

Beziehung zwischen *N*-Acetylneuraminsäuregehalt und Tumoralter beim Zajdela-Asciteshepatom

Relationship Between Content of *N*-acetylneuraminic Acid and Tumour Age in the Zajdela Ascites Hepatoma

WINFRIED KRÜGER

Forschungsinstitut Manfred von Ardenne,
Dresden-Weißer Hirsch

(Z. Naturforsch. 26 b, 1078—1079 [1971]; eingegangen am 8. Juni 1971)

Das von v. ARDENNE entwickelte Krebs-Mehrschritt-Therapie-Konzept¹ enthält als einen wesentlichen Bestandteil eine immunologische Attacke, die sich bevorzugt gegen die Randzonen solider Tumoren, gegen Mikrometastasen oder zirkulierende Tumorzellen richten soll, da diese in guter Versorgungslage befindlichen Zellen durch den Therapieschritt „Optimierte Tumorübersäuerung + 40 °C-Hyperthermie“ nicht oder nur ungenügend erreichbar sind². Demgemäß bilden Untersuchungen über Aufbau und Reaktionsweisen der Zellmembranen tierischer Experimentaltumoren eine Grundlage für die Entwicklung einer ergänzenden, therapeutisch nutzbaren immunologischen Attacke.

Bei der Behandlung von Zajdela-Asciteshepatomzellen mit geringen Konzentrationen Trypsin und Pronase³ war anfänglich aufgefallen, daß die Menge der *N*-Acetylneuraminsäure (NANA) in den abgespaltenen Glykopeptiden ziemlichen Schwankungen unterworfen war. Eine nähere Überprüfung der Analysendaten deutete darauf hin, daß der NANA-Gehalt der Zellen mit steigendem Tumoralter zunimmt. Derartige Befunde sind unseres Wissens bisher nicht publiziert worden. Es fand sich lediglich in einer älteren Arbeit der Hinweis, daß bei Mäusen mit Neoplasmen der NANA-Gehalt des Serums mit fortschreitender Zeit nach der Tumorinokulation ansteigt⁴. Von den Autoren wird jedoch angegeben, daß die NANA-Erhöhung im Serum weder von einer NANA-Abspaltung bzw. -Neusynthese durch die Tumorzellen abhängt, noch durch fortschreitenden Tumorzerfall bedingt sei.

Die Bestätigung des vermuteten Zusammenhanges zwischen NANA-Gehalt und Tumoralter erfolgte jetzt an einer größeren Tierzahl. Hierzu wurden an Ratten eines Wistar-Stammes in Gruppen von 5–10 Stück je 2 ml einer dreifach mit Kochsalm gewaschenen 10-proz. Zajdela-Zellsuspension i.p. verimpft, deren NANA-Gehalt zuvor bestimmt worden war. Die Zellen hatten zu diesem Zeitpunkt ein Alter von 8–10 Tagen. Den Versuchstieren wurde bis zu ihrem Spontanod wöchentlich

Ascites entnommen und in dessen Zellen der NANA-Gehalt nach AMINOFF⁵ in einer von uns erprobten Modifikation⁶ bestimmt. Danach wird eine 10-proz. Suspension der gewaschenen Zellen 1+1 mit 0,4 N H₂SO₄ versetzt und 1 Stde. bei 80 °C hydrolysiert. Der zentrifugierte Überstand wird nach TISCHER und PETERS⁷ enteiweißt, wonach eine klare Lösung für die Analyse bereitsteht. Die letzte Ascitesabnahme erfolgte jeweils am Todestag der Tiere nach Eröffnung der Leibeshöhle. Ferner wurden aus anderen Versuchsreihen solche Kontrolltiere mit einbezogen, die Ascites wie oben beschrieben erhalten hatten, und denen ebenfalls beim Spontanod Zellen zur NANA-Analyse entnommen wurden. Schließlich lieferten Ratten, die routinemäßig der Zajdela-Stammhaltung und als Ascitespendern dienten, zu verschiedenen Zeiten Zellen, die auf ihren NANA-Gehalt analysiert wurden. Dieses Vorgehen ergab einmal eine breite Ausgangsbasis für die Zahl der notwendigen Analysen zur statistischen Sicherung der Ergebnisse, zweitens eine genügende Randomisierung der Tiere und ist schließlich drittens die Erklärung für die unterschiedliche Anzahl der Stichproben *N* in Abb. 1.

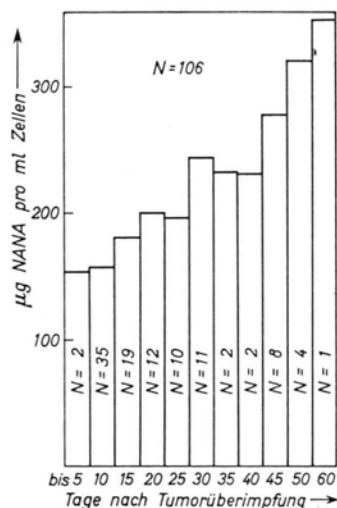


Abb. 1. Abhängigkeit des Gehaltes an *N*-Acetylneuraminsäure vom Alter der Tumorzellen beim Zajdela-Asciteshepatom.

Trägt man die erhaltenen NANA-Mittelwerte in Abhängigkeit vom Entnahmedatum in Gruppen von je 5 Tagen in ein Blockdiagramm ein, so ergibt sich die in Abb. 1 gezeigte Darstellung, aus der sich durch Varianzanalyse mit Hilfe der *F*-Verteilung eine Signifikanz

Sonderdruckanforderungen an Dr. W. KRÜGER, Forschungsinstitut Manfred von Ardenne, DDR-8051 Dresden-Weißer Hirsch, Zeppelinstr. 7.

¹ M. VON ARDENNE, Theoretische und experimentelle Grundlagen der Krebs-Mehrschritt-Therapie, Verlag Volk und Gesundheit, Berlin 1971.

² M. VON ARDENNE und P. G. REITNAUER, Acta biol. med. germ. 25, 483 [1970].

³ W. KRÜGER u. S. SCHNITZLER, Z. Naturforsch. 26 b, 169 [1971].

⁴ K.-J. TURUMI u. M. L. DAWES, Cancer Res. 18, 575 [1958].

⁵ D. AMINOFF, Biochem. J. 81, 384 [1961].

⁶ W. KRÜGER, Z. med. Labortechnik, im Druck [1972].

⁷ I. TISCHER u. D. PETERS, Zbl. Bakteriol. 195, 408 [1967].

von $p > 0,01$ errechnet⁸. Die weitere Auswertung liefert die in Abb. 2 dargestellte Regressionsgerade für $N=106$ mit $r=0,784$ und $p=0,001$, aus der der lineare Zusammenhang zwischen Tumoralter und NANA-Gehalt eindeutig hervorgeht.

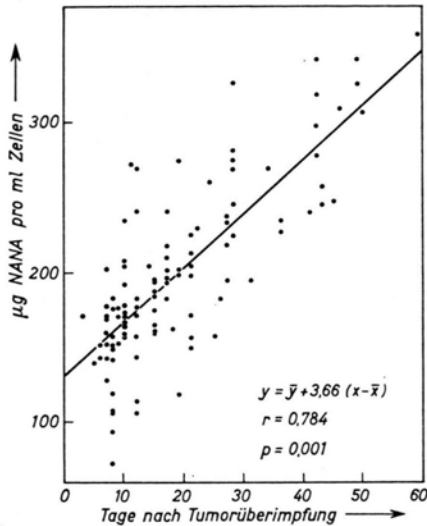


Abb. 2. Regressionsgerade für die Korrelation zwischen Gehalt an N-Acetylneuraminsäure und Alter der Tumorzellen beim Zajdela-Asciteshepatom.

Die dargestellten Ergebnisse könnten für die Tumorummunologie Bedeutung erlangen, wenn es mit Hilfe der Zellelektrophorese^{9,10} gelänge nachzuweisen, daß

mit steigendem NANA-Gehalt eine Erhöhung der negativen Überschlußladung der Tumorzellen verbunden ist, m. a. W., daß die „neu hinzugekommene“ NANA tatsächlich ionogen vorliegt. Nach Ansicht von CURRIE und BAGSHAWE¹¹ schützt die hohe negative Ladung der Tumorzellen diese vor einem Angriff durch die ebenfalls negativ geladenen Immunzellen des Organismus. Obwohl diese Autoren ihre Arbeitshypothese in mehreren Publikationen untermauert haben¹²⁻¹⁴, ist der gesetzmäßige Zusammenhang zwischen erhöhter negativer Oberflächenbehandlung und Malignität einer Zelle verschiedentlich in Zweifel gezogen worden^{15,16}. Andererseits liegen Befunde dafür vor, daß nach Abspaltung von NANA mit Neuraminidase Landschütz-Asciteszellen einen Großteil ihrer negativen Ladung verlieren und damit nicht mehr auf Empfängertieren angehen¹⁷ bzw. daß TA 3-Zellen Änderungen in ihrem Histokompatibilitäts-Verhalten aufweisen¹⁸. Inwieweit bei diesen Vorgängen rein elektrokinetische Vorgänge¹⁹ oder immunologische Prozesse im Sinne einer Demaskierung von Antigenen eine Rolle spielen, soll im Rahmen dieser kurzen Mitteilung nicht diskutiert werden. Eine Möglichkeit zur Klärung obengenannter Fragen wäre die Bestimmung der Minimalzahl von Zajdela-Zellen unterschiedlichen Alters, die noch mit Sicherheit zum Tumorangang führt. Versuche dieser Art, die naturgemäß längere Zeit beanspruchen, sind eingeleitet.

Die Durchführung vorliegender Arbeit erfolgte im Auftrag und mit Unterstützung des Ministeriums für Gesundheitswesen der DDR, Berlin, im Rahmen des Komplexthemas *Krebs-Mehrschritt-Therapie* (Thementräger Forschungsinstitut M. von Ardenne). Fr. G. BINDER danke ich für sorgfältige Ausführung der zahlreichen Analysen.

⁸ Documenta Geigy, Wissenschaftliche Tabellen, 6. Aufl., Basel 1960, S. 41.
⁹ P. SACHTLEBEN, D. KRÄMER, W. SCHWARTZ u. G. V. F. SEAMAN, Klin. Wschr. **45**, 425 [1967].
¹⁰ G. RUHENSTROTH-BAUER, G. F. FUHRMANN, W. KÜBLER, F. RUEFF u. K. MUNK, Z. Krebsforsch. **65**, 37 [1962].
¹¹ G. A. CURRIE u. K. D. BAGSHAWE, Lancet **I**, 708 [1967].
¹² G. A. CURRIE u. K. D. BAGSHAWE, Brit. J. Cancer **22**, 588 u. 843 [1968].
¹³ K. D. BAGSHAWE u. G. A. CURRIE, Nature [London] **218**, 1254 [1968].

¹⁴ G. A. CURRIE u. K. D. BAGSHAWE, Brit. J. Cancer **23**, 141 [1969].
¹⁵ N. OHTA, A. B. PARDEE, B. R. MCAUSLAN u. M. M. BURGER, Biochim. biophysica Acta [Amsterdam] **158**, 98 [1968].
¹⁶ D. F. H. WALLACH, Current Topics Microbiol. Immunol. **47**, 152 [1969].
¹⁷ G. A. CURRIE, Lancet **II**, 1336 [1967].
¹⁸ B. H. SANFORD, Transplantation **5**, 1273 [1967].
¹⁹ G. F. FUHRMANN, E. GRANZER, E. BEY u. G. RUHENSTROTH-BAUER, Z. Naturforsch. **19b**, 613 [1964].