Hilfe einer simultanen quantitativen Testmethode ist es gelungen, an der Tumor-Tetanus-Maus Experimente mit Ausschlußcharakter zu konzipieren. Im 1-Sporen-Tetanus-Test wurden die seltenen Tetanusfälle an einem hinreichend großen Mäusekollektiv mathematisch-statistisch analysiert. Der Kerngedanke zur Erklärung des Wirkmechanismus im Tumor-Tetanus-Test besteht in der Hypothese, daß zwischen den Teilungsschritten der aerob wachsenden Zellen im Mitosezyklus und der anaerob wachsenden Klostridien eine enge Beziehung besteht. Diese Hypothese bildete die Grundlage eines mathematischen Modells. Unter Berücksichtigung entscheidender Parameter wurde die zum Tetanus führende Klostridienvermehrung als Funktion der jeweiligen Warmblüter-Zellpopulationskinetik rechnerisch nachvollzogen. Hierbei erhält man bei unterschiedlichen Mengen verschiedener Tumorzellen sowie bei in Ruhe oder in Wundregeneration befindlichen Dermis-Bindegewebszellen quantitativ bzw. qualitativ unterscheidbare charakteristische Tetanusverläufe.

In der Arbeit wird ein biologisches Spezifitätsprinzip inauguriert: die Komplementarität der Bioenergie erzeugenden Prozesse der beteiligten Partnerzellen — Eukaryotenzellen und Tetanusstäbchen. Ferner wird die Bedeutung der stochastischen und rechentechnischen Problemlösung der komplizierten Wachstumsprozesse herausgestellt. Wir haben neben allgemeinen Wirkbeziehungen der Infektion und Karzinogenese den praktischen Aspekten der Tumor-Klostridien-Forschung einen entsprechenden Raum gewidmet.

Da der behandelte Themenkreis verständlicherweise eine Vielzahl tumorbiologischer, mikrobiologischer und allgemein pathophysiologischer Probleme einschließt, bemühten wir uns, das Schrifttum der zum Tumor-Tetanus-Phänomen angrenzenden Forschungsgebiete zu bearbeiten und einen aktuellen Bezug zu den im Tumor-Tetanus-Modell aufgeworfenen Fragen herzustellen.

Wir möchten um Nachsicht bitten, daß es nicht möglich war, allen Ideen und Entdeckungen der biologisch-medizinischen Forschung, die für unsere Zielsetzung von Belang sind, umfassend und mit der richtigen Wertung gerecht zu werden. Schon die Auswahl der Literatur ist nicht frei von Zufall oder subjektiven Eindrücken. Wir verfolgten die Absicht, die zur konzeptionellen Entwicklung des Modells notwendig erscheinenden naturwissenschaftlichen und mathematischen Erkenntnisse aus der großen Zahl älterer und neuer Publikationen kritisch zu beleuchten und in gedrängter Form vom Inhalt her zu verbinden. Das ist uns nur zum Teil gelungen.

Es muß hervorgehoben werden, daß dieser Arbeit zwar logisch stringente, aber doch auch hypothetische Gedanken anhaften. Sie sollten durch Versuche mit anderen als

den von uns benutzten mikrobiologischen Meßmethoden bestätigt oder ergänzt werden. Erfahrungsgemäß bereitet die stochastische Betrachtungsweise vielen Lesern Verständnisschwierigkeiten. Andererseits glauben wir, daß ein streng deterministisches Modell der mitoseabhängigen Stäbchenvermehrung kaum geeignet erscheint, diesen komplizierten Prozeß einer mathematischen Behandlung zugänglich zu machen; es würde die Kenntnis einer viel größeren Anzahl von biologischen Einflußgrößen voraussetzen. Durch eine stochastische Modellierung wird das Problem erheblich vereinfacht, wenn auch die dabei verwendeten Parameter einen mehr abstrakten Charakter erhalten.

Die vorliegende Arbeit sollte als Anregung dazu dienen, bei der mathematischen Lösung von biologischen Problemen der stochastischen Arbeitsweise mehr als bisher Beachtung zu schenken. Hierzu gibt es in der Literatur interessante Ansätze und Modellvorstellungen. Zum anderen fordert das Ergebnis unserer analytischen Experimente dazu heraus, den Fragen der Regulation beim Tumorwachstum und der Wundheilung anhand der in dieser Arbeit entwickelten Modelle Aufmerksamkeit zu widmen. Endlich sollte diese Studie als theoretische Grundlage für die Entwicklung eines allgemeinen mikrobiologisch-serologischen Krestests mit anaerob wachsenden apathogenen Klostridien als Testmikroben verstanden werden.

Es ist uns ein aufrichtiges Anliegen, für vielfältig erhaltene Hilfe zu danken. Ganz besonderen Dank schulden wir dem ehemaligen Direktor des Zentralinstituts für Krebsforschung, Herrn Prof. Dr. H. Gummel, für die Bereitstellung des Laboratoriums, in dem wir seit 1963 unsere Experimente durchführen konnten, und für seine jederzeit großzügige Förderung, die er dieser Forschung zuteil werden ließ. Die Anregung zur Aufnahme der Untersuchungen des Tumor-Tetanus-Phänomens verdanken wir Herrn Prof. Dr. G. Wittig, der uns die Arbeit von O. Warburg (1961) zur Kenntnis brachte; in ihr fanden wir die entscheidenden Bemerkungen über die Tumor-Klostridien-Versuche. Den Direktoren der beiden Zentralinstitute der Akademie der Wissenschaften der DDR, Herrn Prof. Dr. Dr. St. Tanneberger, Zentralinstitut für Krebsforschung, und Herrn Prof. Dr. F. Jung, Zentralinstitut für Molekularbiologie, sind wir für die jahrelange verständnisvolle Unterstützung zu Dank verbunden, die sie uns in der Zusammenarbeit an dem gemeinsamen Forschungsprojekt gewährt haben. Herrn Prof. Dr. J. Mecke, Sektion Mathematik der Friedrich-Schiller-Universität Jena, gebührt unser Dank für wertvolle Hinweise während der Erarbeitung des mathematischen Modells. Besonderen Dank sind wir auch dem ehemaligen Direktor des Instituts für Zellphysiologie der Akademie der Wissenschaften der DDR zu Berlin-Buch, Herrn Prof. Dr. E. Negelein, schuldig für die Anregung und Durchführung manometrischer Untersuchungen, die im Zusammenhang mit unseren Zellbestrahlungsversuchen von Bedeutung waren, und für seine stets weiterführenden wertvollen Diskussionen.

Planung und Durchführung der zahllosen Tierversuche waren nur durch die aktive Beteiligung erfahrener Mitarbeiter des Forschungszentrums für Molekularbiologie und Medizin zu Berlin-Buch möglich. So möchten wir zunächst und vor allem Frau M. Kunath aus unserem Laboratorium für ihre unermüdliche zuverlässige Hilfe danken. Unser Dank gilt ferner den Kollegen der Abteilung Versuchstierhaltung, ihrem Leiter Herrn Dr. E. Schubert sowie seinen Kolleginnen Frau H. Baumgardt und Frau L. Gens, für ihre gleichbleibend Jahr um Jahr gewährte Zuarbeit.

Die Bearbeitung der umfangreichen Literatur war nur durch die sachkundige Unterstützung mehrerer Kolleginnen der Zentralbibliothek des Forschungszentrums, ihrer Leiterin Frau S. Schütze, wie auch der Abteilung Reprographie mit ihrer Leiterin Frau H. Kärgel, zu bewältigen. Ihnen und Herrn Dr. G. Blankenstein, Leiter des Informationszentrums am Forschungszentrum, sei an dieser Stelle unser Dank zum

Ausdruck gebracht. Danken möchten wir auch Herrn H. Marquardt für die ausgezeichnete Übersetzung zahlreicher russischer Arbeiten.

Schließlich verdient die graphische Wiedergabe der Versuchsverläufe und Rechnersimulationsergebnisse durch Frau U. Jaenisch unsere Anerkennung, wofür wir ebenfalls unseren Dank aussprechen möchten.

Dem VEB Verlag Gustav Fischer Jena und seinem Lektor, Herrn Dr. R. Itterheim, gebührt mit unserer Verbundenheit zugleich unser Respekt dafür, daß sie die Fertigstellung des Manuskriptes mit soviel Geduld und Verständnis sowie die Drucklegung des Werkes mit großem Entgegenkommen angenommen haben.

Berlin-Buch, September 1978

Die Verfasser

Inhaltsverzeichnis

Teil I

1.	Einführung	15
2.	Leitgedanken der biologischen Krebsforschung — Versuch einer Synopsis	17
2.1.	Ätiologische Probleme des Krebses	17
2.2.	Kanzerogenese — Zelldifferenzierung — Krebszellen-Eliminierung	20
2.2.1.	Tumorvirologie und Krebsgenetik	20
2.2.2.	Morphogenese und Tumorummunologie	24
2.2.3.	Chemische Karzinogenese und Strahlenbiologie	29
2.2.4.	Zellpopulationskinetik und Chemotherapie	34
2.2.5.	Dynamik der Gewebsarchitektur und Tumorenergiestoffwechsel	39
2.2.6.	Regulation des Gewebewachstums und Zytogenetik	41
2.3.	Normalgewebe — Tumorgewebe	48
2.3.1.	Zeitparameter der Zellteilung und Gewebsdifferenzierung	48
2.3.2.	Experimentelle Modelle zur extrachromosomalen Vererbung	51
2.3.3.	Probleme der molekularen Ebenen der Zellkanzerisierung	53
2.3.4.	Pleiotropie sekundärer Wirkungen der Zelltransformation	56
2.3.5.	Zellaltern, Zelltod und Neoplasie	59

Teil II

1.	Zum Problem der Pathogenese	65
1.1.	Fragen der Mikrobenpathogenität	66
1.1.1.	Zur Pathogenese des Milzbrandes	67
1.1.2.	Die zelluläre Basis des Twort-D'Herelleschen Phänomens	68
1.1.3.	Studien zur Phagen-Biochemie mit Radioisotopen	69
1.2.	Die Toxikoinfektion des Tetanus	70
1.2.1.	Zur Pathogenese der Tetanus-Intoxikation	71
1.2.1.1.	Probleme der Tetanustoxinogenese	72
1.2.1.2.	Tierversuche mit gereinigtem Tetanustoxin	72
1.2.1.3.	Arbeiten zur Struktur und Funktion des Tetanustoxins	73
1.2.1.4.	Versuche mit Radiojod-markiertem Tetanustoxin	74
1.2.1.5.	Nervenleit-Theorie und artspezifische Tetanustoxinresistenz	76
1.2.1.6.	Fragen des Feinmechanismus der Tetanustoxinwirkung	77
1.2.2.	Zur Pathogenese der Tetanusinfektion	78
1.2.2.1.	Beschaffenheit des Gewebes und Tetanusinfektion	79
1.2.2.2.	In-vivo-Analysen des Wachstumszyklus von Tetanusklonidien	80
1.2.2.3.	Probleme des Sporentoxins	82
1.2.2.4.	Biologische Probleme der Tetanussporengermination	84
1.2.2.5.	Fragen der Toxinsynthese vegetativer Klostridien	86
2.	Zum Problem der Anoxybiose	88
2.1.	Energiestoffwechsel und Anaerobiose	88
2.2.	Baustoffwechsel und Anaerobiose	90

2.3.	Redoxpotential der Klostridienkultur und Sauerstoffabhängigkeit	91
2.4.	Theorien der Sauerstofftoxizität und obligaten Anaerobiose	93
3.	Das Tumor-Tetanus-Phänomen	95
3.1.	Praxisnahe Probleme der Tumor-Klostridien-Forschung	96
3.1.1.	Onkolyseversuche mit Klostridien	97
3.1.2.	Möglichkeiten der Tumorerkennung durch Klostridien	101
3.1.3.	Krebsätiologie und Klostridienmetabolismus	103
3.2.	Zur Warburg-Hypothese des Tumor-Klostridien-Phänomens	104
3.3.	Der Maus-Tumor-Tetanus-Test	106
3.3.1.	Die zelluläre Basis des Tumor-Tetanus-Phänomens	107
3.3.2.	Biologische Kontrollen des Tumor-Tetanus-Phänomens	110
3.3.3.	Zellpopulationskinetik und Tetanusk mortalität	112
3.4.	Die Arbeitshypothese des Tumor-Tetanus-Phänomens	113
4.	Material und Methoden	116
4.1.	Methodische Vorbemerkungen	116
4.2.	Tetanussporen	116
4.2.1.	Sporenzüchtung — Sporenpräparation	117
4.2.2.	Sporenprüfung	117
4.3.	Tumorzellen	119
4.3.1.	Präparation und Prüfung der Tumorzellen	122
4.3.2.	Passagierung der Tumorzellen	122
4.4.	Versuchsmäuse	123
4.4.1.	Tierhaltung	123
4.4.2.	Versuchstierkontrolle	123
4.5.	Methodik des Maus-Tumor-Tetanus-Tests	124
4.5.1.	Vorbereitung der Tumorzellen	124
4.5.2.	Mischung der Tumorzellen mit Tetanussporen	125
4.5.3.	Injektion der Zellen-Sporen-Testsuspension	125
4.5.4.	Ablesung des Tests	126
4.5.5.	Bewertung des Tests	127
4.5.6.	Festlegung der Gruppenumfänge	127
4.6.	Normierung des Testsystems	128
4.7.	Biologische Kontrollsysteme	129
4.7.1.	Tetanussporen-Kochsalz-Kontrolle	129
4.7.1.1.	Durchführung des Kochsalz-Sporen-Tests	130
4.7.1.2.	Kochsalz-Sporen-Test mit Penizillin — Ausschluß der Sporentoxin-Hypothese	130
4.7.2.	Tetanussporen-Calciumchlorid-Kontrolle	131
4.7.2.1.	Durchführung des Calciumchlorid-Sporen-Tests	131
4.7.2.2.	Calciumchlorid-Sporen-Test — Dosisvolumen und Tieralter (Körpergewicht)	132
4.8.	Adjuvante Analyseverfahren	134
4.8.1.	Zytostatikaversuche im LeukämieL1210-Tetanus-Modell	134
4.8.1.1.	Tumorzellen	134
4.8.1.2.	Versuchsmäuse	135
4.8.1.3.	Zytostatika-Therapie	135
4.8.1.4.	Wirksamkeit von Cytosin-arabinosid und Vincristin auf Tetanuskulturen	136
4.8.2.	Penizillin- und Tetanus-Antitoxin-Zeitstufenversuche	138
4.8.2.1.	Tumor-Tetanus-Test mit Penizillin und Tetanus-Antitoxin	140
4.8.2.2.	Calciumchlorid-Sporen-Test mit Penizillin und Tetanus-Antitoxin	142

4.8.3.	Tumor-Tetanus-Test — Ausschluß einer aktiven Tetanustoxin-Immunität	143
4.8.4.	Tumor-Tetanus-Test — Ausschluß einer Zellschädigung durch Tetanustoxin (Tetanospasmin)	147
5.	Versuchsergebnisse — mathematisches Modell	149
5.1.	Entscheidungsversuch zur Bestätigung der Arbeitshypothese	149
5.1.1.	LeukämieL1210-Tetanus-Test mit Chemotherapie	149
5.1.2.	Unterschiedliche Beeinflussung des Tumorzellhemmung	151
5.2.	Kochsalz-Sporen-Versuche — Grundlage zur Bestimmung der kritischen Stäbchenzahl	157
5.2.1.	Tetanusreaktivität der normalen Mäusesubkutis	157
5.2.2.	Tetanusreaktivität bei abgestuften Sporendosen	158
5.2.3.	Mathematische Bestimmung der kritischen Stäbchenzahl	159
5.2.4.	Tetanusreaktivität im diurnalen Rhythmus	162
5.2.5.	Mathematische Auswertung des Tag-Nacht-Versuches	164
5.3.	Einzelsporen-Versuche — Grundlage zur Bestimmung der Zellzykluszeiten	167
5.3.1.	Tumor-Tetanus-Versuch	167
5.3.2.	Calciumchlorid-Sporen-Versuch	169
5.3.3.	Mathematische Bestimmung der Zellzykluszeiten	171
5.4.	Der allgemeine Treffer- und Klonierungsprozeß	176
5.4.1.	Statistische Verteilung der Treffer-Ereignisse	176
5.4.2.	Das Klonierungsmodell	177
5.4.2.1.	Experimentelle Begründung des Klonierungsmodells mit Tetanus-Antitoxin	182
5.4.2.2.	Analyse des späteren Klonierungsprozesses im Penizillin-Tetanus-Antitoxin-Versuch	187
5.4.3.	Realisierung des allgemeinen Modells durch Computersimulation	192
5.4.4.	Numerische Ermittlung von Treffer- und Klonierungswahrscheinlichkeit	194
5.4.4.1.	Versuche mit geringen Sporenzahlen	194
5.4.4.2.	Mathematische Auswertung der Versuche mit geringen Sporenzahlen	197
5.5.	Simulation der experimentellen Ergebnisse	200
5.5.1.	Simulation der unbehandelten Tetanusverläufe	200
5.5.2.	Darstellung der Therapiearten im Simulationsprogramm	203
5.5.3.	Simulationsergebnisse der behandelten Tetanusverläufe	207
6.	Diskussion	214
6.1.	Versuche zur Pathogenese der Tetanusinfektion	214
6.1.1.	Das „experimentum crucis“ — eine Ara-C-Studie mit dem Leukämie L 1210-Tetanus-Modell	215
6.1.2.	Versuche zum Wirtszellenmechanismus der Klostridienstimulation	216
6.1.3.	Gegenüberstellung der wichtigsten Testergebnisse im Tumor-Tetanus-, Kochsalz-Sporen- und Calciumchlorid-Sporen-System	218
6.1.4.	Formulierung des (hypothetischen) Eukaryoten-Zellmechanismus als Schrittmacher der Klostridienteilung	220
6.2.	Mathematische Modellierung der Tetanussporen-Versuche im Tumor-, Wundheilungs- und Zellhomöostase-System	221
6.2.1.	Allgemeine Zielsetzung der mathematischen Modellierung des Tumor-Tetanus-Systems	221
6.2.2.	Klassifizierung und Wertung der Parameter des Modells	223
6.2.3.	Globale Beschreibung des mathematischen Modells	225
6.3.	Die anaerobe Mikronische — Versuch einer Abgrenzung der Schrittmacherfunktion	228
6.3.1.	Alternierende Sauerstoffgradienten und Klostridienwachstum	229
6.3.2.	Die kritische Zeitspanne der sauerstoffarmen Mikronische	230

6.3.3.	Die sauerstoffarme Nische im Zellteilungszyklus	232
6.3.4.	Das Spezifitätsprinzip der Mitose-Klostridien-Assoziierung	234
6.4.	Pathogenese der Tetanusinfektion – ein Denkmodell für Infektionen und Karzinogenese	237
6.5.	Malignes Zellteilungswachstum als Grundlage für praxisnahe Modelle der Tumor-Klostridien-Forschung	241
7.	Zusammenfassung	243
	Summary	246
	Заключение	248
	Verzeichnis häufig verwendeter Begriffe und Definitionen mit Erläuterungen	251
	Literatur	257
	Sachregister	315

TEIL I

1. Einführung

Die Entwicklung der Biologie von einer deskriptiven zu einer analytischen Wissenschaft hat dazu geführt, daß den komplizierten Zusammenhängen biologischer Prozesse Denkmodelle zugrunde gelegt werden. Das Wesentliche besteht darin, komplexe Erscheinungen durch ein vereinfachtes Denkschema zu ersetzen. In den Modellen hat man eine Sprache, die es ermöglicht, neue Gebiete zu verstehen (Kuhn 1968). Den eigentlichen Wert eines Modells mißt man daran, mit welcher Sicherheit experimentell ermittelte Aussagen zu beweisen oder widerlegen sind.

Neben einem bildhaften Anschaulichmachen biologischer Phänomene in Gedankenmodellen stehen die Versuchsmodelle. Sie dienen dazu, aus einer biologischen Erscheinung die wichtigen von den unwichtigen Parametern zu trennen und die Messungen auf die ausgesuchten Parameter zu beschränken (Groth 1974, 1977). Solche Versuchssysteme bieten als Konstruktionsentwurf zum Erkennen größerer Zusammenhänge und neuer Realisierungsmöglichkeiten entscheidende Vorzüge (Kuhn 1976). Fließen neue Informationen ein, wird das Modell vielfältiger und beziehungsreicher: Man gelangt in übergeordneten Denkschemata zu einer weitergefaßten Theorie (Ulam 1972). Der Übergang vom Gedankenmodell zur Hypothese und Theorie vollzieht sich ohne willkürlich gesetzte Grenzen. Hierbei verdichtet sich die Fachsprache zur präzise formulierten, logisch klaren Ausdrucksweise.

In der biologischen Forschung beinhaltet die Leitidee eines theoretischen Konzeptes zunächst keine numerisch-mathematische Behandlung (Krebs 1966). Jedoch benötigt man zur Urteilsbildung, die auf Beobachtungen und Experimenten beruht, mathematische Methoden, um unter weitgehender Ausschaltung der dem Einzelfall anhaftenden Zufälligkeiten zu allgemeingültigen Aussagen und zu einer objektiven Bewertung zu gelangen. Da der unkontrollierte Zufall bei lebenden Objekten und komplizierten Meßsystemen eine große Rolle spielt, gilt diese Feststellung für viele biologische Erscheinungen.

Mit dem Einsatz mathematischer Methoden in der Biologie können die Aussagen eines biologischen Modells im allgemeinen nicht bewiesen werden. Aus den Annahmen lassen sich aber Schlüsse für weitere Experimente ziehen, deren Ergebnisse insoweit zutreffen werden, als das Modell in seinen Voraussetzungen wirklichkeitsnahe ist. Fügt man eine biologische Realität in den Rahmen eines mathematischen Modells ein, so hilft der Mathematiker dem biologisch forschenden Experimentator, einen besseren

Einblick in den Wirkmechanismus eines biologischen Prozesses zu gewinnen (Bühler 1972), beispielsweise aus dem Verhalten einzelner Zellklone auf die Art des Wachstums einer Population von Zellen zu schließen.

In der modernen Krebsforschung wurde eine unübersehbare Fülle von Beobachtungsmaterial zusammengetragen und eine verfeinerte analytische Methodologie entwickelt. Hieraus sind neue Denkmodelle und Versuchssysteme hervorgegangen (Brunet et al. 1976). Erwähnt seien die Forschungen der molekulargenetischen Tumorvirologie, die Vorstellungen von der Transplantatantigenatur der Tumorzellmembran und die strahlenbiologischen Modelle der DNS-Reparaturprozesse. Beachtung verdienen auch die Auffassung vom Tumorwachstum als ein abartiges Wechselgewebe, die feinere Abgrenzung des Tumorenergiestoffwechsels und noch stark umstrittene Arbeitshypothesen zur Wachstumsregulation von Normalgewebe und Tumorgewebe.

Es wird eine lohnende Aufgabe sein, unsere analytischen Arbeiten zum Tumor-Tetanus-Phänomen mit den im Brennpunkt der biologischen Forschung stehenden Tumormodellen in Bezug zu bringen. Hinter diesem Bemühen liegt die Erwartung, zu einem konvergierenden Denkschema über essentielle Parameter der Wachstumsdynamik von Tumorzellpopulationen zu gelangen. Gerade die Eigenart des Tumorzustands, das aus dem Verhalten bestimmter Gruppen von Zellen mit abartigem Proliferationsmuster hervorgeht, vermittelt unseres Erachtens den Schlüssel zum allgemeineren Verständnis des Basiswertes einer normalen Gewebshomöostase wie auch der zeitweilig übersteigerten Zellneubildung während der Regeneration und Wundheilung. Wir möchten daher in dieser Arbeit das biologische Problem des Wachstums auf die Zusammenhänge zwischen Zellteilung, Zellvermehrung und Wachstum lenken.

2. Leitgedanken der biologischen Krebsforschung – Versuch einer Synopsis

Zum Begriff der belebten Krankheitsursachen

Vorstellungen über vermehrungsfähige Krankheitserreger entwickelten sich aus den geschichtlichen Seuchenerfahrungen. Die Formulierung krankmachender Eigenschaften nach der Kausalität gemäß den drei Henleschen Postulaten gilt bis heute (mit Einschränkung) als Beweis für die Erregernatur vermehrungsfähiger Agenzien (Henle 1840). Nach der Erfindung und Anwendung analytischer Untersuchungsverfahren durch Koch (1876; 1912), vor allem mit der Technik der Färbung und Züchtung von Bakterien, gelang es der medizinischen Bakteriologie, die Vielfalt der Krankheitserreger zu definieren und systematisch von verwandten nichtpathogenen Bakterienarten abzugrenzen. Seit dem Ende vorigen Jahrhunderts wurde der Leitgedanke der spezifischen Identifizierung von Seuchenerregern zur Grundlage der ätiologischen Erforschung, Bekämpfung und Verhütung übertragbarer Krankheiten von Mensch und Tier.

Mit fortschreitenden Erkenntnissen vor allem auf den Gebieten der (chronischen) Virusinfektionen und Virus-Tumor-Relationen wurden die historischen Henle-Koch-Postulate zur einheitlichen Konzeption einer umfassenden Krankheitskausalität erweitert. Sie erfuhren im Sinne modifizierter Kausalitätskriterien eine dem jeweiligen Stand der Diagnostik-Standards entsprechende Anpassung (vgl. Evans 1976).

Beginn der kausalanalytischen Krebsforschung

In Anwendung der kausalen Betrachtungsweise begann die naturwissenschaftlich forschende Medizin, insbesondere mit der pathologischen Anatomie Virchows (1855, 1858), das bösartige Wachstum als einen Prozeß zu beschreiben, der durch fortlaufende Zellvermehrung eine Geschwulst bildet, Nachbarorgane durchsetzt und zerstört sowie Tochtergeschwülste hervorruft. Hierdurch wurde die Einheit der Krebskrankheit auf die Krebszelle reduziert.

Die Abgrenzung dieses Geschwulstbegriffes von den „entzündlichen Tumoren“ durch Virchow (1863) und der Nachweis der Herkunft der Krebszellen von den normalen Körperzellen durch Waldeyer (1867) ließen drei Hauptprobleme der Krebsforschung deutlich werden: zunächst die Frage nach der Ätiologie des Krebses, den Ursachen der Entstehung einer Krebszelle (nach dem Grundsatz: „kein Karzinom ohne Karzinogene – keine Infektion ohne Infektionserreger“, vgl. Hueper u. Conway 1964). Dann die Suche nach Kontrollmechanismen des Krebswachstums, der Eliminierung von Krebszellen aus den gesunden Geweben und Organen des Organismus. Schließlich das Problem der Unterscheidung der Krebszellen und Tumorgewebe von den normal funktionsfähigen Körperzellen und Geweben.

2.1. Ätiologische Probleme des Krebses

Anfänge der Erforschung chemischer Karzinogene

Unsere Kenntnis der Zusammenhänge zwischen Umweltfaktoren und Krebs verdanken wir ärztlichen Beobachtungen. Die Angaben von Pott (1776; vgl. Stöhr 1822)

über Krebs der Schornsteinfeger, seine klare Beschreibung der Bedingungen des Kontakts mit Ruß, der zur Entstehung von Skrotalkrebs führt, sind so genau, daß sie die Grundlage unserer heutigen Bemühungen um die Krebsverhütung bilden (Doll 1976). Der Weg der ätiologischen Forschung wurde durch weitere Erfahrungen mit Teerkrebs gezeichnet (Volkman 1874), zunächst durch die erste Krebszeugung im Tierversuch mit Teerpinselungen am Kaninchenohr (Yamagiwa u. Ichikawa 1918) bis zur Synthese karzinogener polyzyklischer Kohlenwasserstoffe (Cook et al. 1932), dann durch die Erstisolierung von 3,4-Benzpyren aus einem Naturprodukt (Cook et al. 1933) im Laboratorium von Kennaway (1955).

Entwicklungsarbeiten der Strahlenbiologie und Mutationsforschung

Zu den Fortschritten der ersten Epoche der Erforschung von Krebsursachen gehören die Entdeckungen, die die Bedeutung von Strahlen für die Entstehung des Krebses unter Beweis stellten. Bald nach Beginn der radiologischen Forschung wurden die Gefahren des häufigen Umgangs mit Röntgen- und Radiumstrahlen für den menschlichen Organismus erkannt (Friebe 1902a, 1902b; Hesse 1911).

Sehr fruchtbar für die quantitative Strahlenbiologie erwies sich mit dem Eintritt in das „Atomzeitalter“ die gedankliche Verknüpfung der Strahlenwirkung mit den Mutationsprozessen der Zelle (vgl. N. V. Timoféeff-Ressovsky et al. 1972). Vorausgegangen waren die Wiederentdeckung der Mendelschen Gesetze (Mendel 1865/1866; vgl. Correns 1900, 1901; Tschermak 1901; De Vries 1903) und die experimentelle Formulierung der Chromosomentheorie der Vererbung (Morgan et al. 1940, 1941). Diese Arbeitshypothese konnte einer strahlengenetischen Untersuchung an speziell hergestellten *Drosophila*-Kulturen zugeführt werden (H. J. Muller 1927, 1928a, 1928b, 1930). Sie erbrachte den Nachweis, daß die Häufigkeit der durch ionisierende Strahlen induzierten Mutationen der Strahlendosis proportional ist (Zimmer u. Timoféeff-Ressovsky 1942).

Erste Tumorübertragung mit zellfreien Tumorextrakten

In Erweiterung der ätiologischen Forschung gelang es in der experimentellen Pathologie, Tumoren mit zellfreien Tumorextrakten aus Geweben der Hühnerleukose (Ellermann u. Bang 1908) und des Hühnersarkoms (Rous 1911a, 1911b) serienweise zu passagieren. Ein verallgemeinernder Gedanke zur viralen Kanzerogenese ließ sich aber erst aus den Bittnerschen Arbeiten ableiten (1936), in denen die „vertikale Übertragung“ des Mammatumor-Agens auf die Nachkommenschaft mit der Milch der Muttertiere überzeugend demonstriert wurde. Im Vergleich hierzu steht die „horizontale Ausbreitung“ von Seuchenerregern bei Individuen der gleichen Generation (Gross 1944). Besonders sensitiv für die Übertragung von Tumoviren erwies sich die neugeborene Maus. Mit neugeborenen Mäusen als „Biotest-Modell“ wurde der erste Nachweis der viralen Genese der Mäuseleukämie erbracht (Gross 1951a, 1951b).

Klassische Virustheorie und Mutationstheorie des Krebses

Geht man von der elektronenmikroskopisch gesicherten morphischen Vielfalt bekannter Tumorvirusarten aus, so ist man geneigt, den entscheidenden Faktor der Tumorinduktion nicht im korpuskulären Virus, sondern in den veränderten Erbstrukturen der infizierten Zelle zu suchen (Oberling 1959). Die Virustheorie des Krebses wird dann zur Virusgenomtheorie und kommt der Mutationstheorie des Krebses nahe (Boveri 1914; Bauer 1928, 1963; vgl. Doerr 1923, 1938, 1944; Zilber 1954). Diese betrachtet die Mutation einer somatischen Zelle wie eine Keimzellen- oder Mikrobemutation, auf denen unser Verständnis des Mutationsprozesses beruht (vgl. F. Schmidt 1960).

So führt die Frage nach der Krebsursache zum Suchen nach Ereignissen, die der Wirkung, d. h. dem Krebswachstum vorausgehen und mit ihr eng verknüpft sind. Die Aufklärung der inneren Beziehung erfolgt durch die Analyse der aufeinanderfolgenden Teilschritte, die dem Wirk- bzw. Pathomechanismus zugrunde liegen (Shimkin 1958).

Beginn der Struktur-Funktionsanalysen an Biomakromolekülen

Richtungsweisende Denkanstöße zur Entwicklung molekulargenetischer Vorstellungen der malignen Zelltransformation durch Tumoviren kamen aus der morphologischen und genetischen Forschung, zum einen mit Beginn der Aufklärung dreidimensionaler Strukturen von Biomakromolekülen, des Myoglobins und Hämoglobins, mittels Röntgenstrahlbeugung (Kendrew et al. 1958; Perutz et al. 1960), zum anderen durch analytische Arbeiten der Phagen-Bakterien-Genetik (vgl. Cairns et al. 1966).

Gedanken zur Natur des Gens — Trefferprinzip der Strahlenbiologie

Schon in den dreißiger Jahren waren quantenmechanische Betrachtungen zur Natur des Gens und seiner Struktureinheiten, ausgehend von den strahleninduzierten Mutationen Mullers, vorausgegangen und führten zur mathematischen Formulierung des Trefferprinzips in der Strahlenbiologie (Timoféeff-Ressovsky et al. 1935).

Biologische Erkenntnisse der phagen-genetischen Forschung

Im Bakterien-Fluktuations-Test von Luria und Delbrück (1943), der auf der Poisson-Verteilung seltener Ereignisse beruht, konnte gezeigt werden, daß sich die Entwicklung phagenresistenter Bakterienpopulationen aus der Selektion ungerichteter mutierter Einzelbakterien vollzieht. Das entspricht der Darwinschen Evolutionslehre, die das Zusammenwirken von Mutation und Selektion, von „Zufall“ und „Auswahl“, an Individuen einer genetisch heterogenen Population zur Grundlage hat.

DNS als primärer Informationsträger

Zwei unterschiedliche Systeme, das transformierende Prinzip der Bakterientypumwandlung (Avery et al. 1944) und das infektiöse Prinzip im Phagen-Wirtsbakterien-Modell des Hershey-Chase-Experimentes (1952), führten zum gleichen Schluß: der Bedeutung der DNS als primärer Erbstruktur. Aus der Entdeckung der Doppelhelix durch Röntgenanalyse (Wilkins et al. 1953) und dem Mechanismus ihrer Replikation (Watson u. Crick 1953a, 1953b) folgte ein tieferes Verständnis der Struktur und Funktionsweise der DNS, eine glänzende Bestätigung der von Muller, Delbrück, Schrödinger (1944) entwickelten Denkmodelle zum molekularen Bau eines Gens (Delbrück 1967; Luria 1970).

Klassischer und molekularbiologischer Begriff eines Gens

Verständlicherweise erfuhr der klassische Genbegriff eine Vertiefung und Erweiterung durch den molekularbiologischen Begriff des Cistrons. Das Gen ist die mendelnde „Erbinheit“ im Erbgut eines Lebewesens mit dem Attribut der freien Rekombinierbarkeit des merkmalsprägenden, spontan veränderbaren Erbfaktors. Die Eigenschaften der Rekombination, Funktion und Mutation des klassischen Gens wurden im Begriff des Cistrons, eines im analytischen Cis-Trans-Test als Funktionseinheit bestimmbar Genomabschnittes, neudefiniert (Benzer 1961). Das führte zu einer Präzisierung der „Ein-Gen-ein-Enzym-Hypothese“ von Beadle und Tatum (1941) im Sinne des „Ein-Cistron-ein-Polypeptid-Prinzips“. Eine sprunghafte Entwicklung der Tumorvirologie, die aus den neuen Erkenntnissen der Bakterienvirologie hervorging, setzte den Weg der ätiopathogenetischen Krebsforschung auf der Suche nach menschlichen Tumoviren fort.

2.2. Kanzerogenese — Zelldifferenzierung — Krebszellen-Eliminierung

2.2.1. Tumorstudiologie und Krebsgenetik

Analytische Tumorstudiologie am Modell der In-vitro-Zelltransformation

Die Grundidee der Bakterien-Reinkultur Kochs erlaubte es, mit zunehmender Beherrschung der Kultivierung von Säugerzellen die Entdeckungen der Phagen-Bakterien-Genetik unmittelbar auf tumorstudiologische Aspekte anzuwenden. So wurde durch die Weiterentwicklung der Gewebekultur A. Fischers (1925, 1946) zu den modernen Zellkulturen nach Enders et al. (1949) die Gast-Wirt-Beziehung zwischen Virus und Einzelzelle einer direkten Untersuchung zugänglich. Methoden der Plaque-Technik, der Virusklonierung (Dulbecco 1952) und der Kultivierung von Säugerzellklonen (Puck u. Marcus 1955) eröffneten das Studium der malignen Zelltransformation unter Berücksichtigung quantitativer Beziehungen zwischen Tumorstudien und Wirtszellen, zunächst mit den Viren des Rous-Sarkoms und Hühnerembryonalzellen (Rubin 1955.) Im Gegensatz zum normalen Zellwachstum klonieren transformierte Zellen unbegrenzt in vitro und in vivo.

Molekulargenetisch wird unter Transformation der Einbau einer fremden DNS-Sequenz in ein (Wirts-)Genom durch Rekombinationsvorgänge verstanden. Voraussetzung ist die Homologie der betreffenden Genomabschnitte. Mit großer Erwartung wurden die Forschungsarbeiten forciert. Es gelang die Entwicklung hochsensitiver Methoden der Nukleinsäureanalytik, u. a. die Technik der molekularen Hybridisierung von DNS und RNS (B. D. Hall u. Spiegelman 1961) und der Nachweis der Revertase, einer DNS-Polymerase (auch reverse Transkriptase genannt), des Leitenzyms der RNS-Tumorstudien (Baltimore 1970; Temin u. Mizutani 1970). Hierdurch wurde es möglich, alle Tumorstudien letzten Endes wie ein DNS-Virus zu betrachten, da zumindest die entscheidende Phase der Virus-Zell-Interaktion in der Integration des Virusgenoms mit dem Wirtszellgenom besteht (Dulbecco 1973). Der Vorgang ist mit dem lysogenen Prozeß von Phagen und Wirtsbakterien vergleichbar (Lwoff 1951, 1953).

Vorstellungen zur Genregulation durch Rückkopplungssysteme

In Erweiterung der Erkenntnisse der Nukleinsäureforschung führte die Forderung nach „Schlüsselagenzien“ der Krebsentstehung zu Fragen der Wachstumskontrolle des Krebses. Den Ausgangspunkt bildete die Arbeitshypothese der kybernetischen Genkontrolle. Hierunter versteht man in einem biologischen Regelkreis einen Rückkopplungsmechanismus des An- und Abschaltens von Genen als Muster einer im Erbgut verankerten Zelldifferenzierung (Markert 1963, 1968; Britten u. Davidson 1969; Georgiev 1969; Crick 1971; Davidson u. Britten 1973). Mit „Anschalten“ definiert man die Bildung einer DNS-komplementären RNS-Kopie, die entsprechend dem „zentralen Dogma“ der Molekularbiologie die spezifische Polypeptidsynthese kodiert (Crick 1958). Den wichtigsten Impuls erhielt dieser Gedanke durch das Jacob-Monodsche Bakterien-Operonsystem der Genregulation (1961): Es wurde durch die klassischen Experimente zur adaptiven Enzymsynthese an Bakterienstoffwechsel-Mangelmutanten nach dem Prinzip der Hemmung der gesteuerten Enzymsynthese durch das Endprodukt der enzymgesteuerten Reaktionskette (Pardee et al. 1959) und am Beispiel der Repression von viralen Funktionen in lysogenen Bakterien konzipiert. Die Differenzierung ist definitionsgemäß eine differentielle Genexpression auf zellulärer Ebene, die Realisierung genetischen Potentials des befruchteten Eies und der sich daraus differenzierenden somatischen Zellen (Jacob u. Monod 1963).

Molekulare Systeme der Virusreplikation und Zelltransformation

Trotz der wachsenden Kenntnis der molekularen Virusreplikation bleiben die Probleme des Mechanismus der neoplastischen Zelltransformation durch DNS- und RNS-Tumorstudien und das Verständnis der Reaktionsschritte vom molekularen Informationssystem zum

biologischen Verhalten der Tumorzellen zunächst ungeklärt (Dulbecco 1973; Gallo u. Levine 1974; vgl. M. G. Stoker 1975). Daher konzentrierte sich die Forschung auf mehr übersichtliche tierische Tumovirus-Zellkultur-Systeme (M. Green et al. 1974; Nathans 1976). Mit temperatursensitiven Virusmutanten (Dulbecco u. Eckhart 1970; Eckhart et al. 1971) und Wirtszellmutanten (Renger u. Basilio 1972) konnte z. B. die Reversibilität der Zelltransformation, die offenbar von temperaturrempfindlichen Mechanismen der Genaktivität abhängt, gezeigt werden. Am Beispiel temperatursensitiver Polyomavirusmutanten konnte Dulbecco (1975) die Rolle des viruskodierten „A-Proteins“ (T-Antigens) bei der transformativen Genexpression der Wirtszelle untersuchen, und Rosen (1977) entwickelte, hierauf fußend, ein mathematisches Modell der viralen Karzinogenese.

Der jüngste Zweig der modernen Genetik, die Genanalyse von in vitro kultivierten somatischen Zellen (vgl. Barski et al. 1960), wurde auf die Frage der viralen Zelltransformation angewendet. Der Grundgedanke ist die Zellfusionierung, die zur Unterdrückung bzw. Ausprägung bestimmter Zellfunktionen beim Verschmelzen einer differenzierten mit einer nichtdifferenzierten (malignen) Zelle führt. So gelang es, die Malignität Polyomavirus-induzierter Tumorzellen durch eine Sendaivirus-vermittelte Zellhybridisierung mit normalen diploiden Zellen phänotypisch zu supprimieren (H. Harris 1970, 1971; Klein et al. 1971; Bregula et al. 1971).

Indirekter Nachweis von Tumovirusgenomen in menschlichen Tumorzellen

Bisherige Untersuchungen zur viralen Kanzerogenese erbrachten keinen zwingenden Beweis, daß zumindest bestimmte menschliche Neoplasien nach dem Vorbild der Virusgenese von natürlicherweise vorkommenden tierischen Tumoren virusbedingt sind (L. Gross 1974; Todaro 1974; Rapp u. Buss 1974; Marx 1974; Temin 1974a, 1974c; Pringle 1975). Die Schwierigkeit des direkten Beweises menschlicher Krebsviren, bei Beachtung der besonderen Eigenschaften von Virus und Wirt, mikroskopischer Befund, Züchtung in Reinkultur und Pathogenitätsnachweis, liegt auf der Hand (Allison 1965).

Im Laboratorium von Spiegelman wurden daher indirekte molekularbiologische Methoden erarbeitet, die insgesamt einen Indizienbeweis erbringen: das Auffinden Tumovirusverdächtiger Genome und der Nachweis viraler Genprodukte in den transformierten Zellen. So berichteten Spiegelman et al. (1974), aufbauend auf Arbeiten mit virusspezifischer RNS aus dem Maus-Mammakarzinom-Modell (Schlom u. Spiegelman 1974; vgl. Spiegelman 1974), daß sie in menschlichen Leukämiezellen, Sarkom- und Lymphomzellen verborgene RNS-Tumovirusgenome gefunden hätten, nicht dagegen in Zellen gesunder oder kreisfreier Patienten (vgl. auch Gallo et al. 1970, 1974). Die RNS-Tumovirusgenome verhielten sich zur Mäuseleukämievirus-RNS homolog, nicht aber zur RNS des Maus-Mammatumovirus bzw. des aviären Myeloblastosevirus als Kontrollen. Das Virusgenom wurde durch molekulare DNS-RNS-Hybridisierung nachgewiesen und durch den Simultantest auf Vorhandensein viraler Genprodukte, der Revertase und partikelgebundenen 70S-RNS, bestätigt (Schlom u. Spiegelman 1971; Gallo 1973; vgl. N. R. Miller et al. 1974).

Konditionale versus kausale Denkweise der Karzinogenese

Die Virusätiologie menschlicher Tumoren wird mit diesen Untersuchungen nicht endgültig bewiesen, aber es werden die Bedingungen für die mögliche Expression von Tumovirionen in den untersuchten Zellsystemen näher abgegrenzt. Es ist vorstellbar, daß Krebsgewebe die Aktivierung und Vermehrung von „Begleitviren“ selektiv fördern in Analogie zu weitverbreiteten akzidentellen Zellkulturkontaminanten wie Mykoplasmen (Stanbridge 1971; van Diggelen et al. 1977) oder der Vielzahl latenter (maskierter) Viren (R. J. C. Harris 1976). Das zwingt zur Entscheidung zwischen der Alternative „Virus induziert Krebs“ oder „Krebs induziert Virus“ (R. A. Weiss 1974).

Welchen Einfluß der genetische Kontrollapparat der Zelle auf die Aufnahme, Aktivierung und Ausprägung tumoviraler Gene hat, muß aus der äußerst seltenen *natürlichen* Tumorinduktion seitens weitverbreiteter tierischer RNS-Tumoviren geschlossen werden. Im Zusammenhang hiermit verdient die seltene Tumorinduktion durch das Epstein-Barr-Virus, ein Vertreter aus der DNS-Herpesvirus-Gruppe, Erwähnung. Das EB-Virus kommt bei vielen Menschen vor. Es stellt das erstvermutete ätiologische (kokarzinogene?) Agens einer menschlichen Neoplasie dar, des in bestimmten Gegenden Zentralafrikas endemischen Burkitt-Lymphoms sowie des weltweit verbreiteten nasopharyngealen Karzinoms

(Epstein u. Barr 1964; Burkitt 1962, 1969; vgl. De Schryver et al. 1969; Nonoyama et al. 1973; Klein 1972, 1975 a, 1975 b; Desgranges et al. 1975). Das EB-Virus gehört zu der Gruppe von Viren, bei denen bisher der Nachweis der Pathogenität für Menschen (infektiöse Mononukleose), der Onkogenität für Affen und der Anwesenheit in menschlichen Tumorgeweben des Burkitt-Lymphoms und nasopharyngealen Karzinoms fast regelmäßig erbracht werden konnte (Dulbecco 1973; Rapp u. Li 1974; Epstein 1975; P. H. Levine 1976; vgl. Klein 1976 a).

Übergreifende Aspekte der Tumorstammiologie und Krebsgenetik

Den entscheidenden Beitrag zur Erforschung der Bedingungen, die den Prozeß der Ausprägung von Tumorgenen und die Durchbrechung der genetischen Schutz- und Kontrollmechanismen charakterisieren, leistet die Krebsgenetik (Heston 1974). Gerade in der Frage der Tumorfrequenz einer karzinogenexponierten Population begegnen sich Aufgaben der Tumorforschung und Krebsgenetik. Wenn zum Beispiel ein Karzinogen die Verteilungskurve der Tumorfrequenz verschiebt, so daß die Wahrscheinlichkeit für Krebs bei allen Exponierten ansteigt, bietet der Begriff der genetischen Disposition oder Suszeptibilität (auch Konstitution) eine Erklärungsmöglichkeit. Der Begriff schließt die Summation der Wirkungen multipler Gene und nichtgenetischer Faktoren ein, die sich um einen Schwellenwert mit der Möglichkeit der alternativen Expression oberhalb oder unterhalb dieser Schwelle gruppieren (vgl. S. Wright 1934).

Inzuchtmäusestämme für mendelnde Kreuzungsversuche auf Tumorfrequenz

Little (1928, 1939) hat die Krebsgenetik entscheidend inspiriert. Anstelle der natürlichen Selektion, die zur Entwicklung der Arten mit ihren charakteristischen Tumortypen und Tumorfrequenzen geführt hat, selektierte er Inzuchtmäusestämme von Mäusen, die konstante, aber bei den einzelnen Stämmen differierende Tumorarten und Tumorfrequenzen aufweisen. Die genetische Analyse bedient sich der mendelnden Kreuzung auf Tumorfrequenz mit Mehrfach-Rückkreuzungen.

Maus-Mammatumorstammiologie-Modell und Krebsgenetik

Erstmals konnte die genabhängige Mammatumor-Empfänglichkeit der Mäuse gegenüber dem extrachromosomalen Bittnerschen Agens gezeigt werden (Anonym 1933). Die genetische Kontrolle der Replikation des Mammatumorstammiologie-Modell ergab sich aus Versuchen von Heston et al. (1945). Mit der erfolgreichen Keimzellenübertragung des Mammatumorstammiologie-Modell im Mäusestamm GR (Mühlbock 1965) wurde eine weitere Stütze der Provirus-Hypothese der vertikalen Virusausbreitung experimentell erbracht (Bentveltzen 1968, 1972).

Analoge genetische Übertragungsversuche mit Leukämieviren berichteten Rowe et al. (Rowe 1972; Rowe u. Hartley 1972; Rowe et al. 1972). Das Provirus, eine DNS-Kopie der Tumorstammiologie-Modell-RNS, enthält die virale Information und fungiert im Wirtsgenom als mendelndes Gen. Man kann sich vorstellen, daß das Provirus bei Stämmen niedriger Tumorquote durch ein System der Genregulation nach dem Vorbild des Regulatorgen-Repressor-Modells von Jacob und Monod reprimiert wird (Bentveltzen et al. 1972; Bentveltzen 1974).

Aktivierung von Tumorstammiogenen und/oder kompletten Tumorstammiogenen (Virogenen plus Onkogenen)

Experimentell gelang die Aktivierung von normalerweise reprimierten, vertikal übertragenen endogenen RNS-Tumorstammiogenen in vivo und in „virusfreien“ Zellkulturen verschiedenster Tierespezies (Lowy et al. 1971; R. A. Weiss et al. 1971; vgl. Lieber u. Todaro 1975; Lieber et al. 1975). Erwähnt seien die Aktivierung eines kompletten Mammatumorstammiologie-Modell durch Karzinogenbehandlung von Mäusen (Timmermans et al. 1969) und die Induktion früher Mammatumoren durch Hormonbehandlung (Van Nie et al. 1972), gleichsam die Fortsetzung und Vertiefung der klassischen Arbeiten zum Krebs-Hormon-Problem (Lacassagne 1932; vgl. Mühlbock 1965, 1972). Die Beschleunigung der neoplastischen Zelltransformation durch chemische Karzinogene wie Methylcholanthren und Benzpyren bzw. durch DNS-Tumorstammiogenen nach Zugabe von Mäuseleukämieviren (Rhim et al. 1973) gehört zum gleichen Problemkreis wie die chemische Induktion von Mäuseleukämieviren in Zellkulturen mit Jod- bzw. Brom-Desoxyuridin (Teich et al. 1973) sowie hamsterspezifischer RNS-Tumorstammiogenen in analoger Versuchsanordnung mit Methylcholanthren (Freeman et al. 1971).

Hinweise auf virale Agenzien vom Oncorna-Typ in Zell-Linien des Menschen

Da sich beim Menschen homologe Infektionsversuche mit virusverdächtigem Material verbieten (Bestätigung des dritten Henleschen Postulates), dienen genannte Modellversuche als Grundlage für experimentelle Arbeiten, aus menschlichen Zell-Linien Viren mit tumorvirusverdächtigen Eigenschaften und humanspezifischem Wirkungsspektrum zu isolieren und charakterisieren. Voraussetzung ist der gestaffelte Einsatz verschiedener Methoden, der Elektronenmikroskopie und Langzeit-Zellkultivierung, der Einwirkung virusaktivierender Antimetabolite sowie der Zellhybridisierungs-Technik (Gerber 1966; Svoboda et al. 1967; vgl. Okada et al. 1957; Okada 1958, 1969), bei der in Analogie zur Induktion lysogener Bakteriophagen infektiöse Viren nach der Zellfusion mit permissiven Indikatorzellen reaktiviert und freigesetzt werden („virus-rescue“). Weitere Methoden sind die selektive Anreicherung im Saccharose-Dichtegradienten (1,16 g/ml), die Nukleinsäure-Hybridisierung und der biochemische Revertase-Nachweis, schließlich die immunologisch-serologische Abgrenzung virustyp- und virusgruppen-spezifischer Proteine.

Mit mehreren dieser Testsysteme konnten in jüngerer Zeit suspekta Befunde viraler Agenzien vom Oncorna-Typ (wegen der reversen Transkriptase gilt die neuere Bezeichnung „Retroviren“) erbracht werden. Die endgültige Bestätigung im Pathogenitäts-Test auf Onkogenität an geeigneten Versuchstieren bleibt vorerst offen (Zhdanov et al. 1973 a, 1973 b; Gelderblom et al. 1974; H. Bauer et al. 1974; K. F. Watson et al. 1974; McGrath et al. 1974; Graffi et al. 1974, vgl. Graffi 1975; Gallagher u. Gallo 1975).

Vorstellungen der molekularen Genetik zur viralen Kanzerogenese

In den modernen Virushypothesen wird der Versuch unternommen, die Kanzerisierung der Zelle als Störung genkontrollierter Zelldifferenzierungsprozesse, also als pathologische Manifestation eines normalerweise fehlerfreien genetischen Informationsflusses zu erklären. Diese Auffassung räumt den informatorischen Virus-Nukleinsäuren normale Zellfunktionen während der Embryogenese und Gewebsdifferenzierung ein. Zum Beispiel könnten sie den Arten, in deren Zellen sie vorkommen, Selektionsvorteile vermitteln, die mit dem Schutz gegen virulente infektiöse Typ C-Viren (Todaro 1975) verbunden sind. Bei strikter Auslegung drängt sich die unitarische Auffassung der Krebsentstehung auf, indem mutative Strahlen oder chemische Agenzien, andere Viren, auch Alternsprozesse allgemein die Wahrscheinlichkeit einer tumorviralen Genausprägung mit Zelltransformation erhöhen. Ungeklärt bleibt aber, wie erwähnt, die Kenntnis des Zusammenspiels der Teilschritte und Stellglieder, die die molekulare Ebene des Informationsflusses zwischen Nukleinsäuren und Proteinen mit der Physiologie der Zelle verbinden und verständlich machen.

Spezielle Hypothesen über Virusonkogene und Zelldifferenzierung

Die Onkogen-Hypothese von Huebner u. Todaro (1969; Todaro u. Huebner 1972) betrachtet die neoplastische Zelltransformation als einen abartigen Differenzierungsschritt, das „Anschalten“ eines reprimierten Virusonkogens, das als endogene virale Information normalerweise in allen Zellen ruht und während der Mitose und Meiose, d. h. sowohl somatisch als auch über die Keimbahn, vertikal weitervererbt wird (vgl. Zilber 1954; Zilber u. Abelev 1968). Demgegenüber vertritt Temin in seiner Protovirus-Hypothese (1972, 1974 b, 1976) die Auffassung einer exogenen horizontalen Zellinfektion, die zu einer mutativen, d. h. De-novo-Inkorporation des Virusgens führt. Die „Kompetenz“ der Zelle zur Virusgen-Integration ergibt sich aus einem schon vorher vorhandenen fehlerhaften DNS-RNS-DNS-Informationsfluß. Verallgemeinernde Differenzierungshypothesen betrachten die Neoplasie als Ausdruck einer „Differenzierungskrankheit“, indem das Tumovirus selbst ein abartiges Kontrollgen darstellt und in ein „Super-Operon-System“ transduziert wird (Onkoduktions-Hypothese von Fischinger u. Haapala 1974), vergleichbar mit dem Erbfaktorenaustausch bei Bakterien, bei dem das transduzierende Phagenom bestimmte Bakteriengene des Spenderbakteriums auf das Empfängerbakterium überträgt (Zinder u. Lederberg 1952).

Fragen der biologischen Ebenen einer genetischen Kontrolle

Die angedeuteten komplexen Zusammenhänge zwischen viraler Kanzerogenese, Genregulation und Zelltransformation umfassen höhere Ebenen der Verknüpfung genkontrollierter „Differenzierungsprogramme“ zu „Entwicklungsprogrammen“, d. h. der dynamischen Hierarchie subzellulärer, zellulärer und organismischer Ebenen, angefangen bei den Strukturen und Funktionen der Zellorganellen, dann die Populationskinetik der Zellen, schließlich die Dynamik der Gewebsneubildung.

Wir vermuteten bei der Verfolgung unserer Studien zum Tumor-Tetanus-Phänomen, daß die beiden phylogenetisch nicht verwandten Zellpopulationen, Tumorzellen und Tetanus-Klostridien, in eine örtlich-zeitlich begrenzte Wachstumskorrelation eintreten können (Schneeweiß u. Fabricius 1975b). Die experimentelle und mathematische Analyse dieser Wachstumsbeziehung zwischen Eukaryoten und Protokaryoten eröffnet Möglichkeiten zur quantitativen Bearbeitung der In-vivo-Populationskinetik von Säugerzellklonen.

2.2.2. Morphogenese und Tumorummunologie

Krebswachstum, Morphogenese und Differenzierung

Betrachtet man Krebswachstum zellbiologisch als eine Störung der Morphogenese, bei der die normal programmierte Entfaltung verschieden differenzierter Zellverbände während der Embryogenese und Gewebsregeneration, das zeitlich-räumlich geordnete Hervorgehen von Geweben und Organen aus der befruchteten Eizelle (vgl. Flaxman u. Maderson 1976) oder das Eintreten der Differenzierungsstufen regenerierender Gewebsstammzellen verzögert sind, so gewinnt das Problem der koordinierten gegenseitigen Erkennung der Zellen eines Zellverbandes besonderes Interesse.

Im Moscona-Zellkulturversuch (1957) ordnen sich Mischsuspensionen von embryonalen Mäuse- und Hühnerzellen nicht entsprechend ihrer phylogenetischen Beziehung, wie Nierenzellen und Knorpelzellen der Maus bzw. Nierenzellen mit Knorpelzellen des Hühnchens, sondern nach ihrer funktionellen Differenzierung, das heißt Mäusenierenzellen mit Hühnernierenzellen bzw. Mäuseknorpelzellen mit Hühnerknorpelzellen. Die Erkennungsmechanismen sind offensichtlich distinkte Merkmale der Zellmembran und ihres den Zelltyp charakterisierenden Antigenmosaiks.

Antigenmuster der Zellmembran und Immunogenetik

In der Gruppe von Boyse (Boyse u. Old 1969) wurde die immunogenetische Untersuchung der Membranantigene von Mäuselymphoidzellen inauguriert. Es wurden die Methoden der Antikörperbestimmung und Absorptionstechnik (Gorer u. O'Gorman 1956) sowie der Immunelektronenmikroskopie mit ferritinmarkierten Antikörpern eingesetzt (Hämmerling et al. 1968; Aoki et al. 1969). Die Membranantigene erscheinen als umschriebene Bezirke mit bevorzugter Lage und unterschiedlicher Antigendichte. Ihre Ausprägung, Vererbung und Kopplung folgen gewöhnlich den Mendelschen Regeln (Boyse 1973). Man unterscheidet Struktur- oder Histokompatibilitätsantigene (vgl. Snell 1948), Differenzierungsantigene und Tumorantigene (Old u. Boyse 1964, 1966). Es interessiert zum Beispiel die Frage, ob Gross-Leukämievirogene des Zellgenoms, die die Tumormembranantigene und ihre Ausprägung kodieren, mit den Differenzierungsgenen des Wirtes gekoppelt sind und somit der genetischen Kontrolle zellulärer Differenzierungsprozesse unterliegen können (vgl. G. Pasternak et al. 1972).

Membranantigenmuster — genetische Variation oder epigenetische Modifikation

Neben der Annahme eines strikt genkodierten Membranantigenprofils steht als Modell der Zelldifferenzierung die Alternativhypothese eines epigenetischen Positionseffektes der Membranantigene: Ihr zufolge können sich neue Membranstruk-

turen unter dem Einfluß der vorhandenen Membranstrukturen einordnen, wenn sie unter den Einfluß von Außenfaktoren, z. B. homologen Antikörpern gelangen. Sie können dann phänotypisch, ohne unmittelbare Genwirkung, von der Mutterzelle auf Tochterzellen weitergegeben werden, wie es bei Paramaecien-Arten beschrieben wurde. Die Möglichkeit der Zwischenschaltung von Plasmagenen bleibt zu erwägen (Sonneborn 1943a, 1943b, 1943c, 1948, 1950; Sonneborn u. Beale 1949; Sonneborn 1964; Beisson u. Sonneborn 1965; vgl. Rose 1952).

Das Konzept der tumorspezifischen Transplantatantigene

Die Bedeutung membranologischer Zellecharakteristika für die analytische Tumorummunologie ging aus dem differenten Verhalten chemisch bzw. physikalisch induzierter Tumoren einerseits und virusinduzierter Tumoren andererseits hervor. Die Tumorantigene der erstgenannten sind vorwiegend individualspezifisch, die der letzteren gruppenspezifisch. Die Kreuzreaktivität kennzeichnet das gemeinsame ätiologische Agens. Methodisch wurden tumorspezifische Transplantatantigene vor allem an Inzuchtmäusen erforscht. Inzuchtrassen gehen aus mindestens 20 Generationen von Bruder-Schwester-Paarungen hervor. Sie tolerieren gegenseitig Hauttransplantate.

Tumortransplantatantigene wurden in tumorassoziierte Antigene umbenannt (neuere Übersichten bei Herberman 1977 und Björklund 1978). Man geht davon aus, daß sie dem Ursprungsgewebe fehlen. Daher stimulieren „antigenfremde“ Tumorzellen in einem syngenen Transplantationsversuch eine Immunantwort, während die entsprechenden Hauttransplantate reaktionslos toleriert werden. In den klassischen Arbeiten begann der Nachweis tumorspezifischer Transplantatantigene an chemisch induzierten Tumoren (Foley 1953; Prehn u. Main 1957). Bald wurden die ersten spezifischen Membranantigene bei virusinduzierten Tumoren beschrieben (Habel 1961; Sjögren et al. 1961). Die induzierte Immunantwort ist schwach und entspricht der Transplantatabwehr von wenigen Zehnerpotenzen Tumorzellen. Das besondere Interesse an Virustumoren erklärt sich deshalb, weil die Entstehung und Ausprägung der Tumormembranantigene andere Mechanismen erwarten läßt als bei chemisch induzierten Tumoren. Immunologisch konnte dies an den viruskodierten Membranantigenen der Tumorzellen bestätigt werden, die eine gut erforschte Gruppe umfassen (Aoki et al. 1974).

Hypothesen der Immunüberwachung des Krebses und Krebs-Immuntoleranz

Zu den Leitgedanken der Tumorummunologie gehörte das heuristische Prinzip der Tumorummunität. Vom Phänomen her ist die spezifische Abwehr von Tumorzellen mit dem erworbenen Schutz gegen Krankheitserreger zu vergleichen (Ehrlich 1900, 1907a, 1909). Das Ausbleiben der Antikörperbildung gegen körpereigene Zellen bezeichnete Ehrlich mit dem Begriff „Horror autotoxicus“. Beiden Vorstellungen begegnet man formal in der Hypothese der Krebsimmunüberwachung (Immunosurveillance: L. Thomas 1959; Burnet 1964, 1970a, 1970b; Good u. Finstad 1969) und der Immuntoleranz (Billingham et al. 1953). Sie führten als These und Antithese zum Tumorantigen zu einer Neuformulierung des klassischen Antigenbegriffes von Landsteiner (1933): Dieser war auf das Problem der immunologischen Spezifität im Sinne einer stereochemisch komplementären Bedingtheit von Antigen und Antikörper beschränkt.

Evolutionstheorie (Darwin) und Theorie der Antikörperbildung (Burnet)

Mit der Selektionstheorie der Immunität (Burnet 1959) und den Arbeiten zur Transplantat-Toleranz neonataler Mäuse (Billingham et al. 1953) wurde der Gedanke des Darwinschen Entwicklungsgesetzes in der Biologie (Darwin 1863, 1897) auf die zelluläre Ebene übertragen. Vom Phänomen her läßt sich die Evolution als eine Folge von Selektionsprozessen beschreiben. In ihrem Verlauf treten jeweils verschiedene mögliche Erscheinungsformen eines Systems miteinander in Konkurrenz, immunologisch die genetisch heterogene Immunzellpopulation des lymphoretikulären Gewebes. So führt der Prozeß der Immunisierung in Abhängigkeit von der jeweils besseren Anpassung, meßbar an der Bindungskraft zum korrespondierenden Antigen, zur Auswahl von Immunzellklonen mit immer zu-

nehmender Avidität ihrer Antikörper (vgl. Richter 1971, 1975). Die treibende Kraft dieses Ausleseprozesses ist die Antigenerkennung auf der molekularen Ebene. Das geschieht durch chemische Bindung, wobei die Bindungskonstante des Antigen-Antikörper-Gleichgewichtes den Selektionswert des jeweiligen Antikörpers (der „Antikörperpopulation“) charakterisiert (vgl. Bell 1970, 1971a, 1971b).

Die Annahme eines antigeninduzierten Auswahlprozesses der Immunzellklone geht davon aus, daß eine Vielfalt von präformierter Immunspezifität der Antikörper vorhanden ist. Sie basiert auf der Mannigfaltigkeit der Aminosäuresequenzen in den variablen Ketten der Antikörpermoleküle (Edelman 1970). Entsprechend dem molekularbiologischen Konzept der genkontrollierten Proteinsynthese ist diese Vielfalt in den Nukleinsäuren kodiert und wird bei Bedarf abgerufen (Nirenberg et al. 1965; Khorana et al. 1966; Matthaei et al. 1966). Offenbar bringt ein Lymphozytenklon nur *eine* Spezifität von Membranrezeptoren und Antikörpermolekülen hervor (Mäkelä u. Cross 1970). Nur die Lymphozyten mit den passenden Membranrezeptoren erkennen das korrespondierende Antigen und werden nach dessen Bindung zur Immunantwort stimuliert.

Die Modellierung der Initiation und Regulation der Immunantwort wird mathematisch wirklichkeitsnahe, wenn man von Burnets Klon-Selektionstheorie und dem mathematischen Modell von Bell ausgeht und die anatomisch-physiologisch bedingte Nichteinheitlichkeit der Immunzellverteilung sowie ihrer kooperativen Interaktionen, ferner die Prozesse des Antigen-Zellkontaktes und hiermit gekoppelter Membranphänomene der Signalübertragung analysiert (DeLisi 1977). Allgemeinen Theorien der Immunregulation, die zahlreiche Immunphänomene einschließen, werden beispielsweise folgende Annahmen, mathematisch vereinfacht, zugrunde gelegt (Hoffmann 1975): das „Schlüssel-Schloß-Prinzip“ E. Fischers (1894) der Komplementarität der Makromoleküle (vgl. Pauling 1974), die Netzwerkidee der gegenseitigen Erkennbarkeit der Immuneffektoren (Jerne 1971), eine quasistabile Ausgangslage des normalen Immunsystems und seine kinetischen Eigenschaften, die Konzentration der Reaktionskomponenten, schließlich als Grundprinzip die Stimulation, das heißt das Vorherrschen immunogener, nicht tolerogener Reize; das stimulierende Signal beruht auf dem Mechanismus der polyvalenten Rezeptorbindungen, während die Regulation (die spezifische Hemmung der Stimulation) dem Mechanismus monovalenter Bindungen an die gleichen Membranrezeptoren durch spezifische (T-Zellen-) Faktoren folgt.

Immunogenität und Tolerogenität des Antigens

Definitionsgemäß entspricht der immunogene Reiz eines Antigens einer (positiven) Immunantwort mit selektiver Immunzellklonierung, -differenzierung und Antikörperbildung. Vor der Geburt führt der Antigenkontakt gewöhnlich zur Unterdrückung bzw. Auslöschung entsprechender Immunzellklone. Das Phänomen der (negativen) Immunantwort kennzeichnet den tolerogenen Reiz des Antigens. Immunogenität und Tolerogenität sind, auf das jeweilige Antigen bezogen, gleichspezifisch. Die Tolerogenität bringt das Nichtreagieren des Immunsystems gegen „Selbst“ zum Ausdruck, obwohl es mit diesem dauernd im engen Kontakt ist.

Nach Medawar (1973) wurde die herkömmliche Interpretation der Immuntoleranz, eines zentralen Ausfalles der spezifischen Reaktivität von immunkompetenten Lymphozyten nach Kontakt mit dem korrespondierenden Antigen, noch nicht widerlegt. Die Schwierigkeit liegt darin, die Abwesenheit reaktiver Immunzellen oder die Anwesenheit nichtreaktiver Zellen unter einer genetisch heterogenen Immunzellpopulation widerspruchsfrei nachzuweisen (vgl. Brent et al. 1976).

Drei Hemm-Mechanismen der Transplantatreaktion

Billingham et al. (1956) diskutierten in diesem Zusammenhang drei mögliche Mechanismen der allogenen Transplantaterhaltung: eine afferente, zentrale oder efferente Hemmung der Immunantwort. Hierzu gehören die Phänomene des phänotypischen Antigenverlusts (Tumorantigenmodulation im Milieu der homologen Antikörper: Old et al. 1968), der Antigenüberladung (aktive Immuntoleranz oder Immunparalyse: Felton 1949; Felton et al. 1955; vgl. Chase 1971; I. R. Cohen et al. 1974) und der antikörperinduzierten Immundepression (passive Immuntoleranz oder Immuninterferenz, vgl. Voisin 1971; Rowley et al. 1973).

Immunologische Förderung des Tumorwachstums

Die Diskussion über die Funktion der tumorspezifischen Membranantigene, sie werden im weiteren Sinn, wie erwähnt, als tumorassoziierte Antigene bezeichnet, mündet in die Frage, durch welche Immunmechanismen Tumorzellklone eliminiert werden und ob zerstörende oder tumorfördernde Mechanismen natürlicherweise den Vorrang haben. Kaliss (1958) untersuchte das Phänomen der antikörperinduzierten Wachstumsförderung im allo-genen Tumor-Wirt-System. Die Erforschung dieses „immune enhancement“ führte zur Entdeckung kompetitiver Hemmphänomene an den Tumormembranantigenen, der Bedeutung zytotoxisch wirksamer Immunzellen (vgl. Gowans u. McGregor 1963; Gowans 1965, 1966) und Antikörper, der blockierenden Antikörper, der löslichen Antigene und/oder Antigen-Antikörper-Komplexe (vgl. Baldwin et al. 1974; Baldwin u. Robins 1976; Baldwin u. Embleton 1977).

Funktionell heterogene Immunzellpopulationen

Neue Erkenntnisse und Impulse kamen aus der Analytik der Immunzellen: zunächst die Wiederentdeckung der immunologischen Thymusfunktion (J. F. Miller 1961; vgl. J. B. Murphy u. Morton 1915; Murphy 1926), dann die Beschreibung der funktionell divergierenden, vom Thymus (T-) und Knochenmark (B-) abstammenden Lymphozyten (Immunzellkooperation: J. F. Miller u. Mitchell 1968), die Rolle der T-Lymphozyten bei der Zerstörung der Tumorzellen (Brunner et al. 1968, 1971; Cerottini et al. 1975; vgl. K. E. Hellström u. I. Hellström 1969; P. Perlmann 1972), schließlich die antikörpervermittelte Zytotoxizität von T-Lymphozyten (sog. K-Zellen oder „Killer-Zellen“: I. C. M. MacLennan et al. 1970; P. Perlmann u. H. Perlmann 1970), andererseits die Unterdrückung der tumorinduzierten Immunantwort durch „Suppressor-T-Zellen“ (Gershon et al. 1972). Ein offenbar gleicher, die Antikörperbildung reprimierender T-Zellen-Faktor hemmt die In-vivo-Vermehrung von Ehrlich-Aszites-Karzinomzellen (D. W. Thomas et al. 1975).

Genkontrolle der Immunantwort — tumorimmunologische Indifferenz

Der Einfluß von Genkontrollmechanismen auf die Immunantwort konnte durch Arbeiten an synthetischen Polypeptidantigenen vor allem von Benacerraf et al. (1971) sowie McDevitt et al. (1972) verifiziert werden. Meist ist die Fähigkeit zur Immunantwort (die Erkennung von „Nichtselbst“) mit den Histokompatibilitätsloci (die Ausprägung von „Selbst“) gekoppelt. Sie wird als mendelndes Gen dominant vererbt. Genlücken bedingen daher umschriebene Ausfälle der Erkennung und Beantwortung eines spezifischen immunogenen Reizes durch T-Zellen und/oder B-Zellen (McDevitt u. Benacerraf 1969; Mozes 1975).

Klein (1975c, 1976b) sprach von der möglichen Bedeutung einer evolutiven Selektion der Immunantwortgene gegenüber Tumorantigenen. Ihr Fehlen am Beispiel der Spontan-tumoren und auch bei chemisch induzierten Tumoren würde eine immunologische Inkompetenz zur Folge haben. Man kann diese Erscheinung mit den genbedingten Enzymdefekten vergleichen (Garrod 1902, 1909). Das Forschungsgebiet über „angeborene Fehler des Stoffwechsels“ gehörte zu der weiterführenden „Ein-Gen-ein-Enzym-Hypothese“ der Genetik der vierziger Jahre (Beadle u. Tatum 1941).

Bipolare Komplementarität von „Selbst“ und „Nichtselbst“ (Tauber)

Das Prinzip der Erkennung von „Nichtselbst“ durch die Ausprägung von „Selbst“, d. h. die Messung fremder Moleküle an den eigenen Zellmembranstrukturen, die die Individualität ausmachen, rückt die Bedeutung der Transplantatantigene des HLA-Systems (Dausset 1958) in den Mittelpunkt der Immunologie. Im HLA-System wird die Eigenart jedes Individuums auf molekularer Ebene festgelegt. Hierdurch wird die Erkennung von „Fremd“ erst ermöglicht (Tauber 1976, 1977; vgl. Geczy et al. 1975).

Entsprechend einer Grundregel in der Informationstheorie muß ein Kontrollsystem so viele Variablen besitzen wie das zu kontrollierende Substrat (vgl. Ebringer 1975). Daraus folgt, daß „Eigen“ als Bezugspunkt für „Fremd“ um so eher Fremdstoffen identifizieren wird, je mehr Eigenstrukturen vorhanden sind. Das vollzieht sich auf somatischer Ebene während der Embryonalentwicklung des Immunsystems (Allegretti 1976), indem die Vielfalt der Antikörperspezifitäten epigenetisch der (angeborenen) Vielfalt von Individualeigenschaften, d. h. des HLA-Typs, einer Kombination von HLA-Genprodukten

(vgl. van Rood et al. 1976), entspringt. Es handelt sich um einen Prozeß der Spezifizierung und Erweiterung eines individuellen Membranstruktur-Repertoires (Jerne 1971). Auf dieser Grundlage wird im Laufe der Ontogenese die Erkennung von „Nichtselbst“ durch Ausbau und Selektion eines Repertoires von T-Zellen-Membranrezeptoren „erlernt“, die nicht gegen „Selbst“ gerichtet sind (vgl. Möller et al. 1976). Da die Bildung der Antikörper im Sinne einer Verstärkung der B-Zellen-Immunreaktion unter der Kontrolle der T-Zellen bleibt, wobei sich individuelle Immunzellklone gegenseitig erkennen und hemmen (die „Erkennbarkeit“ der „erkennenden Elemente“ erklärt sich durch die *interne* Antigenfunktion der „idiotypischen Muster“ an den variablen Haftstellen der Antikörpermoleküle bzw. analoger Membranrezeptoren: R. J. Slater et al. 1955; Oudin u. Michel 1963; Kunkel et al. 1963; die sog. Anti-Antikörper: Binz u. Wigzell 1975), verharrt die natürlicherweise stabile Ausgangslage dieses „Immun-Netzwerkes“, sein sog. Eigenverhalten, auf dem allgemeinen Überwiegen der gegenseitigen Hemm-Mechanismen (Jerne 1973, 1974, 1977; vgl. Novotný 1976). Nach dem Kontakt mit *externen* Antigenen kommt es zur vorübergehenden Aufhebung hemmender Mechanismen, bis ein neues stabiles Gleichgewicht hergestellt ist.

Tumorimmunologische Sonderstellung der Spontantumoren

Die entscheidende Frage nach der Bedeutung der Tumorimmunologie für die Biologie des Geschwulstwachstums ist gegenwärtig nicht endgültig zu beantworten. Läßt man die meist ausgeprägte Immunogenität der virusinduzierten Tumoren außer acht (Klein 1975c, 1976b; Melnick 1976; Haughton u. Whitmore 1976; vgl. E. Klein et al. 1976), so sprechen nach Prehn (1971a, 1972, 1973, 1974; Prehn u. L. M. Prehn 1975) drei Argumente gegen ein allgemeingültiges Prinzip der immunologischen Krebsüberwachung, der spezifischen Erkennung und Eliminierung proliferierender Tumorzellen in statu nascendi (vgl. D. W. Weiss 1977):

Erstens dominiert bei den meisten Spontantumoren eine schwache Antigenität, die weder voll immunogen noch ausgeprägt tolerogen ist (Klein 1969, 1973), das „Paradoxon“ (der „Januskopf“) des Tumorantigens. Offenbar bewirken niedrige Dosen eines chemischen Karzinogens, z. B. Methylcholanthren, einen selteneren Tumorbefall mit einer geringeren Tumorantigenität. Spontantumoren solcher Art könnten einer „natürlichen“ Karzinogenese nahestehen (Prehn 1975, 1977b).

Immunstimulation (Prehn) contra Immunüberwachung — ein Wachstumsreiz des Tumors

Zweitens muß man das Wirksamwerden immunologischer Förderungsmechanismen, verglichen mit Hemm-Mechanismen, gegenüber frühen Tumorzellklonen im Auge behalten (Prehn 1976). Kennzeichnend sind das „Durchschleich-Phänomen“ kleiner im Gegensatz zu größeren Tumorzellinokula (Humphreys et al. 1962; Old et al. 1962), die Stimulierung der Tumorkolonien durch kleine Mengen Immunzellen (Fidler 1973; Medina u. Heppner 1973) sowie die positive Korrelation zwischen der (chemisch induzierten) Tumorantigenität, der Kürze der Tumorlatenz und der Wachstumsgeschwindigkeit (Prehn 1977a).

Immundefekte und lymphoretikuläre Neoplasien

Drittens treten hohe Inzidenzen vor allem lymphoretikulärer Neoplasien gerade dort in Erscheinung, wo man einen Defekt im Entwicklungsprozeß oder/und der Funktion der Immuneffektoren (Lymphozytenreifung, Antikörpersynthese) als Folge einer natürlichen oder artifiziellen Immundepression vermutet (vgl. S. Murphy 1975). Das zeigten die Ergebnisse von Karzinogenstudien an kongenital thymusfreien Mäusen (Stutman 1974; Outzen et al. 1975), die keine Erhöhung der Spontantumorrate ergaben (Rygaard u. Povlsen 1974).

Tumoren bei angeborener oder zytostatikabedingter Immundepression

Patienten mit angeborenem Ausfall umschriebener oder ganzer Teile des Immunsystems zeigen vergleichbare Erscheinungen (Gatti u. Good 1971; Waldmann et al.

1972; Kersey et al. 1972). Sie werden nach Zytostatika-Dauermedikation beobachtet wie nach Organtransplantationen (Penn 1974, 1975, 1976) oder als Folge von Autoimmunkrankheiten (C. C. Harris 1975).

Dessenungeachtet fand Stutman (1973) keine Beeinträchtigung der Immunantwort bei durch niedrige Dosen Methylcholanthren induzierten Sarkomen an genetisch suszeptiblen Mäusen: Das chemische Karzinogen wirkte nicht obligat immunsuppressiv. So bleibt die allgemeine Bedeutung der Immunfaktoren für den Ablauf der chemischen Karzinogenese unentschieden und muß von Fall zu Fall analysiert werden (vgl. Klein 1975 c, 1976 b).

Schon der bloße Kontakt syngener Methylcholanthren-induzierter Tumorzellen mit Immunzellen kann eine allgemeine (T-Zellen-)Immundepression des Wirtes in Gang setzen (Plescia et al. 1976). Die Autoren vermuteten einen Prostaglandin-Mechanismus, denn die Hemmung der In-vitro-Mitogenstimulation von Milzzellen durch Tumorzellen wurde partiell durch Prostaglandin-Antagonisten aufgehoben.

Zentrale Stellung der Makrophagen bei der Immunregulation

Es mehren sich Argumente, die für die zentrale Position des Makrophagen im afferenten und efferenten Arm der Immunantwort sprechen (vgl. die Arbeiten über das retikuloendotheliale bzw. -histiozytäre System wie Aschoff 1924; Benacerraf et al. 1957; Biozzi et al. 1957; van Furth u. Thompson 1971; van Furth et al. 1972; Lejeune 1975; Adams 1976; P. Alexander 1976; Hibbs 1977). Die Immunstimulation von Tumoren könnte z. B. durch wechselnde Anteile funktionell differenter Immunzellen (Makrophagen, Lymphozyten) bedingt sein (Fidler 1975), und ein zunächst starkes Überwiegen der Peritonealmakrophagen nach intraperitonealer Transplantation von Mäuseleukämie-L1210-Asziteszellen deutet auf immunreaktive Vorgänge (Berd u. Prehn 1977).

Rosenthal et al. (1978) haben die Ebene der Genkontrolle der Immunantwort, die Erkennungsfunktion im Zusammenwirken mit „Eigenstrukturen“ und die die Lymphozytenproliferation stimulierende Makrophagen-T-Zellen-Interaktion den Antigen verarbeitenden und weitergebenden Makrophagen zugeordnet. Es läßt sich nachweisen, daß Tumorstadium allgemein in der Klinik und im Experiment häufig mit einer Beeinträchtigung der Wanderung und Akkumulation der Makrophagen einhergeht (Brozna u. Ward 1975; Snyderman u. Pike 1977) und daß sich andererseits Möglichkeiten einer Modulation der Makrophagenaktivität durch antigene Stoffe seitens der Normalbakterienflora (Mansell et al. 1976; Schwab 1977) oder durch eine gezielte Anwendung bestimmter Immunstimulantien ergeben (vgl. Mathé 1976, 1977; Mathé et al. 1977).

2.2.3. Chemische Karzinogenese und Strahlenbiologie

Pharmakotoxikologie

der mutagenen und karzinogenen Wirkung von zytotoxischen Agenzien

Die Bemühungen um die Aufklärung des paradoxen Phänomens, daß Tumoren trotz einer intakten Immunabwehr chemisch induzierbar sind und daß bestimmte Zytostatika Krebszellen zerstören, aber auch induzieren können, haben sich nachhaltig auf die Transplantations- und Karzinogeneseforschung sowie auf die Chemotherapie des Krebses ausgewirkt. Vor allem handelt es sich um die beiden Stoffklassen der Alkylantien und Antimetabolite. Als „genotoxische“ Pharmaka entfalten sie neben toxischen auch mutagene und/oder karzinogene bzw. teratogene Wirkungen (Druckrey 1957; Druckrey et al. 1967; Magee 1975; Kalter 1975; Schein u. Winokur 1975; Sieber u. Adamson 1975; Sieber 1975). Druckrey hat die Bedeutung des Zeitfaktors in der chemischen Karzinogenese erkannt und untersucht (Druckrey u. Küpfmüller 1949; Druckrey 1959, 1965). Nach Buttergelbverfütterung an Ratten erwies sich die Hepatom-Gesamtdosis unabhängig von der Einzeldosis als praktisch invariabel

(ca. 1 g pro Tier) und entsprach dem Produkt aus Tagesdosis und Zeit (dem „Summationseffekt“).

Definition der Karzinogenese mit den drei Hauptvariablen

Zwei Alternativen gilt es zunächst auseinanderzuhalten, daß eine Substanz entweder eine spontan nicht vorkommende Krebsart regelmäßig und dosisabhängig beim Versuchstier erzeugt (Druckrey u. Schmähl 1962) oder daß sie zur Erhöhung der Spontanumorraterate der Testgruppe, nicht der Kontrollgruppe führt (N. Brock u. Schneider 1971). Der erste Fall berechtigt zur Annahme einer karzinogenen „Wirkungsspezifität“. Der zweite Sachverhalt bezieht unspezifische Faktoren ein.

Eine umfassende Definition der Karzinogenese berücksichtigt neben der Identifizierung des ursächlichen Agens, des Karzinogens, die Abgrenzung zweier weiterer Variabler, der Karzinogen-Exposition und der Wirts- oder Gewebsdisposition (Hecker 1976). Die Karzinogen-Exposition betrifft den Modus und das Muster der Einwirkung des Karzinogens auf den Organismus (es handelt sich um einen deskriptiv-toxikologischen Aspekt des „karzinogenen Prozesses“). Die Wirts- oder Gewebsdisposition liegt zeitlich vor dem Beginn des karzinogenen Prozesses und ist genetisch bedingt oder erworben.

Krebs und Altern bei Mäusen und Menschen

Die pharmakologischen Überlegungen sind von praktischem Belang, weil der stärkste Faktor der Zunahme der Krebsinzidenz beim Versuchstier und Menschen das Alter ist. Unter einer altersgemäßen Inzidenz versteht man die Zahl der Krebserkrankungen der jeweiligen Altersgruppe pro Zeiteinheit. Es stellt sich die Frage, ob der steile Anstieg der Krebshäufigkeit mit dem Alter von Faktoren des Alterns selbst abhängt, da eine lineare Beziehung zwischen dem Logarithmus des Alters und dem der Krebssterberate besteht (vgl. Cairns 1975a, 1975b).

Um zwischen Mechanismen des Alterns und den Einflüssen von Umweltkarzinogenen experimentell zu unterscheiden, wurden Hautpinselungen mit Benzpyren, die in unterschiedlichen Lebensaltern begonnen und bis ans Lebensende der Versuchsmäuse regelmäßig fortgesetzt wurden, durchgeführt. Sie erbrachten Erkrankungsdaten an Hautkrebs, die von der Dauer der karzinogenen Einwirkung, nicht vom Alter der Tiere abhingen (Peto et al. 1975). Das Ergebnis entsprach den Befunden an thymuslosen Mäusen von Rygaard u. Povlsen (1974). Ebenso erwies sich die kürzere *Lebenserwartung* der älteren Tiergruppen zum Zeitpunkt der Zweitbehandlung (der „Promotion“) im Zwei-Stufen-Hautkarzinogenese-Modell der Maus, abgesehen von der bekannten persistierenden Wirkung der Erstbehandlung (der „Initiation“), als der entscheidende Faktor, der die Abnahme der Tumorraterate dieser älteren im Vergleich zu jüngeren Tieren (nach Krebsinitiation mit Dimethylbenzanthracen und Promotion durch Phorbolmyristatacetat) erklärte: Die älteren Tiere erreichten nicht das „krebsfähige“ Alter (van Duuren et al. 1975).

Burnet (1974a, 1974b) hat postuliert, daß die Anhäufung somatischer Mutationen in den Stammzellen der Wechselgewebe den eigentlichen Alterungsprozeß darstellt und in Abhängigkeit von den DNS-Reparatursystemen der Zelle die arttypischen Lebensspannen festlegt. Diese Mutationsrate unterliegt evolutiven Kräften und könnte als gleiche Ursache das Altern wie auch die Zunahme des Alterskrebses der verschiedenen Spezies, 80 Jahre alter Menschen wie 80 Wochen alter Mäuse, erklären, ohne daß der allgemeine Alternsprozeß (wie das Nachlassen der Immunreaktivität; vgl. Walford 1974) einen Einfluß auf die Krebsentstehung hat (Peto et al. 1975).

Genetische In-vitro-Tests auf Mutagenität und Karzinogenität

Durch Zusammenarbeit von Toxikologen und Genetikern ist es gelungen, In-vitro-Methoden zu entwickeln, die potentiell karzinogene Wirkungen von chemischen Stoffen als Mutationen erfassen (WHO 1974). Unter Mutationen sind hier Erbänderungen zu verstehen, die auf äußere Einflüsse zurückgehen und die spontane Mutationsrate übersteigen. Nicht die Annahme einer Identität mutagener und karzinogener Prozesse ist die Leitlinie dieser Forschung sondern die Erwartung, daß Veränderungen an zellulären Makromole-

külen, z. B. der DNS, RNS oder Proteine, vererbare Änderungen im phänotypischen Verhalten der Zelle zur Folge haben können (Sarma et al. 1975). Die Einführung der Zellkultur versprach gleiche Vorzüge wie zur Erforschung der viralen Karzinogenese (C. Heidelberger 1970, 1973, 1975).

Abgrenzung primärer von sekundären Karzinogenen

Als Testobjekte erwiesen sich histidinabhängige Mangelmutanten von *Salmonella typhimurium* als geeignet, die durch Mutagene zur Histidinsynthese rückmutieren (Ames 1971). Hiermit lassen sich primäre, direkt wirkende Karzinogene identifizieren. Der Vorteil des Bakterientests liegt darin, daß die zu untersuchende Substanz mit Millionen haploiden Mikroben inkubiert werden kann. Seltene Mutationen werden dadurch schnell einer Beurteilung zugänglich.

Da die Wirkung zahlreicher Karzinogene von metabolischen Aktivierungsprozessen abhängig ist, die zugleich eine entgiftende Funktion besitzen können, wurde das Testsystem komplettiert: Hierzu werden die Bakterien zusammen mit metabolisch aktiven Lebermikrosomen und der karzinogenen Substanz inkubiert (Ames et al. 1973a, 1973b; Ames 1974; Ames et al. 1975; vgl. McCann et al. 1975; McCann u. Ames 1976a; Bridges 1976; McCann u. Ames 1976b). Allgemein liegt das Wesentliche der Wirkung von sekundären Karzinogenen in der Aktivierung durch Oxygenasen des endoplasmatischen Retikulums zu elektrophilen Molekülen, die mit DNS, RNS oder Protein reagieren (E. C. Miller u. J. A. Miller 1947, 1966; J. A. Miller 1970; J. A. Miller u. E. C. Miller 1971; E. C. Miller u. J. A. Miller 1974); das Problem bedarf einer weiteren theoretisch-experimentellen Bearbeitung (vgl. Scribner 1975; Fonstein et al. 1975). Der Nachweis kovalenter Bindungen von Kohlenwasserstoff-Epoxiden an genannte Makromoleküle (Grover et al. 1971) knüpft an die Boylandsche Hypothese der Epoxid-Aktivierung an (Boyland 1950; Boyland u. Sims 1964, 1965a, 1965b).

Eine neuere Übersicht über den allgemeinen Schutzeffekt von Antioxydantien gegen Karzinogene stammt von Apffel (1976; vgl. auch Falk 1971). In der Bindung aktivierter Intermediärstufen der Sauerstoffreduktion an Cytochromoxidase wird ein wichtiger natürlicher Schutzmechanismus gegen die Abdiffusion reaktiver Radikale mit den möglichen Folgen für die Karzinogenese vermutet (Chance 1976).

Zellkultur-Tests auf Karzinogenität

In embryonalen Hamsterzellkulturen erbrachte die Analyse der Benzpyren-Dosis-Antwort-Kurven einen „Ein-Treffer-Effekt“ der Zelltransformation (Huberman u. Sachs 1966). Durch Mitkultivierung von letalbestrahlten, Kohlenwasserstoff-metabolisierenden Hamsterzellen zeigte sich eine deutliche Korrelation zwischen der Karzinogendosis und der Rate der Zelltransformation und Zellmutation (Huberman 1975).

Initiations-Promotions-Modell (Berenblum) — „Mehrstufenkontinuum der Karzinogenese“

Die Komplexität der chemischen Karzinogenese wurde durch Studien der Kokarzinogenese in definierbare Stadien aufgeteilt (Berenblum 1974; vgl. Hecker u. Schmidt 1974); dies ermöglichte die Verfolgung zellulärer und molekularer Mechanismen: mit Zellkulturmethoden vor allem der frühen Ereignisse der Krebsinduktion (Vasiliev 1975; Epifanova et al. 1975). Erster und essentieller Schritt der chemischen Karzinogenese ist die Initiation (Berenblum 1941, 1954), eine kurzzeitige, offenbar spezifische Reaktion zwischen einem aktivierten Karzinogen und einer „Zielzelle“, d. h. einem kritischen Rezeptor eines Makromoleküls, im Falle einer somatischen Mutation z. B. der DNS (Dipple 1975). Der initialen Fokalinduktion „neuprogrammierter“ Zelltypen folgt die Promotion oder Krebsentwicklung (Mottram 1944; vgl. Berenblum u. Shubik 1947; Farber 1973). Sie durchläuft die langsame Stufenfolge einer wenig verstandenen Populationsdynamik der Zellektion, Klonierung und (De)Differenzierung (Reifungsverzögerung), die über reversible prä-maligne Gewebsalterationen zur irreversiblen (epigenetischen) Entwicklung oder Progression (Foulds 1958, 1964) mit abartiger Gefäßneubildung fortschreitet.

Ein wichtiger Schritt im Mehrstufenkontinuum ist die Bildung des Tumor-Angiogenesefaktors (Folkman et al. 1971; Folkman 1974; vgl. Algire u. Chalkley 1945; Dittmar u. v. Haller 1947; Greenblatt u. Shubik 1968). Er bewirkt die frühe Vaskularisierung eines

intraepithelialen Aggregates von Tumorzellen und das Ingangkommen einer stürmischen Zellvermehrung. Der Übergang der Neoplasie von der avaskulären in die vaskuläre Phase läßt sich an der Iris des Kaninchenauges untersuchen (Gimbrone u. Gullino 1974).

Krebslatenz und Promotion, die Folge kokarzinogener Reize

Die experimentell meßbare Latenzzeit zwischen Initiation (nach submanifester Karzinogen-Exposition) und Promotion (der Tumormanifestation nach Kokarzinogen-Exposition) wird durch „Promotoren“, d. h. kokarzinogene Stoffe mit unspezifischer Wirkung auf die Proliferation und vermutlich spezifischer Wirkung auf die Reifungsverzögerung der getroffenen Zellen, modifiziert (Berenblum 1954; vgl. Hecker 1967, 1968; Kreibich et al. 1971; Hecker u. Schmidt 1974). Eine solche Deutung deckt sich zum Beispiel mit den ultramikroskopischen Befunden an Basalzellen der Mäuseepidermis nach Karzinogen-Kokarzinogen-Behandlung in der Studie von Raick (1974 a; Raick 1974 b). F. J. Burns et al. (1976) untersuchten die regressiven Vorgänge der Zellpopulationskinetik in Hautpapillomen der Maus nach vorzeitigem Absetzen der Promotoren.

Bedeutung der epithelial-mesenchymalen Interaktion für die chemische Karzinogenese

Welche Rolle der intergeweblichen Desorganisation als „Schrittmacher“ für die Tumorzellinvasion zukommt (Tarin 1967), konnte in den Versuchen von Billingham et al. (1951) sowie Marchant u. Orr (1953) gezeigt werden: Die Autoren transplantierten karzinogen-bepinselte Epidermis auf ungepinselte Dermis und umgekehrt; im ersten Fall entstanden keine, im zweiten Fall viele Tumoren. Elektronenoptisch findet man in der epidermalen Umwandlungszone eine Fragmentation der amorphen Basalmembran (Tarin 1972), die eine Art Kollagen darstellt (Kefalides 1970). Als Differenzierungsprodukt reifender Fibroblasten hat Kollagen die Schlüsselrolle für die Aufrechterhaltung der Gewebe-, Organ- und Körperstruktur (Grobstein 1962). Seine Menge und intermolekulare Vernetzung korreliert invers mit der Mitoseaktivität der Fibroblasten sowie mit der Hautempfindlichkeit gegenüber einer chemischen Tumorinduktion (Seilern-Aspang et al. 1969). Der Entstehung des Hautkrebses geht eine bleibende Abnahme des Dermiskollagens voraus. Nach Hautpinselung mit Krotonöl, einer Promotorsubstanz, ist die Veränderung der Kollagenmenge reversibel, desgleichen nach kurzer Karzinogeneinwirkung, die zu keiner Krebsbildung führt (Mazzucco 1972).

Prospektive Studien zur Erforschung der Bedingungen der Krebsinduktion

Allgemein haftet der retrospektiven Analyse von Mutations- und Transformationsvorgängen die Unsicherheit der richtigen Interpretation an, ob erstere letzteren vorausgehen oder beide identisch oder notwendig sind, oder ob die bereits transformierte Zelle die sichtbare Mutation toleriert (Schroeder 1975). Erst durch prospektive Untersuchungen werden die Bedingungen der Krebsinduktion unter Berücksichtigung zellbiologischer Parameter genauer abgegrenzt (Sarma et al. 1975; B. W. Fox 1975), u. a. durch die Natur der Läsion, den Funktionszustand der DNS, die Art des DNS-Reparatursystems (Exzisions- und Postreplikationsmechanismen: Rasmussen u. Painter 1964, 1966), ferner durch Analyse des Zellzyklus, hormonaler Einflüsse und der Ernährungsfaktoren. Gelänge die lückenlose Aufklärung des Mechanismus auch nur eines Karzinogenese-Modells mit einem Karzinogen an einem Gewebe und Erzeugung eines Tumortyps, wäre der wichtigste Schlüssel zur Biologie und Medizin vieler Tumorarten gefunden (S. Fiala u. E. S. Fiala 1976).

Treffbereichstheorie und zellphysiologische Radiobiologie

Bezieht man diese Fragen auf die Entwicklung der biologischen Strahlenforschung, so lag der ursprünglichen Treffertheorie der Gedanke der Strahlenwirkung als Ausdruck der quantenhaften Natur der eingestrahnten Energie zugrunde. Ionisation und Anregung wurden als Poisson-verteilte primäre Trefferereignisse angegeben. Die Erweiterung zur Treffbereichstheorie (Zimmer 1960) betrachtete die Dosis-Effekt-Kurven als voraussagbare Wahrscheinlichkeiten für das Eintreten von Trefferereignissen in umschriebenen strahlenempfindlichen Zellbereichen.

In der heutigen Strahlenbiologie wurde die Geschlossenheit dieser mehr formalen Betrachtung zugunsten der Einbeziehung zellphysiologischer Gesichtspunkte aufgegeben. Die Hauptschwierigkeit der Analyse liegt in der Unkenntnis des primären Wirkungsortes und des Wirkungsmechanismus. Während bei der direkten Strahlenwirkung der Ort der Energieabsorption und das kritische Ereignis (nach metabolischer Verstärkung) identisch sind, vermutet man bei der indirekten Strahlenwirkung Radiolyseprodukte des Wassers, die als freie Radikale andernorts mit strahlenempfindlichen Zellstrukturen reagieren.

DNS-Reparatursystem als „Bindeglied“ der Mutagenese und Karzinogenese

Für die Wechselwirkung energiereicher Strahlen und Zellen gilt das gleiche Paradoxon wie für Zytostatika (sog. Radiomimetika): Strahlen vernichten oder erzeugen Krebszellen (Fritz-Niggli 1966). Bei Zuordnung der Schlüsselrolle eines primären Informationsträgers bekommen Mechanismen zur Erhaltung der funktionellen Integrität der DNS und der biologischen Zellaktivität besonderes Gewicht. So ist das Argument zu verstehen, daß das DNS-Reparatursystem ein Bindeglied zwischen Mutagenese und Karzinogenese sei und daß der Analytik der Erholungsprozesse in Bakterien- und Zellkulturen besonderes Interesse beizumessen ist. Günstige Strahlenobjekte waren zunächst strahlenresistente Bakterien der Art *Micrococcus radiodurans* (A. W. Anderson et al. 1956).

Das „Schulterphänomen“ der Zellkultur-Überlebenskurven nach Bestrahlung

Die ersten Dosis-Antwort-Kurven für ionisierende Strahlen mit Zellkulturen konnten H. B. Hewitt u. Wilson (1959) erarbeiten. Typisch ist die „Schulterregion“ zum Beginn der exponentiellen Überlebenskurve. Als Zelltod wurde der „Mitosetod“ definiert, der besagt, daß Zellen ihre Teilungsfähigkeit verlieren (Alexander 1966). Nähere Untersuchungen des Schulterphänomens durch Elkind u. Sutton (1959, 1960; Elkind et al. 1961) mit zwei Subletaldosen an Stelle einer singulären Dosis ergaben Hinweise für metabolische Erholungseffekte, eine Temperatur- und Energieabhängigkeit (Elkind et al. 1965; E. J. Hall 1972) sowie kurzzeitige DNS-abhängige RNS-Synthesen (Elkind u. Kano 1970).

Gendefekte bei Xeroderma pigmentosum

Wichtig war die Entdeckung, daß die veränderte DNS „herausgeschnitten“ wird und ein neuer DNS-Einbau erfolgt. Die Entdeckung dieses Mechanismus geht auf die Arbeit von Setlow u. Carrier (1964) zurück und hat stimulierend auf Versuche zur Klärung der Erholungsvorgänge gewirkt. Ein interessantes Studienobjekt bieten autosomal rezessive Erbleiden mit einer erhöhten Chromosomeninstabilität, nachdem bei einem von ihnen, dem Xeroderma pigmentosum (Hebra u. Kaposi 1872), ein Gendefekt entdeckt werden konnte (Y.E. Cleaver 1968). Es handelt sich um einen Enzymausfall im komplexen DNS-Reparatursystem der Zelle. Die hohe Sonnenlicht-Empfindlichkeit der Patienten ist mit einem starken Hautkrebsrisiko behaftet. Exponiert man ihre Zellen Ultraviolettstrahlen *in vitro*, so werden bestimmte Chromosomenläsionen sichtbar. Die Behandlung der Zellen mit Karzinogenen läßt abgestufte Grade einer verminderten oder verzögerten DNS-Reparatursynthese erkennen (Stich u. San 1971; J. H. Robbins et al. 1974), die in entsprechenden Zellhybridisierungs-Versuchen vier verschiedenen Komplementationsgruppen, somit mindestens vier unterschiedlichen Genläsionen (Mutationen) zugehören können.

Probleme der DNS-Reparatur und Wiederherstellung vitaler Zellfunktionen

Bisher fehlen jedoch quantitative Daten über Beziehungen zwischen DNS-Reparatur und biologischen Elementarfunktionen der Zelle. Es bleibt die Frage zu beantworten, ob DNS-Reparaturprozesse der biologischen Erholung gleichzusetzen sind und die Teilungsfähigkeit der Zelle wiederherstellen oder ob sich zum Teil „Fehlreparaturen“ im Sinne der Synthese von biologisch sinnlosen Strukturen herausbilden können (B. W. Fox u. Lajtha 1973).

Kondo (1977) hat versucht, die Mutationstheorie der chemischen Karzinogenese durch einen Vergleich kultivierbarer Mäusezellen mit der Mutagenese von Kolibakterien auf der Grundlage einer postreplikativen DNS-Fehlreparatur experimentell zu stützen. Als Mutagen (Karzinogen) diente 4-Nitrochinolin-1-Oxid. Es bewirkt dem UV-Licht analoge prä-

mutive DNS-Läsionen. Die getroffenen, das heißt Karzinogen-initiierten Stammzellen waren gegen die potenzierende Letalwirkung von Coffein nur während der ersten Replikationsrunde hochempfindlich (vgl. Nomura 1976). Ausgehend von der Cairnsschen Vorstellung (1975a), daß physiologischerweise der ältere, *nicht mutierte* der beiden Parentalstränge im Gefolge der semikonservativen DNS-Replikation bei der teilungspotenten der beiden inäqualen Tochterzellen verbleibt, können (nach äqualer Zellteilung infolge Stammzellverlust) neu entstandene Stammzellen dem potenzierenden Letaleffekt des Coffeins entgehen. Voraussetzung wäre ein der Exzisionsreparatur nicht zugänglicher mutierter Klon, der im Verlaufe der Promotion zu invasiv proliferierenden Tochterstammzellen weiterwachsen kann.

Burnets Evolutionshypothese der fehlerhaften Polymerasen

Die allgemeine biologische Bedeutung des DNS-Reparatursystems der Zelle als mitbestimmendes Prinzip für mutative Prozesse sieht Burnet (1974a, 1974b) vor allem aus der Sicht der Evolution: Einerseits entscheidet die Fehlerrate der Schlüsselenzyme der DNS-Replikation und -Reparatur über die Mutationsfrequenz prämutativer Läsionen, andererseits ist diese nach phänotypischer Ausprägung der mutierten Merkmale in den Mutanten dem Angriff evolutiver Kräfte unterworfen. Häufig entscheidet daher das kompetitive Spiel fehlerfreier und fehlerbehafteter Polymerasen an der prämutativen Läsion über den weiteren Weg, der von der Prämutation über die Mutation zur Mutante führt, also über den Einfluß mutagener und/oder karzinogener Umweltfaktoren.

Diese Tatsache hat in den Mutagenitätstests noch nicht genügend Berücksichtigung gefunden (Clarke 1975; vgl. auch Bates 1976). Bis jetzt gibt es, wie erwähnt, kein Experiment, das alle molekularbiologischen Prozesse bis zur Ausbildung eines Tumors zu erfassen erlaubt (J. V. Frei 1976).

2.2.4. Zellpopulationskinetik und Chemotherapie

Erholungsprozesse der Zellpopulation und Mitosebestimmung

Von den Erholungsprozessen der Einzelzellen sind die der Zellpopulationen abzugrenzen. Es handelt sich nach Einwirkung verschiedener Noxen um die Änderung der Kinetik der Zellpopulation (Geschwindigkeit und Mechanismus der Zellteilung) durch Variation des Proliferationsmusters. Hierbei treten Sensitivitätsunterschiede der einzelnen Zyklusphasen hervor (Sinclair u. Morton 1965). Mit der Formulierung des Zellzyklus (Howard u. Pelc 1951) hat die Erforschung der Zellbiologie einen wichtigen Erkenntniszuwachs erfahren. Die klassische Methode war die Mitosebestimmung (F. Wassermann 1929). Sie gibt keinen Hinweis auf den wahren Anteil der proliferierenden Zellgruppen, die sog. Wachstumsfraktion, die sich auf ein Zwei-Kompartiment-System gründet (Mendelsohn 1960, 1962), denn ein niedriger Mitose-Index kann wenigen schnell wachsenden und vielen langsam wachsenden Zellen zugeordnet sein.

Der Zellzyklus der Radioisotopentechnik

Daher bedeutete die Einführung der Autoradiographie (L. F. Bélanger u. Leblond 1946; Fitzgerald et al. 1951) mit markierten Präkursoren der DNS (Reichard u. Estborn 1951; Friedkin et al. 1956) einen wesentlichen Fortschritt. Zwei Entdeckungen bildeten die Grundlage: Die Periode der DNS-Synthese benötigt eine definierte Zeit der Interphase mit wichtigen Stoffwechselprozessen für die Zellteilung, und tierische Gewebszellen lassen sich in drei Subpopulationen oder Kompartimente gliedern, solche die sich ständig im Teilungszyklus befinden, in ruhende, aber teilungsfähige Zellen und in die nicht teilungsfähigen Zellen (Lipkin 1971).

Definition des Tumorwachstums aus zellpopulationskinetischer Sicht

Mit der Unterteilung in drei Zellklassen wurde die zellkinetische Beschreibung des Gewebewachstums präzisiert: Die Zellvermehrung oder Zellneubildung erfolgt durch