

Beitrag zur Kenntnis der Bausteine der Zellen von Tumoren.

Von

Emil Abderhalden und Florentin Medigreceanu.

(Aus dem Imperial Cancer Research Fund, London, und dem physiologischen Institut der tierärztlichen Hochschule, Berlin.)

(Der Redaktion zugegangen am 28. August 1910.)

Wiederholt ist die Frage aufgetaucht, ob die am Aufbau von Tumoren, speziell der bösartigen, beteiligten Bestandteile in ihrer Zusammensetzung Abweichungen gegenüber der Norm zeigen. Wie an anderer Stelle schon wiederholt zum Ausdruck gebracht worden ist, eilt hier die Fragestellung unseren Kenntnissen weit voraus, und vor allen Dingen werden an die Methoden Anforderungen gestellt, denen sie nicht zu genügen vermögen.¹⁾ Das Hauptinteresse wurde den Proteinen zugewandt. Sind die Eiweißstoffe der Tumorzellen anders gebaut als die Proteine normaler Zellen? Diese Frage wurde zum Teil bejaht. Es wurde z. B. in Carcinomgewebe mehr Glutaminsäure gefunden als in normalen Geweben.²⁾ Wir sind der Ansicht, daß sich dieses wichtige Problem nicht in so direkter Weise entscheiden läßt, wie es bisher versucht worden ist. Es muß eine Etappe nach der anderen genommen werden.

Das ganze Problem läßt sich zunächst von zwei Gesichtspunkten aus in Angriff nehmen. Erstens kann man den Versuch machen, nach bestimmten Methoden vergleichsweise aus Tumorgewebe und dem entsprechenden Mutterboden Proteine zu isolieren. Es wäre dann zu entscheiden, ob aus den Geschwulst-

¹⁾ Die gesamte Literatur über diese Frage findet sich zusammengestellt bei Ferdinand Blumenthal, Die chemischen Vorgänge bei der Krebskrankheit. Asher-Spiro, Ergebnisse der Physiologie, 1910.

²⁾ Emil Abderhalden, Klinische Eiweißuntersuchungen, Zeitschrift für experimentelle Pathologie und Therapie, Bd. II, S. 642, 1906.

zellen sich eigenartige Eiweißstoffe gewinnen lassen oder aber, ob ein auch sonst vorhandener Eiweißstoff in besonders großen Mengen auftritt. In zweiter Linie würde dann eine eingehende Untersuchung der isolierten Proteine auf ihre Bausteine notwendig sein. Dieser Gang der Untersuchung wäre sicher der zweckmäßigste. Er wird jedoch sehr erschwert durch den Mangel an Kenntnissen über Zellproteine im allgemeinen und dann auch durch das Fehlen von genügendem Material.

So muß notgedrungen ein zweiter Weg beschritten werden. Es muß die Frage entschieden werden, ob die Gesamtproteine der Geschwulstzellen Bausteine aufweisen, die anderen Proteinen ganz fehlen oder aber in geringerer oder größerer Menge vorkommen. Auch hier sind der Fragestellung durch die uns zur Verfügung stehenden Methoden sehr enge Grenzen gezogen. Wir besitzen nur für ganz wenige Aminosäuren quantitative Methoden. Zur Prüfung auf neue Bausteine fehlt das Material. So bleibt schließlich nichts anderes übrig, als die Frage zu entscheiden, ob von den quantitativ bestimmbaren Aminosäuren die eine oder andere in Geschwulstgewebe in auffallend vermehrter oder verminderter Menge vorkommt. Wird eine solche Feststellung erhoben, dann darf noch lange nicht behauptet werden, daß der Nachweis eines Proteins geglückt sei, das eine eigenartige Zusammensetzung besitzt. Der Einwand bleibt immer offen, daß Veränderungen in der Zusammensetzung des Zelleiweißgemenges die Ursache des beobachteten Unterschiedes im Gehalt der einen oder anderen Aminosäure sein kann. Das Zelleiweiß stellt sicher ein großes Gemenge recht verschieden zusammengesetzter Proteine dar. Es ist wohl möglich, daß Proteine unter ihnen sich befinden, die z. B. viel Glutaminsäure besitzen, während andere davon weniger aufweisen. Durch eine Verschiebung des Mengenverhältnisses dieser beiden Proteine muß eine Änderung des Glutaminsäuregehaltes des Gemisches zustande kommen. Hämoglobin besitzt bekanntlich viel Histidin. Würden wir den Histidingehalt der Proteine des gesamten Blutes bestimmen, dann würde natürlich ein Mindergehalt des Blutes an Hämoglobin den Gesamtwert an Histidin herab-

drücken, ohne daß irgend ein Protein im geringsten in seiner Zusammensetzung verändert zu sein braucht. Unter diesem Gesichtspunkt sind alle Versuche, eine Abartung in der Zusammensetzung von Zellproteinen aufzufinden, zu beurteilen. Keine einzige dieser Untersuchungen hat Beweiskraft.

Unter Berücksichtigung der eben mitgeteilten Einwände gegenüber bestimmten Schlußfolgerungen aus Feststellungen, über einen verschiedenen Gehalt der Zellproteine an bestimmten Bausteinen, darf eine solche Beobachtung nur als eine erste Etappe in der ganzen Fragestellung aufgefaßt werden. Es muß nunmehr versucht werden, aus den Tumoren bestimmte Proteine zu isolieren und festzustellen, ob eines dieser durch die Gewinnungsart charakterisierten Proteine eine eigenartige Zusammensetzung besitzt. Damit kommen wir wieder auf den oben erwähnten ersten Weg zurück.

Die Bestimmung einzelner Bausteine im Zelleiweißgemisch kann zurzeit als eine Vorprüfung aufgefaßt werden. Mehr Bedeutung kann sie nicht beanspruchen. Sie soll entscheiden, ob es sich lohnt, die Proteine der Tumorzellen zu trennen, und nach welcher Richtung wir zu suchen haben. Würden z. B. sehr viele Diaminosäuren gefunden, dann wäre nach Proteinen aus der Gruppe der Histone zu fahnden usw.

Von diesen Gesichtspunkten aus wollen wir auch die folgenden Versuche aufgefaßt wissen. Unsere Fragestellung war folgende: Zeigt die Summe der Zellproteine verschiedenartiger Tumoren Unterschiede in ihrem Gehalte an Tyrosin, Glutaminsäure und Glykokoll?

Zur Untersuchung gelangten drei Carcinome aus der Leber von Kühen (primäre Adenocarcinome der Leber von Kühen), Sarkom von Ratten und Carcinom von Mäusen (Tumor 63¹).

Sämtliche Tumoren wurden zunächst durch Waschen mit physiologischer Kochsalzlösung von Blut befreit. Die nekrotischen Stellen wurden dabei möglichst entfernt. Dann wurden die gröbereren Tumorstücke zerkleinert. Nachdem dann das Tumorgewebe bei 105° getrocknet worden war, wurde es in einer Reibschale zu Pulver zerrieben. Dann wurde die Masse

¹) Vgl. die Beschreibung diese Zeitschrift, Bd. LXII, S. 145, 1909.

mit absolutem Alkohol und dann mit Tetrachlorkohlenstoff erschöpft. Nunmehr wurde in einem aliquoten Teil der Aschengehalt und der Stickstoffgehalt bestimmt. Ferner wurde ein Teil bis zur Gewichtskonstanz bei 120° getrocknet.

Die Bestimmung der drei genannten Aminosäuren erfolgte in der üblichen Weise. Wir kochten das Tumorgewebe 20 Stunden mit der fünffachen Menge 25%iger Schwefelsäure. Dann wurde von dem Ungelösten abfiltriert. Der Rückstand wurde mit verdünnter Schwefelsäure gewaschen und dann nochmals 10 Stunden mit 25%iger Schwefelsäure gekocht. Es wurde wieder filtriert. Der Rückstand wurde nun mit destilliertem Wasser so lange gewaschen, bis das Filtrat keine Reaktion auf Schwefelsäure mehr gab. Er wurde dann bei 120° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Wir haben diesen Rückstand kurzweg Melanin genannt.

Alle Filtrate wurden vereinigt und nun die Schwefelsäure mit Baryt quantitativ entfernt. Der Baryumsulfatniederschlag wurde abfiltriert und in der üblichen Weise wiederholt ausgekocht. Das Tyrosin wurde durch Einengen der vereinigten Filtrate vom Baryumsulfat gewonnen. Das Rohtyrosin wurde durch Umkrystallisieren unter Anwendung von Tierkohle gereinigt.

Die Mutterlauge des Tyrosins diente zur Gewinnung der salzsauren Glutaminsäure. Wir engten sie ein, nachdem wir sie mit Tierkohle fast ganz entfärbt hatten. Dann leiteten wir gasförmige Salzsäure in die Lösung ein. Die durch fraktionierte Krystallisation erhaltenen Krystallmassen wurden dann unter Anwendung von Tierkohle aus verdünnter Salzsäure umkrystallisiert.

Zur Bestimmung des Glykokollgehaltes wendeten wir die Estermethode an. Es ließ sich kein Glykokollesterchlorhydrat direkt abscheiden. Wir konnten das Glykokoll erst nach erfolgter Infreiheitsetzung der Ester gewinnen. Die Glykokollbestimmung kann keinen großen Anspruch auf Exaktheit machen. Bei den Versuchen, das Glykokollesterchlorhydrat direkt nach erfolgter Veresterung abzuscheiden, waren geringe Verluste unvermeidbar. Es mußte wiederholt filtriert werden, um das abgeschiedene Chlorammon zu entfernen.

Wir haben die Werte für die einzelnen Aminosäuren auf den Eiweißgehalt der Tumoren bezogen und diesen dadurch berechnet, daß wir den gefundenen Stickstoffwert mit 6,25 multiplizierten. Diese Art der Berechnung darf natürlich keinen Anspruch auf absolute Exaktheit machen.

Von besonderen Beobachtungen wäre zu erwähnen, daß wir beim Eindampfen der Filtrate vom Baryumsulfat bei den Lebercarcinomen einen auffallenden Geruch, der an Pyridin erinnerte, wahrnahmen.

Die folgende Übersicht gibt die erhaltenen Resultate wieder.

1. Carcinom aus Kuhleber:

Aschengehalt 6,64% } berechnet auf die bei 120° bis zur Gewichts-
Stickstoffgehalt 15,42% } konstanz getrocknete Substanz.

Hydrolysiert wurden 250 g Substanz. Es blieben 13,0 g Melanin zurück.

Gefunden: 2,05% Tyrosin; 12,0% Glutaminsäure; 1,8% Glykokoll.

2. Carcinom aus Kuhleber:

Aschengehalt 5,80% } berechnet auf die bei 120° bis zur Gewichts-
Stickstoffgehalt 14,76% } konstanz getrocknete Substanz.

Hydrolysiert wurden 240 g Substanz. Menge des Melanins 18 g.

Gefunden: 2,15% Tyrosin; 11,2% Glutaminsäure; 1,5% Glykokoll.

3. Carcinom aus Kuhleber:

Aschengehalt 5,25% } berechnet auf die bei 120° bis zur Gewichts-
Stickstoffgehalt 13,88% } konstanz getrocknete Substanz.

Hydrolysiert wurden 100 g. Menge des Melanins 9 g.

Gefunden: 1,95% Tyrosin; 12,8% Glutaminsäure; 2,20% Glykokoll.

4. Sarkom von Ratte:

Aschengehalt 6,59% } berechnet auf die bei 120° bis zur Gewichts-
Stickstoffgehalt 13,15% } konstanz getrocknete Substanz.

Hydrolysiert wurden 75 g. Menge des Melanins 7,0 g.

Gefunden: 1,75% Tyrosin; 12,5% Glutaminsäure; 1,80% Glykokoll.

5. Carcinom von Maus:

Aschengehalt 6,25% } berechnet auf die bei 120° bis zur Gewichts-
Stickstoffgehalt 13,0% } konstanz getrocknete Substanz.

Hydrolysiert wurden 75 g. Menge des Melanins 8,0 g.

Gefunden 2,0% Tyrosin; 11,5% Glutaminsäure; 2,0% Glykokoll.

Die Übereinstimmung der einzelnen Werte ist für die drei Lebercarcinome eine recht gute. Man darf bei der Beurteilung solcher Werte nicht außer acht lassen, daß die mannigfachen Operationen trotz aller Sorgfalt zu Verlusten führen. Das

Mäusecarcinom und das Rattensarkom zeigen auch keine Werte, die zu dem Schlusse berechtigten, daß Besonderheiten vorliegen. Nach unseren Erfahrungen findet man mindestens so große Unterschiede, wenn man in ganz entsprechender Weise normale Organe verarbeitet. Bemerkte sei noch, daß wir Tyrosin durch die Stickstoffanalyse und das Glutaminsäurechlorhydrat durch die Bestimmung des Chlorgehaltes identifizierten. Zwischen den Ausbeuten an Rohprodukten und den ganz reinen Substanzen ergaben sich große Unterschiede.

Zusammenfassend wäre zu bemerken, daß es uns auf dem eingeschlagenen Wege nicht geglückt ist, für eine der untersuchten Tumorarten eine Besonderheit im Gehalte an Tyrosin, Glutaminsäure und Glykokoll nachzuweisen. Alle bis jetzt erfolgten Mitteilungen über Eigenarten von Proteinen von Tumoren auf Grund von Bestimmungen einzelner Bausteine bedürfen aus den oben angeführten Gründen noch der Bestätigung durch Erweiterung der Untersuchungen auf bestimmte Proteine.
