

Xiphophorus als Modell in der Krebsforschung

F. ANDERS,
E. SCHOLL, M. SCHARTL

Genetisches Institut der
Justus-Liebig-Universität Gießen

I. Einleitung und Problematik

Krebskrankheiten sind offenbar, ebenso wie Verkehrsunfälle, ein Tribut, den die heutige Menschheit für ihre Zivilisation zu zahlen hat. In der Bundesrepublik Deutschland gibt es etwa zehnmal so viele Krebstote wie Verkehrstote (Tab. 1), und ähnliches gilt für andere hochzivilisierte Staaten.

Tabelle 1:

Todesfälle in der Bundesrepublik Deutschland im Jahre 1977
(nach Auskunft des Statistischen Bundesamtes)

Todesfälle insgesamt	704 922	
davon Krebstote	153 250	(22 %)
Verkehrstote	14 440	(2 %)

Epidemiologische Untersuchungen zeigen nun, daß die Häufigkeit von Krebserkrankungen in der Bevölkerung ungleich verteilt ist. Sie ist in städtischen Bereichen meistens größer als in ländlichen, und sie erreicht in den großen Ballungszentren der Erde die größten Ausmaße (HOWE 1970; BROOKE 1976; MASON et al. 1975 a und b).

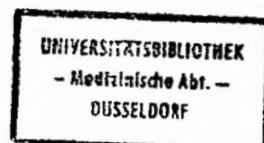
Diese Beobachtungen implizieren, daß die Krebshäufigkeit im Verlauf der Urbanisierung zugenommen hat, und deshalb wird allgemein angenommen, daß Krebs durch unnatürliche Umweltfaktoren, die eine

Folge der Technisierung während der Urbanisierung sind, hervorgerufen wird: Leukämie durch ionisierende Strahlung, Lungenkrebs durch Asbeststaub, Blasenkrebs durch aromatische Amine sind wohl-bekannte Beispiele hierfür. Gestützt wird diese Annahme durch statistische Angaben über die Häufigkeit bestimmter Krebstypen, die eine Abhängigkeit vom Rauchen, von Eß- und Trinkgewohnheiten usw. erkennen lassen (BLOT et al. 1977; BURCH 1977; FRENTZEL-BEYME, WAGNER 1979). Eine besonders einleuchtend erscheinende Beziehung zwischen Krebshäufigkeit, unnatürlichen Umweltfaktoren und Urbanisierung ergibt sich aus Angaben, in denen der Tabakrauch unter die Industrie- und Autoabgase subsummiert wird, und in denen nun die Lungenkrebsraten einer Stadtbevölkerung, die unter Luftverunreinigungen zu leiden hat, den Lungenkrebsraten einer Landbevölkerung, die in sauberer Luft lebt, gegenübergestellt wird. Tab. 2 zeigt ein solches Beispiel für Nordirland.

Tabelle 2: Zigarettenkonsum und Luftverunreinigung als Ursache von Lungenkrebs bei Männern aus Nordirland (n=1253), verändert nach MUIR (1974)

Zigaretten pro Tag	Todesraten durch Lungenkrebs	
	Landbevölkerung	Stadtbevölkerung
keine	0,8 %	2,9 %
1 - 10	2,0 %	11,0 %
11 - 22	5,9 %	23,0 %
mehr als 23	13,8 %	40,6 %

Während am Zusammenhang zwischen Krebshäufigkeit und schädlichen Umwelteinflüssen kein Zweifel besteht, muß nun bezweifelt werden, daß diese Einflüsse die eigentliche Ursache der Krebsbildung sind, und daß der im Verlaufe der Urbanisierung gestiegene Einfluß der unnatürlichen Umweltfaktoren der alleinige Grund für das Ansteigen der Krebshäufigkeit ist. Dies ergibt sich schon daraus, daß Krebs unabhängig von schädlichen Einflüssen auch bei Pflanzen und



bei allen Gruppen der Eumetazoa vorkommt (HUXLEY 1960; KRIEG 1973; BEIDERBECK 1977) und schon bei fossilen Pflanzen (WITTLAKE 1979), Reptilien (Hämangiome, Osteome; KAISER 1970), Kleinsäugetern (Osteosarkome; KAISER 1979) und Menschen (verschiedene Knochentumoren; ORTNER 1979) vorgekommen ist. Die Zweifel werden noch dadurch genährt, daß nur bestimmte Individuen "anfällig" (suszeptibel), während andere, die unter den gleichen Umweltbedingungen leben, völlig "unanfällig" (insuszeptibel) für die Krebsbildung sind. Es besteht also keine generelle, sondern nur eine individuelle Krebs-Suszeptibilität. Es muß auch bezweifelt werden, daß der heutige Mensch, der die hohe Krebs-Suszeptibilität zeigt, genetisch noch derselbe ist, der er vor ein paar Jahrhunderten war, als die Krebshäufigkeit noch niedriger lag: Ursprünglich lebte der Mensch in kleinen Fortpflanzungsgemeinschaften (lockere Zusammenschlüsse migrierender Familien; dörfliche Siedlungen), in denen er in den letzten fünfhunderttausend Jahren seiner spezifisch humanen Evolution eine Vielfalt von Rassen, Kleinrassen, Lokalrassen und Isolate gebildet hatte. Im Laufe relativ weniger Generationen gründete er die gewaltigen Menschensammlungen, in denen er gegenwärtig dieses spezifische Ergebnis seiner Evolution durch mehr oder weniger ungerichtete Partnerwahl "einschmilzt". Bei diesem Vorgang mögen durch Neukombination von Genen viele für den heutigen Menschen vorteilhafte Genotypen, die es zuvor nicht gab, entstanden sein; gleichzeitig mögen aber auch Gen-Gefüge, die die früheren Populationen vor Krankheiten und Dysfunktionen schützten, abgebaut worden sein. Hierbei mag auch die individuelle Krebs-Suszeptibilität des heutigen Menschen entstanden sein, und hier mag auch der eigentliche Grund für den oben erwähnten Unterschied der Lungenkrebs-Häufigkeit in der ländlichen und städtischen Bevölkerung zu suchen sein; denn in der ländlichen Bevölkerung verläuft der Einschmelzungsvorgang der Isolate langsamer als in der städtischen. Die landschaftsspezifischen Menschentypen, die sich heute in der europäischen Landbevölkerung immer noch leicht erkennen lassen, bestätigen dies. Ihre adaptiven Gen-Komplexe, die noch in Resten vorhanden sind, werden beim weiteren Durchmischungsvorgang weiter abgebaut und führen zu einem Syndrom genetischer Veränderungen. In der experimentellen Populationsgenetik sind solche Syndrome bei

vielen Pflanzen und Tieren, insbesondere bei Drosophila, gut bekannt (MANGELSDORF 1958; STURTEVANT 1939; WOODRUFF et al. 1979).

In dieses Bild fügt sich auch die Beobachtung, daß die Häufigkeit von Lungenkrebs in den USA in Industriestädten kaum größer ist als in ländlichen Gebieten. Dies ist verständlich, weil es in der amerikanischen Bevölkerung aus besiedelungsgeschichtlichen Gründen keinen evolutionsbedingten, populationsgenetischen Unterschied zwischen Stadt und Land gibt.

Insgesamt findet also in der heutigen Menschheit ein rapider Abbau der in Jahrhunderttausenden durch natürliche Selektion in Isolaten erworbenen genetischen Schutzmechanismen gegen die Unzulänglichkeiten des menschlichen Daseins statt, und dazu gehört auch der Abbau des genetischen Schutzes gegen Krebs bzw. kanzerogene Faktoren.

Die natürliche Selektion ist aber auch in der heutigen Menschheit auf den Erwerb genetischer Schutzmechanismen gegen Krebs gerichtet, und deshalb läßt sich für den Massenmenschen zukünftiger Generationen voraussagen, daß er neue Gen-Systeme selektiv erwerben wird, die ihn ebenso zuverlässig vor Krebs bzw. Kanzerogenen schützen werden, wie es diejenigen getan haben, die an die kleinen Populationen vergangener Generationen adaptiert waren.

Die Frage nach den Ursachen der Krebsbildung ist durch die Kenntnis des Auf- und Abbaues der genetischen Schutzmechanismen naturgemäß ebenso wenig berührt, wie durch die Kenntnis der schädlichen Umweltfaktoren, die mit der Häufigkeit der Neoplasmen korreliert sind. Die weite Verbreitung der Neoplasien in der rezenten und fossilen Organismenwelt deutet vielmehr darauf hin, daß die eigentliche Ursache der neoplastischen Transformation, d.h. der Umwandlung bzw. Rückwandlung einer dem Zellverband untergeordneten Zelle in eine autonome Zelle, in enger Beziehung zum Grundphänomen des Lebens der Vielzeller steht (KARLSON et al. 1978).

Um die aufgezeigte Problematik experimentell bearbeiten zu können, braucht man Tiermodelle. Ein solches Modell ist der Fisch Xiphophorus (Abb. 1), der seit 50 Jahren im Dienste der Krebsforschung steht. An ihm wurden viele zellbiologische Ergebnisse gewonnen, die für das Verständnis der Kanzerogenese wichtig sind. Darüber hinaus wurden bei Xiphophorus erstmals Erkenntnisse gesammelt, die das gehäufte Auftreten der Neoplasien beim Haustier und beim heutigen Menschen auf genetischer Basis verständlich machen.



Abb. 1: Xiphophorus maculatus, Wildtyp

II. Wildrassen, Bastarde und Zuchtformen von Xiphophorus

Die Fischgattung Xiphophorus (Teleostei: Poeciliidae), zu der auch die bekannten domestizierten Platys und Schwertträger der Aquarienliebhaber gehören, lebt in Tümpeln, Seen, Bächen und Flüssen des in den Atlantik entwässernden Teils Mittelamerikas von Nordmexiko bis Britisch Honduras. Da die Halbinsel Yucatan, deren Landwerdung am Ende des Tertiärs stattfand (WEYL 1973), nicht von Xiphophorus besiedelt ist, kann man annehmen, daß die Gattung schon vor dieser Zeit existiert hat.

Wir kennen 8 Spezies von Xiphophorus, von denen 5 in insgesamt 14 Subspezies unterteilt wurden. Ferner sind unzählige Rassen, Kleinrassen und Populationen bekannt, die sich durch genetisch bedingte Farbmuster und andere morphologische Merkmale unterscheiden (WOLF, ANDERS 1975; KALLMAN, ATZ 1967; KALLMAN 1975). Die Gliederung in Arten, Rassen und Populationen läßt sich auch durch die jeweils spezifische elektrophoretische Mobilität bestimmter Enzymproteine nachweisen (SCHOLL, A. 1973; SCHOLL, E. 1977). Alle diese Fische haben 48 meist gleich strukturierte Chromosomen (Abb. 2; FÖRSTER, ANDERS 1977). Sie haben eine innere Befruchtung und sind lebendgebärend. Xiphophorus stellt also eine genetisch, morphologisch, biochemisch, fortpflanzungsbiologisch und systematisch einheitliche Tiergruppe mit definierten Untergruppierungen dar.

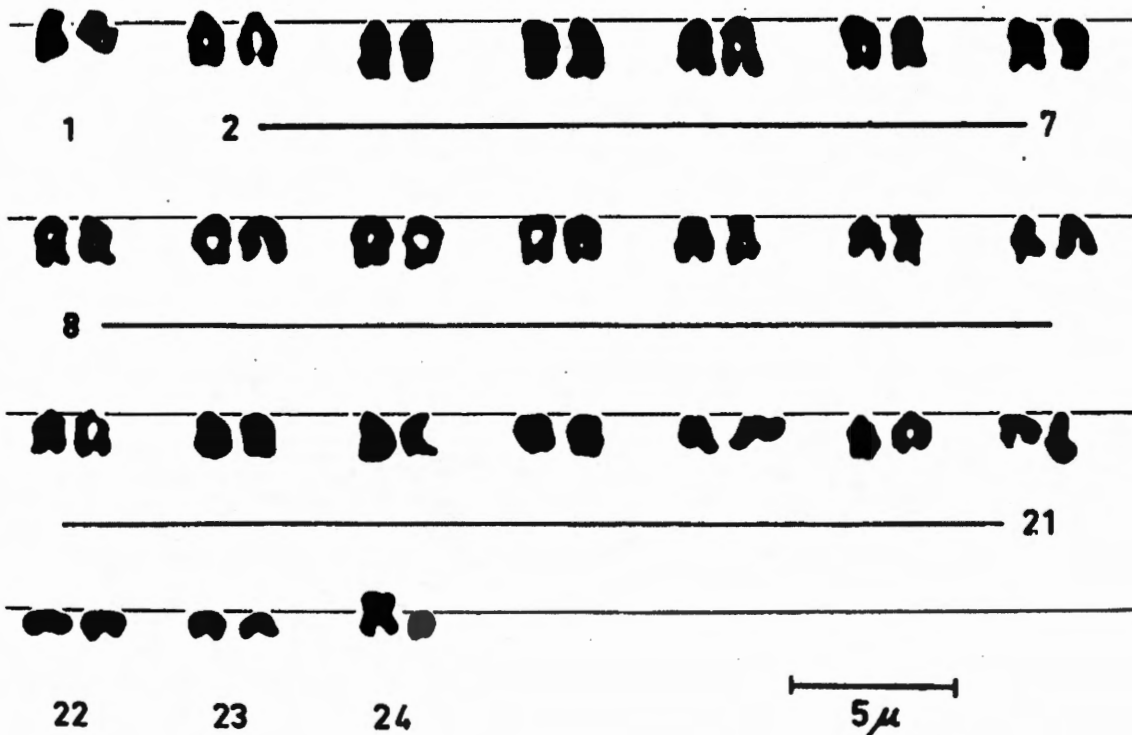


Abb. 2:
Karyogramm eines Männchens von X. maculatus (Rio Jamapa);
Paar 24 = X- und Y-Chromosom.

Bastardierungen kommen im natürlichen Habitat teils wegen regionaler, teils wegen verhaltensphysiologischer Isolationsmechanismen nicht vor (ZANDER 1964). Im Aquarium verpaaren sich hingegen Angehörige verschiedener Populationen, Rassen und Subspezies einer Spezies, falls keine Partner gleicher Herkunft zur Wahl stehen. Interpezifische Paarungen bedürfen der Geduld des Experimentators oder der artifiziellen Insemination. Bei den Bastarden brechen alle Paarungsbarrieren zusammen, und die weitere Züchtung bereitet keine Schwierigkeiten.

Alle Xiphophorus-Bastarde sind fruchtbar. Sie haben oftmals zahlreichere Nachkommen und sind vitaler, größer und "schöner" als die Wildtypen. Hiervon ausgehend haben die Aquarienfischzüchter eine Vielzahl von formschönen und farbenprächtigen kommerziellen Zuchtrassen selektioniert, die nach Herstellungsmethoden und Zweck den Rassen unserer Haustiere, wie Huhn, Hund, Katze und Pferd vergleichbar sind.

III. Bastardierung als Voraussetzung für die Suszeptibilität zur Tumorbildung

In den Wildpopulationen von Xiphophorus scheint Krebs nicht vorzukommen, denn unter zehntausenden von Individuen, die von mehreren Untersuchern (GORDON, KOSSWIG, KALLMAN, SICILIANO, BOROWSKI und von uns selbst) gefangen wurden, wurde kein einziges krebskrankes Tier gefunden. Auch in den Nachkommenschaften von Wildpopulationen, die im Laboratorium rund 70 Generationen ingezüchtet wurden, zeigte sich keine Tumorbildung. Diese Fische bilden auch nach Behandlung mit sehr zuverlässigen Kanzerogenen, wie Röntgenstrahlen und N-Methyl-N-Nitrosoharnstoff, so gut wie keine Neoplasmen. Werden jedoch Bastarde oder kommerzielle Zuchtrassen mit diesen Agenzien behandelt, dann entwickeln sich in einigen Monaten mit einer bestimmten Häufigkeit verschiedenartige Neoplasien, die nach den Kriterien der Krebs-Systematik des Menschen (TNM-System 1970) und der Haustiere (WEISS 1972) eingeordnet werden können (Tab. 3). Darüber hinaus bilden manche Individuen bestimmter Bastard-Genotypen und man-

cher Zuchtrassen von Xiphophorus diese Neoplasmen auch "spontan", d.h. ohne erkennbare äußere kanzerogene Reize.

Tabelle 3: Durch Röntgenstrahlen und N-Methyl-N-Nitrosoharnstoff induzierte Neoplasmen in Xiphophorus (verändert nach ANDERS, ANDERS 1978)

<u>Epitheliale Neoplasmen</u>	<u>Mesenchymale Neoplasmen</u>	<u>Neurogene Neoplasmen</u>
Oberflächenepithel Epidermales Papillom Solides Karzinom Plattenepithelkarzinom	Bindegewebe Fibrosarkom	Nervenzellsystem ⁺ , ⁺⁺ Neuroblastom ⁺ , ⁺⁺
Drüsenepithel Schilddrüsenkarzinom ⁺ , ⁺⁺ Gallengangkarzinom	Quergestreifte Muskulatur Rabdomyosarkom	Pigmentzellsystem Melanom ⁺ , ⁺⁺ Pterinophorom ⁺ , ⁺⁺
	Retikuloendotheliales Gewebe Retikulumzellsarkom ⁺	

⁺ Diese Neoplasmen sind auch 'spontan' aufgetreten.

⁺⁺ Die genetische Information für die Bildung dieser Neoplasmen kann dem gleichen Chromosom zugeordnet werden.

Zusammenfassend kann festgestellt werden: Tiere aus Wildpopulationen und deren reingezüchteten Nachkommen sind weitgehend insuszeptibel, Kreuzungsprodukte von Angehörigen verschiedener Wildpopulationen (d.h. Art-, Rassen- und Populationsbastarde) sowie die domestizierten Formen sind suzeptibel. Die Suszeptibilität ist auf einzelne Individuen beschränkt.

IV. Die genetischen Grundlagen der neoplastischen Transformation und der Krebs-Suszeptibilität

Durch geeignete Kreuzungsserien, die sich über mehrere Generationen erstrecken, kann man bei Xiphophorus jedes beliebige zytologisch und/oder genetisch definierte Chromosom einer Wildpopulation (bzw. Rasse, Art) durch ein entsprechendes einer anderen Wildpopulation ersetzen und nun prüfen, ob der neue Genotyp insuszeptibel ist wie die elterlichen Wildtypen, oder ob er die für Bastarde typische

Suszeptibilität erworben hat. Bei solchen Versuchen hat es sich gezeigt, daß die Suszeptibilität der Bastarde bestimmten Chromosomen zugeordnet werden kann. Wie aus Analysen von Mutationen geschlossen wurde, tragen manche dieser Chromosomen eine oder mehrere Kopien eines Gens, welches für die neoplastische Transformation codiert und deshalb "Tumor-Gen" (Tu) genannt wurde. Meist tragen die gleichen Chromosomen noch Regulationsgene (R) für Tu; weitere R-Gene liegen auf anderen Chromosomen. Tu hat also R-Gene, die mit ihm gekoppelt sind und solche, die nicht mit ihm gekoppelt sind (s. Abschnitt VII C).

Normalerweise wird Tu in allen Zellen aller Gewebe durch mehrere hierarchisch angeordnete Systeme von R-Genen unter Kontrolle gehalten. Erst nach Versagen dieser Kontrolle kann die neoplastische Transformation durch Tu vermittelt werden.

A. Das Tumor-Gen (Tu)

Hinweise auf die Existenz von Tu ergeben sich schon aus den historischen Kreuzungs-Experimenten, die KOSSWIG (1927) und GORDON (1927) bei domestizierten Stämmen von Xiphophorus durchführten. Diese Autoren fanden bestimmte "Farbfaktoren", die in manchen genetischen Kombinationen die Bildung von Melanophoren-Flecken in bestimmten Kompartimenten des Fischkörpers (Rückenflosse, Schwanzflosse, Körperseite usw.) bedingen, in anderen genetischen Kombinationen dagegen für die "spontane" Bildung von Melanomen in den gleichen Kompartimenten verantwortlich sind (s. Abschnitt VII C). Die jeweils korrespondierenden Flecken und Melanome interpretieren sie als verschiedene Expressionsgrade jeweils ein und desselben Farbfaktors. Später erwiesen sich die verschiedenen Farbfaktoren als verschieden aufgebaute Gen-Komplexe, deren wichtigster Bestandteil offensichtlich immer dasselbe Tu ist (AHUJA, ANDERS 1977). Bei den Wildtypen ist Tu mehr oder weniger vollständig durch R-Gene reprimiert, so daß es inaktiv ist oder höchstens kleine, aus wenigen transformierten Zellen bestehende Flecken, die später als extrem gutartige Melanome identifiziert wurden, bedingt (ANDERS et al.

1979). Bei den Bastarden wird Tu durch Elimination seiner nicht gekoppelten R-Gene so weit dereprimiert, daß es statt der Flecken "spontan" gutartige oder bösartige Melanome bedingt (s. Abb. 12).

Für die weitere Analyse wurden Tiere verwendet, bei denen die Tu-Kopien jeweils auf einem oder auf beiden Geschlechtschromosomen liegen ($X^{Tu}X^{Tu}$; $X^{Tu}X^{-}$; $X^{Tu}Y^{Tu}$; $X^{Tu}Y^{-}$; $X^{-}Y^{Tu}$). Hierdurch kann man einmal Interaktionen zwischen Tu-tragenden Chromosomen prüfen und zum anderen diese Interaktionen vermeiden, falls sie die Analyse stören.

58 Strukturveränderungen der Geschlechtschromosomen von Xiphophorus maculatus, X. variatus variatus und X. var. xiphidium (25 Deletionen, 14 Duplikationen, 8 Translokationen und 11 XY-Crossovers) haben gezeigt, daß Tu terminal lokalisiert ist (Abb. 3). Sein Verlust bedingt einen fast völligen Ausfall der Fähigkeit zur Tumorbildung, und seine Wiedereinführung stellt diese Fähigkeit wieder her. Unmittelbar neben Tu schließen auf dem Chromosom Operator-Elemente an, deren Ausfall eine hemmungslose Tu-Wirkung bedingt (s. S. 55). Auf die Operator-Elemente folgen mehrere zell-, gewebs- und kompartimentspezifische Systeme von R-Genen und schließlich die geschlechtsbestimmende Region.

Eine weitergehende Analyse wurde bei einer Rasse von Xiphophorus maculatus aus dem Rio Jamapa durchgeführt. Hier bedingt das Tu des X-Chromosoms aufgrund einer Keimbahnmutation eines gekoppelten kompartimentspezifischen R "spontane" Melanombildung an der Rückenflosse, während das Tu des Y-Chromosoms aus entsprechenden Gründen für "spontane" Melanombildung an Körperseite und Analflosse verantwortlich ist. Morphologisch unterscheiden sich die beiden Geschlechtschromosomen dadurch, daß das X metazentrisch ist und in jedem der beiden gleichlangen Arme 2 Giemsa-Banden zeigt, während das Y telozentrisch ist und nur 2 Giemsa-Banden hat (Abb. 4 a und d; FÖRSTER, ANDERS 1977; AHUJA et al. 1979).

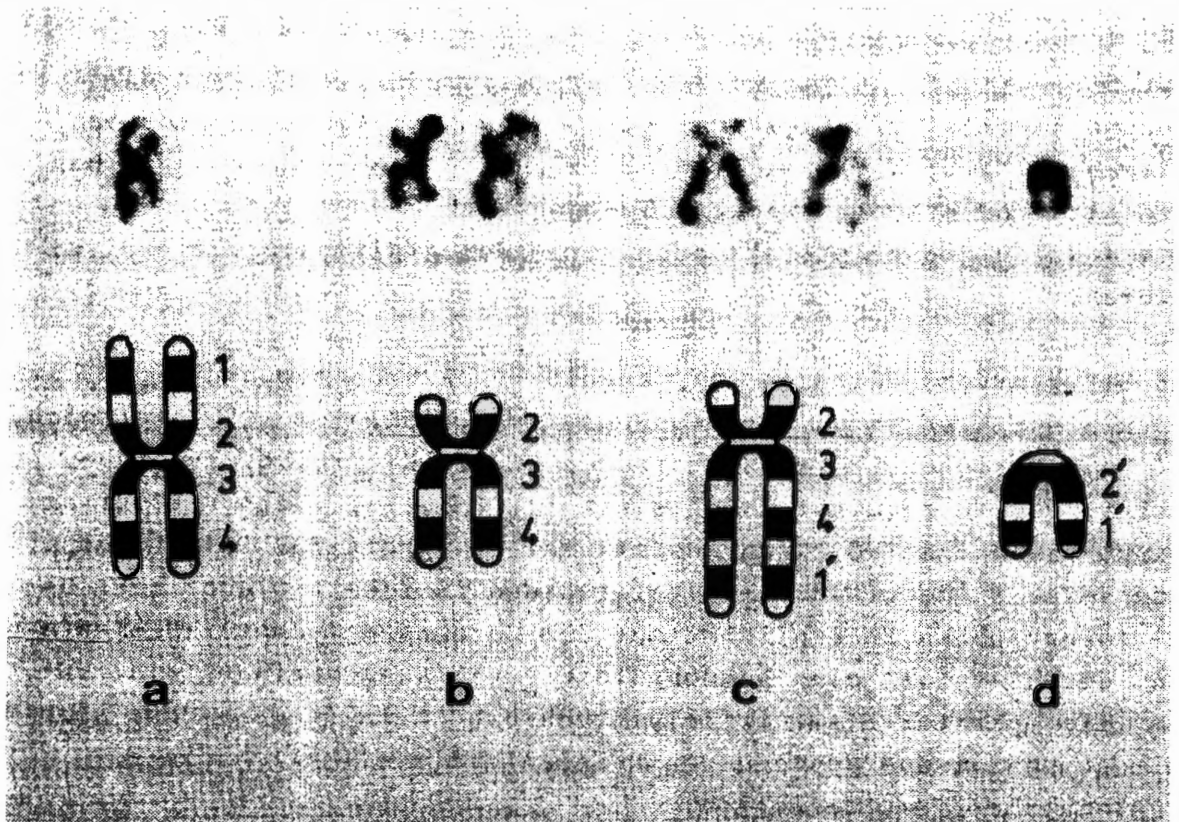


Abb. 4:

Geschlechtschromosomen von *X. maculatus* (Rio Jamapa); Giemsa Banding.

a) Komplettes X mit Tu;

b) Deletion eines Bandes; entspricht Deletion von Tu bis * in Abb. 3;

c) Translokation eines Bandes an b; entspricht Translokation des Abschnitts Tu bis * in Abb. 3;

d) Y-Chromosom (nach AHUJA et al. 1979).

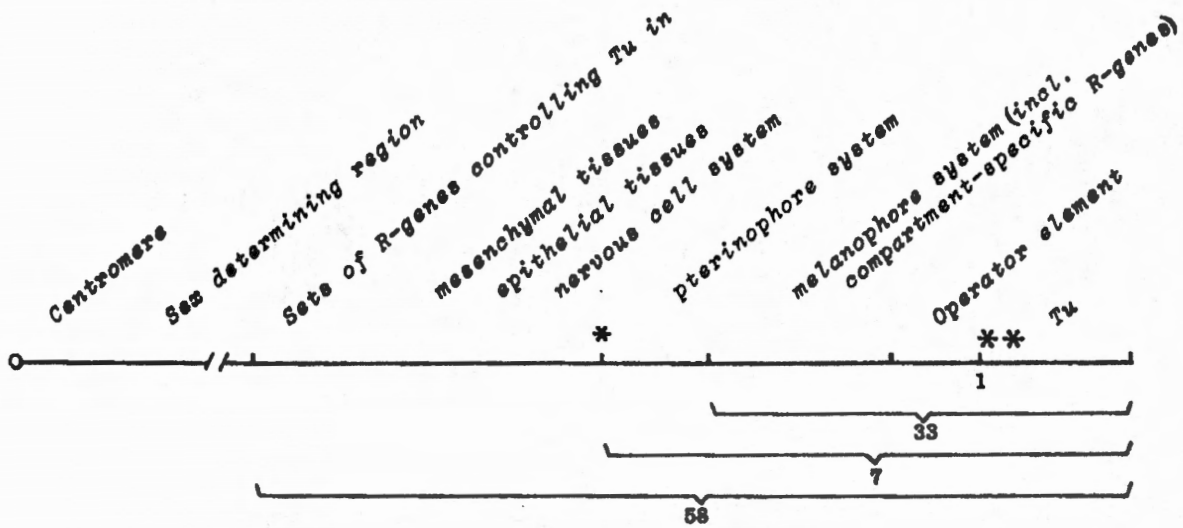


Abb. 3:

Vorläufige Gen-Karte eines terminalen Abschnittes vom X- und Y-Chromosom von *X. maculatus* (Rio Jamapa). Die Karte beruht auf 58 Strukturveränderungen (Crossover, Deletionen, Duplikationen, Translokationen; nach ANDERS et al. 1973; ANDERS, ANDERS 1978; verändert).

* siehe Abb. 4,

** siehe Seite .

Wichtig sind zwei Röntgenstrahlen-induzierte Strukturveränderungen der Chromosomen:

1. Bei einer genetisch erschlossenen terminalen Deletion des X-Chromosoms, die den Abschnitt von Tu bis zu den R-Genen für das Melanophoren-System umfaßt (Tu bis * in Abb. 3) und zu einem weitgehenden Verlust der Melanomsuszeptibilität geführt hat, fehlt ein Giemsa-Band (Abb. 4 b). Tu und seine gekoppelten R-Gene, die für die Melanombildung in der Rückenflosse verantwortlich sind, liegen also in diesem X-spezifischen Deletionssegment.
2. Bei einer ebenfalls genetisch erschlossenen Translokation des entsprechenden Abschnittes eines Y-Chromosoms (Tu bis * in Abbildung 3) an das deletierte X-Chromosom, bei der die volle Tumorsuszeptibilität, allerdings für die Körperseite, wiedergewonnen wurde, fehlt das deletierte Giemsa-Band weiterhin; doch befindet sich am langen Arm des Chromosoms ein drittes Band (Abb. 4 c). Tu und seine gekoppelten R-Gene, die für die Melanombildung an der Körperseite verantwortlich sind, liegen also in diesem Y-spezifischen Translokations-Segment.

Weitere Prüfungen dieser und anderer Translokationschromosomen haben gezeigt, daß auf diesem terminalen Giemsa-Band nicht nur die Fähigkeit zur "spontanen" Melanombildung, sondern auch die Suszeptibilität für karzinogeninduzierte Melanome sowie Tumoren des Nervenzellsystems und der Epithelien lokalisiert ist.

Die Deletion solcher großer Chromosomen-Segmente beeinträchtigt die Vitalität dieser Mutanten weder im hetero- noch im homozygoten Zustand. Dies kann dadurch interpretiert werden, daß weitere Tu-Kopien, die auf anderen Chromosomen liegen und normal reguliert werden, den Verlust des Chromosomen-Segments durch "Gendosis-Kompensation" ausgleichen.

Die terminale Lage von Tu, seine leichte Translozierbarkeit sowie die volle Vitalität der Tu-Deletionsmutanten werfen die Frage auf, ob Tu in irgendeiner Beziehung zu einem endogenen onkogenen Virus steht. Dieses Problem ist bis heute nicht gelöst worden. Einerseits wurden in langjährigen elektronenmikroskopischen Studien keine Viren in den Neoplasmen gefunden; andererseits hat sich gezeigt, daß in Melanomen, Neuroblastomen und Fibrosarkomen nach Behandlung der Fische mit 5-Brom-Desoxyuridin (5-BrdUrd) virusähnliche Partikel induziert werden können. Diese Partikel stimmen in Größe und Form mit SV 40- oder Polyomaviren (DNA-Viren aus der Papova-Gruppe) überein (Abb. 5; KOLLINGER et al. 1979). Außerdem wurden Partikel gefunden, die den B- und C-Typen (RNA-Viren aus der Oncorna-Gruppe) ähnlich sind. Das Auftreten verschiedener Virus-Typen in den Neoplasmen von Xiphophorus stellt indessen keine Besonderheit dar, denn auch in den Tumoren anderer Organismen wurde oft mehr als ein Virus-Typ nachgewiesen (GRAFFI 1973). Sollte es sich in Zukunft einmal erweisen, daß Tu einem onkogenen Virus zugeordnet werden kann, so bleibt trotzdem bestehen, daß dieses Gen ein normaler Bestandteil des Fisch-Genoms ist, und daß es wie ein normales Gen reguliert und vererbt wird.

Tu konnte durch gereinigte DNA auf Empfängertiere übertragen werden: DNA aus Gonaden von männlichen Tieren bestimmter Laborstämme, die in ihrem Genom mehrere Kopien von Tu tragen, wurde in Empfänger-Embryonen, die diese Tu-Kopien nicht besitzen, injiziert. Ein bestimmter Prozentsatz der behandelten Embryonen (s.S. 55 - 58) entwickelte nach einigen Tagen Kolonien von neoplastisch transformierten Zellen (Abb. 6). Wurde Spender-DNA von Tieren verwendet, die keine Tu-Kopien besitzen, traten bei den Empfängertieren nie Kolonien von neoplastisch transformierten Zellen auf (VIELKIND et al. 1976; HAAS-ANDELA 1978).

Kürzlich sind auch infektiöse Übertragungen der Information für die neoplastische Transformation beobachtet worden; doch ist nicht bekannt, ob es sich hierbei um das gleiche Tu wie in den vorher beschriebenen Fällen handelt.

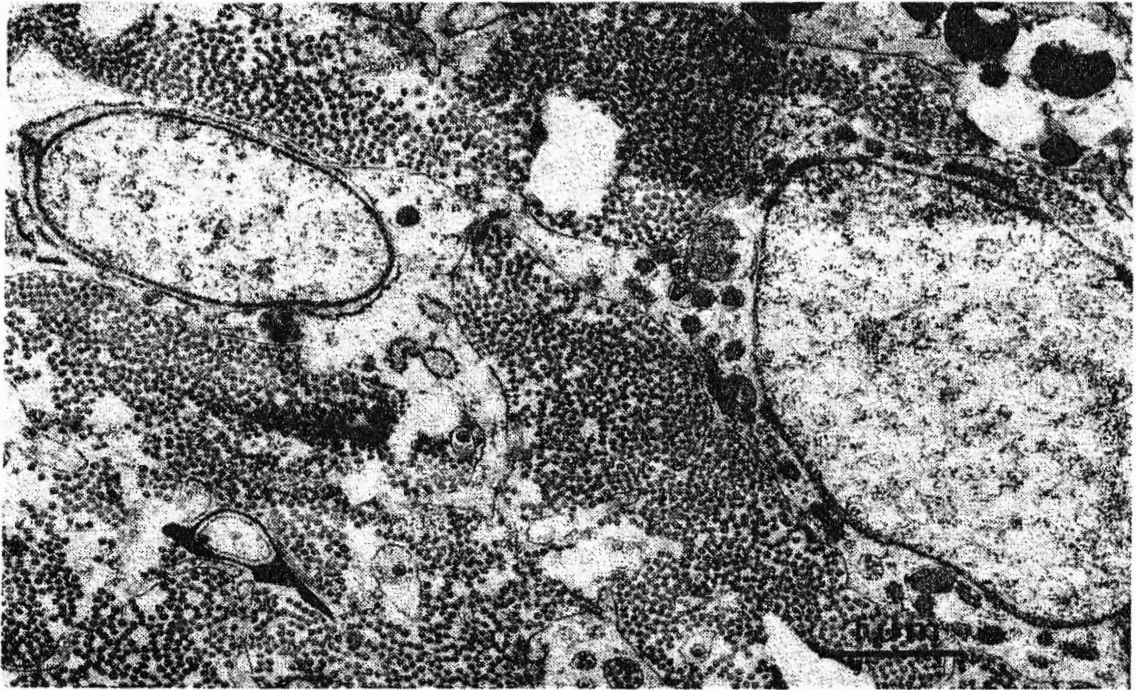


Abb. 5:
Virusähnliche Partikel im Melanom (siehe Text).

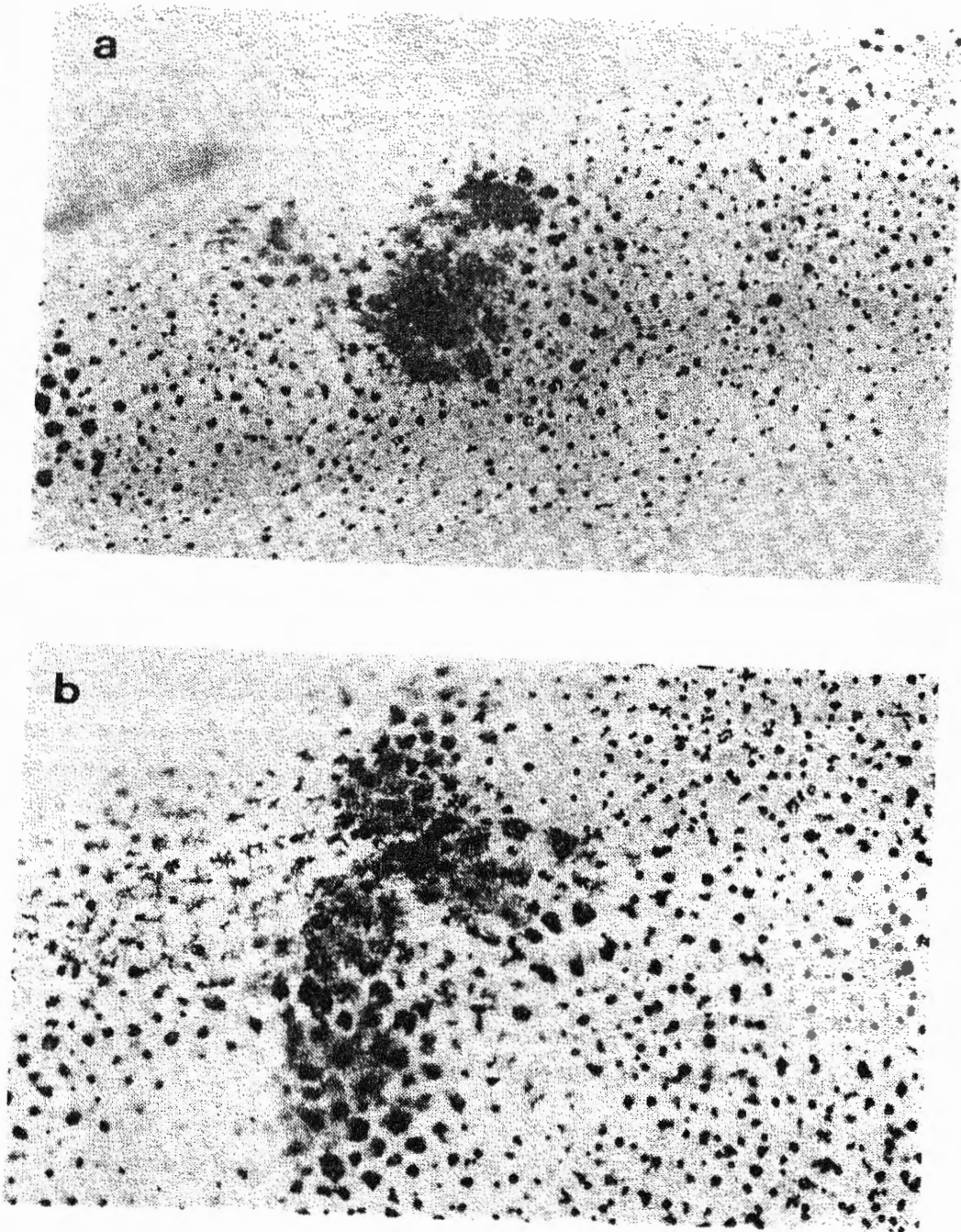


Abb. 6

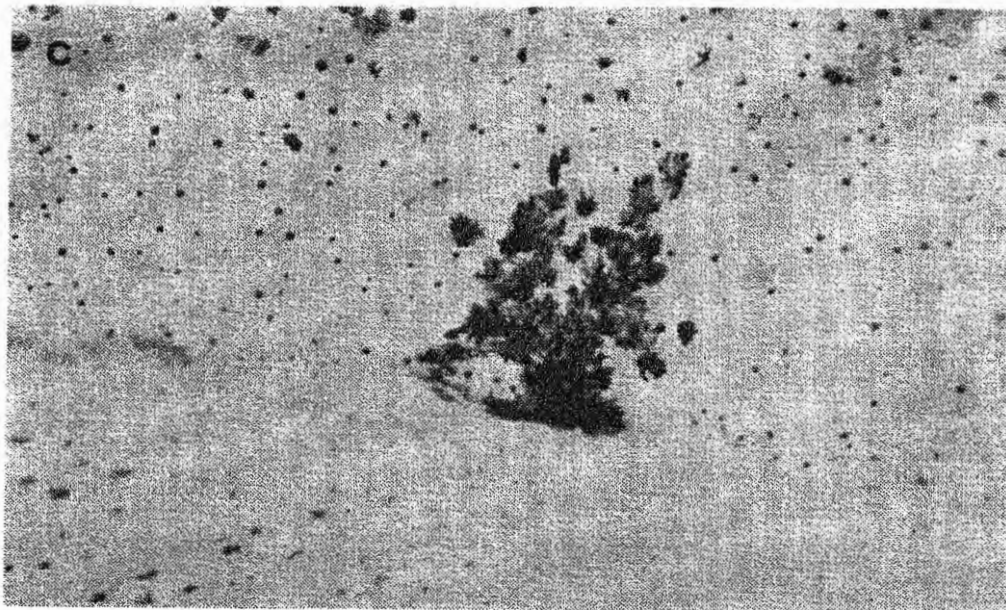


Abb. 6:
Aufgetretene Kolonien transformierter Pigmentzellen
a) nach Injektion Tu-haltiger DNA;
b) nach Transplantation von Tu-Stammzellen;
c) nach autologer Differenzierung von Tu-Stammzellen,
(aus HAAS-ANDELA 1978; SCHARTL 1978).

B. Die Regulations-Gene (R)

Es wurde schon seit langem vermutet, daß die neoplastische Transformation bei Xiphophorus unter negativer Kontrolle steht (BREIDER 1952). Heute wissen wir, daß Tu normalerweise durch komplexe Systeme von R-Genen reprimiert wird. Diese R-Systeme sind bei den einzelnen Spezies, Subspezies und Rassen verschieden und dabei jeweils gewebespezifisch. Offensichtlich haben sie sich unter dem Einfluß des Zufalls bei der Gen-Drift (SEWALL-WRIGHT-Effekt) in den kleinen Populationen divers evoluiert, während Tu selbst an dieser Evolution nicht teilgenommen hat. Wie bereits erwähnt, liegen R-Gene und Tu meist eng gekoppelt auf einem Chromosom; sie können aber auch auf verschiedenen Chromosomen liegen, also nicht gekoppelt sein.

Durch Karzinogene können R-Gene zur Mutation oder Deletion gebracht werden. Darüber hinaus können diejenigen R-Gene, die nicht mit Tu gekoppelt sind, durch geeignete Kreuzungen eliminiert werden, indem die Chromosomen, auf denen sie liegen, durch R-freie Chromosomen ersetzt werden. Auf diese Weise wird Tu dereprimiert und kann die neoplastische Transformation vermitteln (s. Abschn. VII C). Allerdings ist die Derepression von Tu meist nicht vollständig.

Mehr Information über die Kontrolle des Tu durch R-Gene wurde durch die Analyse einer bestimmten Chromosomenstruktur-Mutation erhalten: Nach Röntgenbestrahlung eines Bastards wurde die Tu-Kopie vom X-Chromosom des X. variatus variatus an das X-Chromosom des X. maculatus transloziert. Während dieses Tu in seiner ursprünglichen Position reprimiert ist, zeigt es in seiner neuen Position eine völlig ungehemmte Wirkung im Melanophorensystem, indem es schon beim Embryo alle sich differenzierenden Pigmentzellen neoplastisch transformiert und dadurch die Entwicklung eines Ganzkörpermelanoms bedingt (Abb. 7). Offensichtlich empfängt dieses translozierte Tu im Melanophorensystem von den R-Genen keine Kontroll-Signale mehr. Wir schließen hieraus auf die Existenz des oben erwähnten Operatorelements (o), welches normalerweise die von

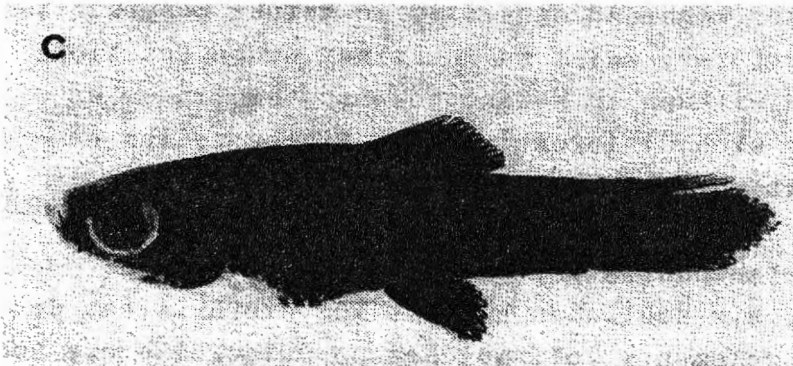
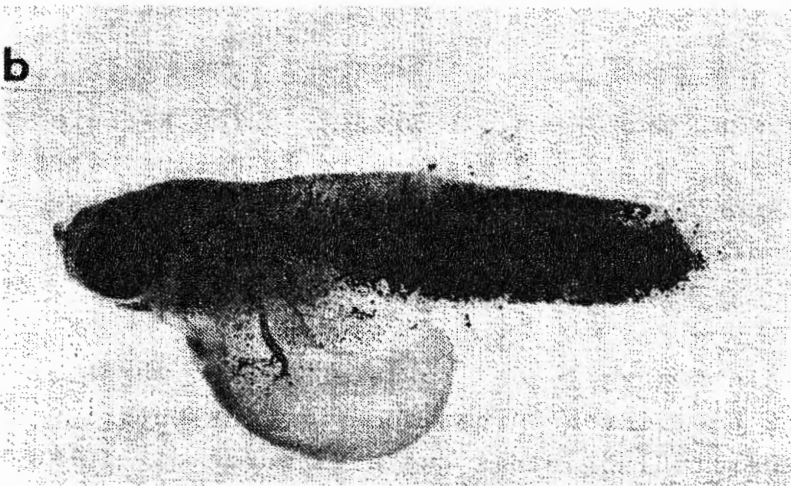
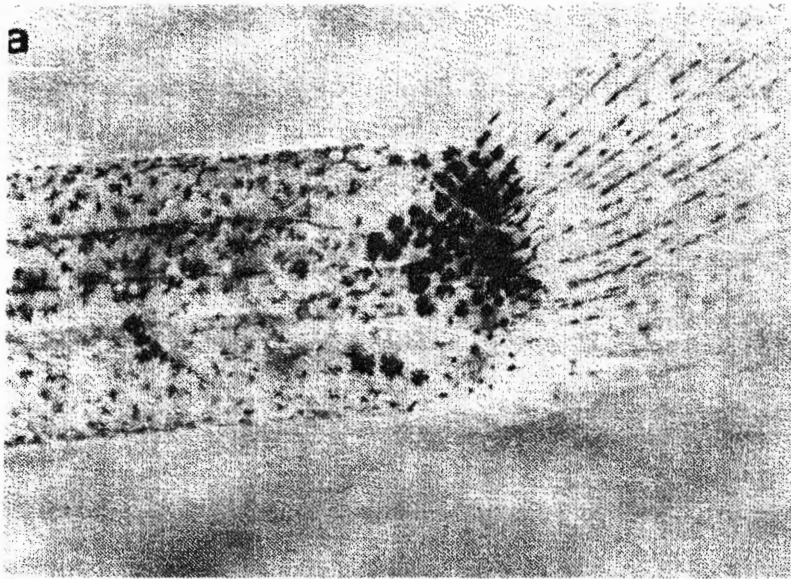


Abb. 7:
Entwicklung eines
Ganzkörpermelanoms auf-
grund ungehemmter Tu-
Expression im Melano-
phoren-System.

- a) Auftreten von trans-
formierten Pigment-
zellen in der
Schwanzwurzel eines
10 Tage alten Emryos;
- b) Entwicklung des Me-
lanoms beim 15 Tage
alten Embryo;
- c) Ganzkörpermelanom
beim neugeborenen
Fisch.

Diese Melanome werden
wie ein Mendelfaktor
vererbt. Melanombildung
nach Abb. 8, Fall d
(s. Abschnitt VII B).

gekoppelten und nicht-gekoppelten R-Genen stammenden Kontroll-Signale empfängt und an Tu weiterleitet. Bei der Translokation wurde Tu vermutlich von o getrennt (Tu bis** in Abb. 5). Diese Tiere spalten nach den Mendelgesetzen aus "balancierten" Zuchten heraus und gehen als Embryonen oder Jungtiere am Ganzkörpermelanom zugrunde.

Informationen über die Funktion der R-Gene stammen auch von den bereits erwähnten Studien, in denen Tu mit Hilfe gereinigter DNA übertragen wurde (Tab. 4). Hier wurde die transformierende Aktivität des Tu von drei Spenderstämmen, die eine verschieden starke Kontrolle von Tu aufweisen, verglichen. Bei Verwendung eines Spender-Stammes, dessen Tu im Pigmentzellsystem durch eine "schwache" Mutation seines gekoppelten R (R'o Tu) nur leicht dereprimiert war, zeigten 0,4 % der Empfängertiere (2 von 535) Kolonien neoplastisch transformierter Melanophoren. Wurde ein Spenderstamm, dessen Tu durch eine "starke" Mutation eines gekoppelten R (R''o Tu) dereprimiert war, verwendet, betrug die Häufigkeit der Tiere, die aus transformierten Zellen bestehende Kolonien zeigten, 2,6 % (27 von 1052). Wurde der oben erwähnte Stamm, dessen Tu kein R und o mehr besitzt, als Spender verwendet, dann betrug die Häufigkeit der Empfängertiere mit neoplastisch transformierten Zellen 6,3 % (65 von 1032). In allen drei Experimenten hatten die Kolonien der neoplastisch transformierten Zellen etwa die gleiche Größe.

Diese Experimente zeigen, daß die Häufigkeit, mit der bei den Empfängertieren nach DNA-Injektion Kolonien von neoplastisch transformierten Zellen auftreten, mit dem Grad des Defektes von R und o des Spender-Genotyps positiv korreliert ist. Daraus ergibt sich, daß R'o Tu und R''o Tu jeweils als Ganzes übertragen worden sind. Da die Größe der Kolonien neoplastisch transformierter Zellen unabhängig vom Grad des Defektes von R und o ist, kann weiterhin angenommen werden, daß diese Gene nur die Häufigkeit der Tu-vermittelten Transformationsereignisse, aber nicht die Anzahl der Zellteilungen, die auf die Transformation folgen, bestimmen. Das Wachstum der so entstehenden Zellkolonien verläuft dann unabhängig vom Wachstum des normalen Gewebes. Epigenetische Faktoren, z.B.

niedermolekulare Substanzen wie Aminosäuren, die als Nährstoffe dienen, können das Wachstum der Zellkolonie beeinflussen.

Insgesamt haben die vorliegenden Untersuchungen gezeigt, daß die genetischen Grundlagen für die neoplastische Transformation und für die Krebs-Suszeptibilität durch das Tumor-Gen Tu und dessen R-Gene repräsentiert sind. Tu und seine R-Gene sind offensichtlich normale Bestandteile des Genoms.

Tabelle 4: Übertragung der Information für neoplastische Transformation durch Injektion Tu-haltiger DNA in die Neuralleistenregion von Embryonen. - Häufigkeit des Auftretens neoplastischer Pigmentzellen in Abhängigkeit vom Genotyp des Spenders (aus HAAS-ANDELA 1978).

Spender-Genotyp	Anzahl Empfänger behandelt und überlebt	transformierte Pigment- zellen entwickelt
<u>R</u> ° <u>Tu</u>	535	2 (0,4%)
<u>R</u> °° <u>Tu</u>	1052	27 (2,6%)
<u>Tu</u>	1032	65 (6,3%)

V. Die Zelldifferenzierung und die Kompetenz der Zellen für die neoplastische Transformation

Bei der Untersuchung der Initial-Stadien der Melanome hat es sich gezeigt, daß nur Zellen eines frühen Differenzierungsstadiums neoplastisch transformiert werden können. Um dieses Stadium definieren zu können, müssen erst einige Ausführungen über die normale Differenzierung der Melanophoren vorausgeschickt werden (Abb. 8, links).

Während der frühen Embryonalentwicklung der Wirbeltiere werden aus der Neuralleiste Zellen abgegliedert, die in die verschiedenen Körperregionen auswandern und sich u.a. zu Nerven-, Bindegewebs-, Knorpel-, Knochen-, Schilddrüsen- und Pigmentzellen differenzieren (BAGNARA et al. 1979; WESTON 1970). Bei Xiphophorus beginnt

dieser Auswanderungsvorgang am 4. Tag der Embryonalentwicklung. Von den auswandernden Zellen nehmen rund 1000 an der Pigmentzell-Differenzierung teil (DIEHL 1979). Eine solche Zelle durchläuft zunächst das Stadium eines Chromatoblasten, in welchem entschieden wird, ob sie sich zu einer Stammzelle der Pterinoblasten, einer Stammzelle der Purinoblasten oder einer Stammzelle der Melanoblasten weiterdifferenziert. Im Zusammenhang mit der Melanombildung interessieren nur die Stamm-Melanoblasten (S-Melanoblasten). Diese können sich a) das ganze Leben eines Fisches hindurch ohne weitere Differenzierung teilen, oder b) sich zu intermediären Melanoblasten (I-Melanoblasten) weiterdifferenzieren. I-Melanoblasten sind irreversibel determiniert, sich zu den fortgeschrittenen ("advanced") Melanoblasten (A-Melanoblasten) zu differenzieren. Diese wiederum setzen die Differenzierungsreihe zu den Melanozyten und den Melanophoren fort. Vollständig differenzierte Melanophoren werden - wenn sie alt sind - von Makrophagen abgetragen. Zwischen den verschiedenen Differenzierungsstadien besteht Homoeostase, die offenbar durch einen von der Zellpopulationsdichte abhängigen Regulationsmechanismus ("density dependent regulation" im Sinne von HOLLEY 1975) aufrecht erhalten wird.

Das für die neoplastische Transformation kompetente Differenzierungsstadium konnte anhand zweier Befunde definiert werden:

- a) In die Mutante "golden" (g, ANDERS et al. 1972), bei der die Melanophorendifferenzierung im Stadium der S-Melanoblasten fast vollständig blockiert ist, wurde ein dereprimiertes Tu-Gen eingekreuzt. Es zeigte sich, daß die Tu g/g-Genotypen keine Melanome entwickeln können. S-Melanoblasten und die ihnen in der Differenzierungsreihe vorausgehenden Propigmentzellen sind also offensichtlich für die neoplastische Transformation noch nicht kompetent.
- b) In keinem Falle konnte gezeigt werden, daß A-Melanoblasten, Melanozyten und Melanophoren in den neoplastischen Zustand übergehen. Diese Zellen sind also offensichtlich für die neoplastische Transformation nicht mehr kompetent.

Die für die neoplastische Transformation kompetenten Zellen bei der Melanombildung sind also die I-Melanoblasten.

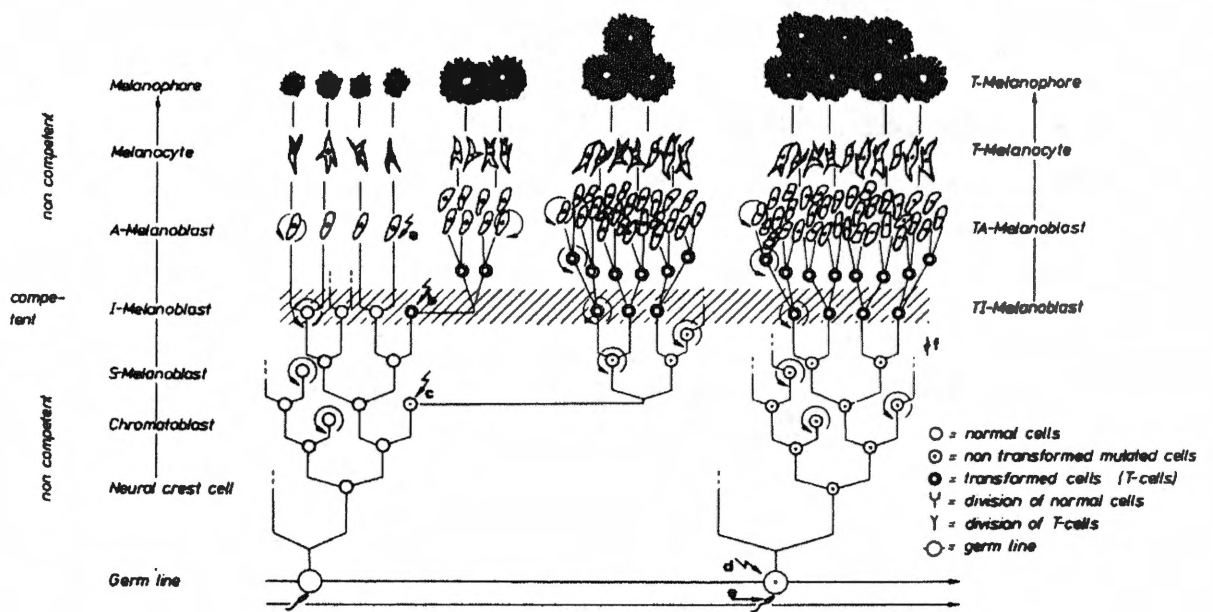


Abb. 8:
 Differenzierung normaler und neoplastisch transformierter Pigmentzellen. - Konsequenzen der Derepression von Tu in Keimbahn und Soma. Einzelheiten s. Text.

VI. Die Differenzierung der neoplastisch transformierten Zellen

Auch transformierte Zellen (T-Zellen) können sich differenzieren (Abb. 8, rechts), wie sich an der Morphologie, Feinstruktur und Enzymaktivität der Melanomzellen von Xiphophorus belegen läßt (VIELKIND 1976; SCHOLL, E. 1977; SCHWAB et al. 1976; AHUJA et al. 1977): Die transformierten I-Melanoblasten (TI-Melanoblasten) differenzieren sich zu den proliferierenden TA-Melanoblasten und T-Melanozyten. Beim malignen Melanom verbleibt der größte Teil der T-Zellen in diesen beiden Differenzierungsstadien. Beim benignen und extrem benignen Melanom, welches oft nur einen aus wenigen Zellen bestehenden Fleck darstellt, geht die Differenzierung der allermeisten T-Zellen weiter, und es entstehen unter Endopolyploidisierungen extrem große T-Melanophoren ("Makromelanophoren" nach GORDON 1927, KOSSWIG 1936). Diese Riesenzellen sind wie die normalen kleinen, nicht transformierten Melanophoren voll ausdifferenziert, teilungsunfähig und werden bei Erreichen eines gewissen Alters von Makrophagen beseitigt. Allerdings lassen sie - abweichend von Angaben anderer Autoren an anderen Systemen (z.B. bei der myeloischen Leukämie der Maus; AZUMI, SACHS 1977; SACHS 1978) - immer noch ihre neoplastische Natur erkennen, denn sie bleiben der Dichteregulation entzogen (Abb. 9; ANDERS et al. 1979).

Die Differenzierung der T-Zellen läßt sich experimentell beschleunigen und hierdurch für therapeutische Maßnahmen nutzen (s. Abschnitt XI).

VII. Die Gen-Onkogen-Ätiologie der Krebsentstehung und deren Erscheinungsformen

Die Neoplasmen von Xiphophorus werden in jedem Falle durch ein Gen (Tu) vermittelt. Die Ätiologie der Neoplasmen ist also einheitlich und unterstützt die Gen-Onkogen-Theorie der Krebsentstehung, die in letzter Zeit von vielen Autoren überzeugend dargelegt wurde (GILLESPIE, GALLO 1975; BENTVELZEN 1968; HUEBNER, TODARO 1969; LWOFF 1972; TOOZE 1973; ROWE 1973; GALLO 1974; GROSS 1974). Wie

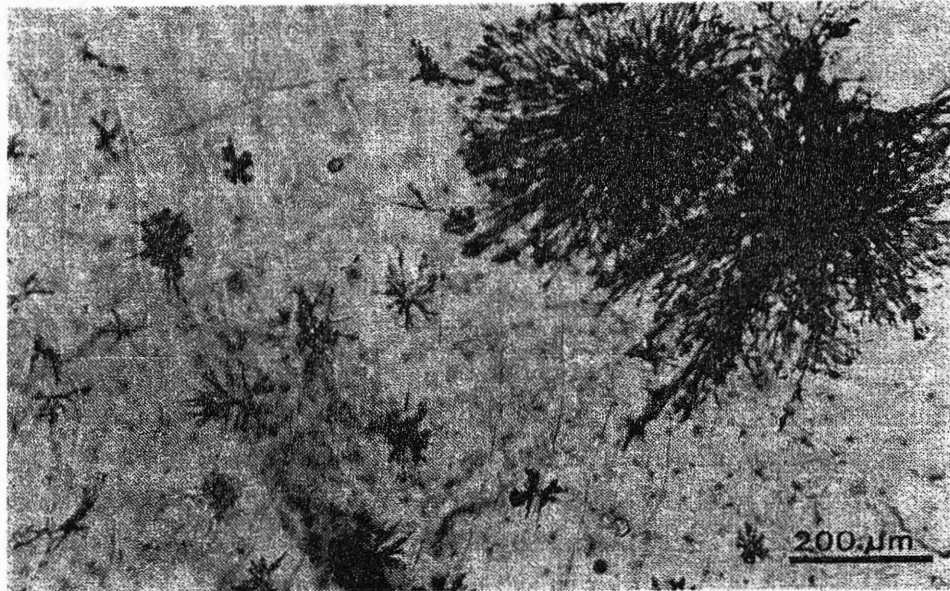


Abb. 9:
Zwei neoplastisch transformierte, terminal differenzierte
Melanophoren, umgeben von normalen Melanophoren: Beachte das
Fehlen der Dichteregulation der transformierten Zellen.
Einzelheiten s. Text.

das Onkogen eines endogenen Virus, so ist auch das Tumor-Gen Tu ein Bestandteil des Genoms und kann in dereprimiertem Zustand für die neoplastische Transformation kodieren. Onkogen und Tumor-Gen werden sowohl vertikal (durch Vererbung) als auch horizontal (durch Infektion) übertragen. Beide sind evolutionär konservativ und werden durch evolutionär flexible R-Systeme kontrolliert. Beide können nur aktiv werden, wenn die Kontrolle zusammenbricht (s. Abschnitt III).

Die Gen-Onkogen-Ätiologie der Neoplasmen zeigt nun bei Xiphophorus bestimmte Erscheinungsformen, die von anderen Autoren bei anderen Systemen für selbständige Ätiologien gehalten werden. Diese Erscheinungsformen sind die Krebsentstehung durch:

- | | |
|--|--|
| A. somatische Mutation | (BAUER 1928, 1968; BOVERI 1929; LAMPERT 1971; MATSUSHIMA, SUGIMURA 1976; KNUDSON 1973; MILLER 1978; AMES 1979) |
| B. Keimbahn-Mutation | (MATSUSHIMA, SUGIMURA 1976; KNUDSON et al. 1973; STRONG 1977; LYNCH 1967) |
| C. Neukombination von Genen bei der Zygotenbildung ("Bastard-Imbalance") | (HUXLEY 1960; BRAUN 1972; KOSTOFF 1930; SMITH 1972; AHUJA 1968; LITTLE 1939) |
| D. veränderte Zelldifferenzierung | (PIERCE 1974; MARKERT 1965) |

Der Nachweis der Zugehörigkeit dieser Erscheinungsformen zur Gen-Onkogen-Ätiologie gründet sich darauf, daß die R-Systeme des Tu, die - wie in Abschnitt IV begründet - unterschiedlich aufgebaut sind, leicht durch Kreuzungen, aber auch durch Mutationen und durch modifikatorische Eingriffe in die Zell-Differenzierung stufenweise demontiert werden können. Es zeigte sich, daß die biologische Natur des letzten Demontage-Schrittes über die jeweilige Erscheinungsform der Gen-Onkogen-Ätiologie der Neoplasmen entschei-

det. Diese Zusammenhänge werden im folgenden am Beispiel des Melanomsystems, welches in dieser Hinsicht am besten untersucht ist, dargestellt (Abb. 8).

Bei vollständiger Kontrolle von Tu durch 1 R werden nach der Zygotenbildung (links unten in Abb. 8) und der Neuralleistendifferenzierung von den Pigmentzellen (Abkömmlinge der Neuralleiste) alle Stadien der Differenzierung normal durchlaufen. Die Zellen sind in allen Stadien dichtereguliert und zeigen die Eigenschaft auch in Zellkultur (KUHN 1979). Prinzipiell kann nun Tu durch somatische Mutation von R in einer nicht mehr kompetenten Zelle (Fall a), in einer kompetenten Zelle (Fall b), in einer noch nicht kompetenten Zelle (Fall c) sowie durch Mutation in einer Keimbahnzelle (Fall d) oder durch Neukombination von Genen in der Zygote (Fall e) dereprimiert werden. Außerdem kann ein bereits dereprimiertes Tu, welches an seiner Aktivität dadurch gehindert ist, daß die Zelldifferenzierung im noch nicht kompetenten Stammzell-Stadium (S-Melanoblast) arretiert wurde, durch Stimulation der Zelldifferenzierung aktiviert werden (Fall f). Außer im Fall a, in dem Tu wegen nicht mehr vorhandener Kompetenz der mutierten Zelle nicht exprimiert werden kann, findet im kompetenten Stadium (I-Melanoblast) neoplastische Transformation statt. Die Dichteregulation ist sowohl in vivo als auch in vitro unterdrückt.

Das Ergebnis dieser Untersuchung ist, daß den verschiedenen Erscheinungsformen der Gen-Onkogen-Ätiologie bei Xiphophorus eine einheitliche Krebsbiologie zugrunde liegt.

Im folgenden werden die verschiedenen Erscheinungsformen der Krebsätiologie bei Xiphophorus gesondert abgehandelt. Für eine vergleichende Darstellung s. Tab. 5.

Tabelle 3:

Erscheinungsformen der Gen-Onkogen-Ätiologie von Neoplasien bei Niphophorus

Tumorgen-vermittelte Neoplasmen bedingt durch

	<u>A. somatische Mutation</u>	<u>B. Keimbahnmutation</u>	<u>C. Bastard-Imbalance</u>	<u>D. veränderte Zelldifferenzierung</u>
<u>Vorbedingung</u>	Tu reprimiert; durch nicht mehr als 1 R		Tu reprimiert durch nicht mit Tu gekoppelte R-Gene	Tu dereprimiert; Tu-Targetzellen in noch nicht kompetentem Stadium arretiert
<u>Art d. Behandlung</u>	Mutagene / Carcinogene		Bastardisierung	BrdUrd, cAMP, UV, Corticotropin, niedrige Zuchttemperatur, Mutagene, Carcinogene usw.
<u>Determination</u>	in einer Soma-Zelle: Mutation oder Verlust des R-Gens	in einer Keimbahnzelle: Mutation oder Verlust des R-Gens	im befruchteten Ei: Ersatz R-tragender Chromosomen durch R-Gen-freie	in somatischen Zellen: Überführung nicht kompetenter Zellen in kompetente durch Differenzierung
<u>Transformation</u>	a) keine; wenn Mutation in nicht kompetenter Zelle auftritt b) nach Mutation einer kompetenten Zelle c) nach Mutation einer noch nicht kompetenten Zelle in deren kompetenten Abkömmlingen	permanent in kompetent werdenden Zellen		permanent in kompetent werdenden Zellen
<u>Ursprung</u>	b) unizellulär c) oligozellulär	multizellulär		multizellulär
<u>Auftreten</u>	"induziert" in den behandelten Tieren	"spontan": in den Nachkommen		"induziert" in den behandelten Tieren
<u>Lokalisation</u>	im Rahmen genetisch determinierter Kompartimente, durch den Ort der Behandlung bestimmt	durch kompartimentspezifische Gene bestimmt		im Rahmen genetisch determinierter Kompartimente, durch den Ort der Behandlung bestimmt
<u>Wachstum</u>	b) nur Proliferation c) Transformation und Proliferation	permanente Transformation und Proliferation		Transformation und Proliferation
<u>Erblichkeit</u>	nicht erblich; genetisch bedingte Suszeptibilität	dominanter Mendel-erbgang	- erblich, wenn R-Gene fehlen - nicht erblich, wenn R-Gene wieder eingeführt	nicht erblich; genetisch bedingte Suszeptibilität
<u>Rezidive nach</u>	b) keine Rezidive c) keine, wenn Stammzellen beseitigt - Rezidive, wenn Stammzellen zurückbleiben	Rezidive		nicht exstirpierbar

A. Tumor-Gen-vermittelte Neoplasien, die durch somatische Mutation bedingt sind (Tab. 5, Spalte A)

Diese Erscheinungsform der Gen-Onkogen-Ätiologie der Neoplasmen wird durch den überwiegenden Teil der in Tabelle 3 zusammengestellten neurogenen, epithelialen und mesenchymalen Tumoren repräsentiert. Alle diese Neoplasien breiten sich von einem Punkt ausgehend aus. Sie können mit Hilfe von Mutagenen, wie N-Methyl-N-Nitrosos-harnstoff und Röntgenstrahlen induziert werden. Voraussetzung ist, daß die vor Krebs schützenden R-Gene bis auf einen kleinen Rest abgebaut sind, wie dies mit einer gewissen Häufigkeit bei Bastarden realisiert ist (Ersatz R-tragender durch R-freie Chromosomen). Folgende Überlegung möge dies verdeutlichen: Angenommen, die Summe der noch nicht kompetenten Zellen des Pigmentzell-Systems in einem jungen Fisch betrüge 10^6 und die Mutationsrate in einer Somazelle 10^{-6} , dann wären bei Anwesenheit von einem, zwei oder drei R-Genen folgende Tumor-Raten zu erwarten:

Anzahl der <u>R</u> -Gene	Häufigkeit gleichzeitiger Mutation einer Zelle	Tumor-Rate
1 <u>R</u>	10^{-6}	10^0
2 <u>R</u>	10^{-12}	10^{-6}
3 <u>R</u>	10^{-18}	10^{-12}

Dies bedeutet, daß im Durchschnitt bei nahezu jedem Tier, dessen Tu von nur einem R kontrolliert wird, ein durch somatische Mutation bedingtes Melanom induziert werden kann. Diese Erwartung konnte experimentell verifiziert werden (HAAS 1979). Wird demgegenüber Tu durch zwei selbständig wirkende R-Gene kontrolliert, dann sollte unter einer Million Individuen nur bei einem ein Melanom induziert werden können. Völlig unwahrscheinlich sollte es hingegen sein, eine durch somatische Mutation bedingte Neoplasie zu induzieren, wenn Tu durch 3 oder mehr selbständig wirkende R-Gene kontrolliert wird. Die weitgehende Insuszeptibilität der Wildtiere, die polyfaktorielle R-Systeme für die Kontrolle der Tu-Kopien entwickelt haben und die Suszeptibilität der Bastarde, bei denen die R-Systeme

defekt sind, bestätigen diese Erwartung (s. Abschnitt III). Zuchtstämme, deren Tu durch ein gekoppeltes R reprimiert wird, sind sensible Testsysteme für den Nachweis von Mutagenen bzw. Karzinogenen im Wasser (SCHWAB et al. 1978).

Wie schon erwähnt (S.64), kann die somatische Mutation des R in einer Zelle stattfinden, die a) nicht mehr kompetent, b) kompetent und c) noch nicht kompetent für die neoplastische Transformation ist (Abb. 8). Abgesehen vom Fall a, in dem die Mutation mangels Kompetenz der Zelle unerkant bleibt, kommt es zur Tumorbildung; doch ist die Entwicklungsbiologie der Tumoren verschieden. Im Falle b wird die kompetente Zelle, in der sich die Mutation des R ereignet, neoplastisch transformiert. Sie teilt und differenziert sich und bildet nach kurzer Latenzzeit inmitten der Dichte-regulierten normalen Pigmentzellen einen Zellklon, der leicht an der fehlenden Dichteregulation und - nach Weiterdifferenzierung zu T-Melanozyten - an der Größe seiner Zellen erkennbar ist. Die kleinsten dieser Klone, die bisher beobachtet wurden, bestanden aus 8 Krebszellen (Abb. 10). Daraus muß geschlossen werden, daß zwischen dem Mutationsereignis und dem Sichtbarwerden des Klons 3 Zellteilungen stattgefunden haben. Die Zellen eines solchen Klons können sich weiter teilen und ein Melanom bilden; sie können sich aber auch zu T-Melanophoren differenzieren und die Teilung einstellen. Makrophagen beseitigen die alternde Kolonie der Krebszellen bzw. das Melanom. Im Falle c, in dem sich die Mutation in einer noch nicht kompetenten Stamm-Zelle ereignet, bleibt die mutierte Zelle weiterhin eine normale Zelle. Sie kann sich viele Zell-Generationen hindurch als eine normale Stamm-Zelle vermehren. Nach einer mehr oder weniger langen "Latenz-Periode" werden simultan viele ihrer Abkömmlinge kompetent und neoplastisch transformiert. Diese teilen und differenzieren sich und treten - scheinbar unvermittelt - als eine große, aus tausenden von TA-Melanoblasten und T-Melanozyten bestehende Zellkolonie auf (Abb. 11). Diejenigen Abkömmlinge der mutierten Zelle, die im Differenzierungs-Stadium der S-Melanoblasten verbleiben, können sich das ganze Leben des Individuums hindurch identisch reproduzieren und dadurch für das weitere Auswachsen der Zellkolonie zum Melanom sowie für das Auftreten von Sekundär-Mela-

nomen an einem anderen Ort als permanente Quelle kompetenter Zellen dienen.

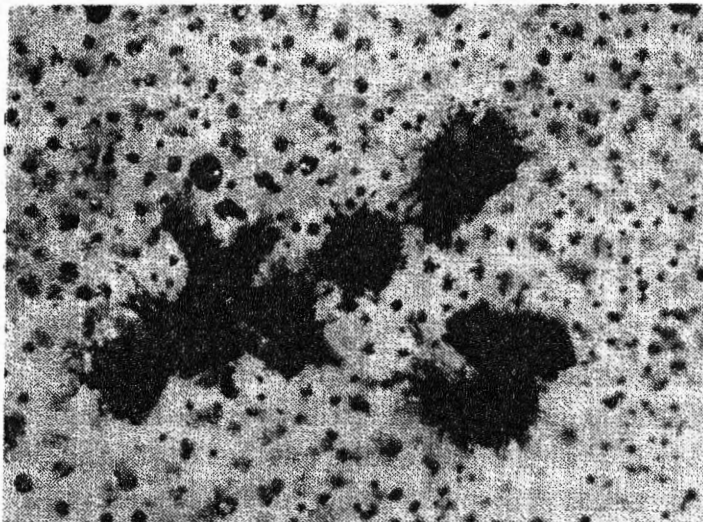
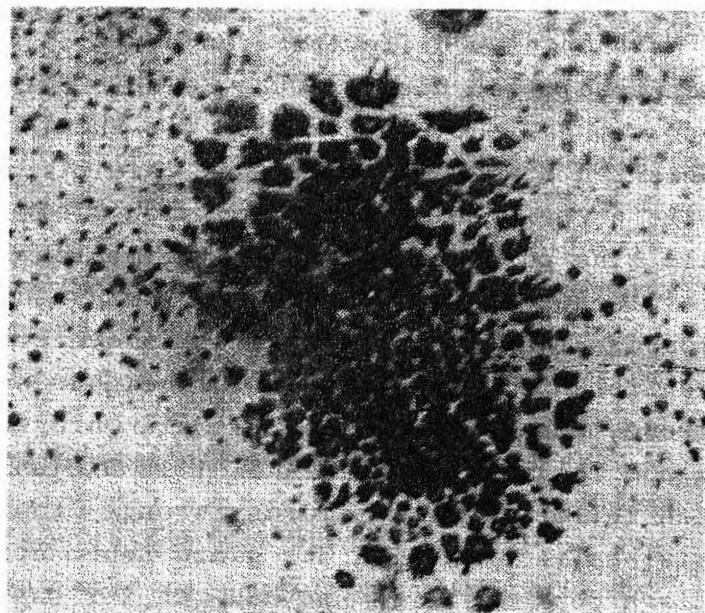


Abb. 10:
Beginn der Entwicklung eines nach Abb. 8, Fall b (somatische Mutation einer kompetenten Zelle), bedingten Melanoms. Der Zellkern besteht aus 8 transformierten Melanozyten. Die kleinen Zellen in der Umgebung der T-Melanozyten stellen normale Pigmentierung dar; Einzelheiten s. Text.
(Aus HAAS 1979)

Abb. 11:
Beginn der Entwicklung eines vermutlich nach Abb. 8, Fall c (somatische Mutation einer Stammzelle), bedingten Melanoms. Der Zellklon besteht gleich beim ersten Sichtbarwerden aus einigen hundert transformierten Melanoblasten und Melanozyten.
Einzelheiten s. Text.
(Aus HAAS 1979)



B. Tumor-Gen-vermittelte Neoplasien, die durch Keimbahn-
mutation bedingt sind (Tab. 5, Spalte B)

Diese Erscheinungsform der Gen-Onkogen-Ätiologie der Neoplasmen ist bei Xiphophorus bisher nur beim Melanom gefunden worden. Die zu erwartenden anderen neurogenen, sowie die epithelialen und mesenchymalen Neoplasmen dieses Typs sind vermutlich wegen frühembryonaler Letalität schwer auffindbar.

Diese Tumoren können - wie die durch somatische Mutation bedingten - nur dann mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit induziert werden, wenn Tu nur durch 1 R kontrolliert wird. Das R-Gen kann dann z.B. in einer Spermienzelle, die ein Ei befruchtet, in der Zygote oder im frühen Embryo, bevor Keimbahn und Soma getrennt sind, geschädigt oder deletiert werden. Die Konsequenz ist, daß Tu in den kompetenten Zellen des sich entwickelnden Fisches aktiv wird. Die darauf folgenden Generationen bilden die Neoplasmen "spontan" und vererben sie dominant nach den Mendel'schen Gesetzen (weitere Einzelheiten s. S. 55).

Vorerst konnte noch nicht nachgewiesen werden, daß die erblichen ("spontanen", Typ B) und die nicht erblichen ("induzierten", Typ A) Melanome durch Mutation bzw. Deletion ein und desselben R-Gens bedingt sind. Da jedoch die somatischen und die Keimbahn-Mutationen in denselben Genotypen induzierbar sind, in denen mit genetischen Methoden nur ein R-Gen nachgewiesen werden konnte, schließen wir, daß in Keimbahn- und Soma-Zellen jeweils wirklich dasselbe R mutiert oder deletiert ist.

C. Tumor-Gen-vermittelte Neoplasien, die durch Neukombination von Genen bei der Zygotenbildung bedingt sind (Bastard-Imbalance, Tab. 5, Spalte C)

Krebs infolge von Bastard-Imbalance entwickelt sich bei Nachkommen aus bestimmten Art-, Unterart-, Rassen- und Populationskreuzungen von Xiphophorus spontan.

Gefunden wurden bisher: Schilddrüsen-Karzinome, Nieren-Karzinome, Retikulo-Sarkome, Neuroblastome, Pterinophorome und Melanome (s. Tab. 3). Auch hier sind die Melanome wegen ihrer leichten Zugänglichkeit am besten untersucht. Sie sind seit mehr als 50 Jahren bekannt (KOSSWIG 1927; GORDON 1927; HÄUSSLER 1928) und haben viel zum Verständnis der erblichen Grundlagen für die Krebsbildung beigetragen (PRESCOTT 1973).

Voraussetzung für die Induktion von Neoplasmen dieses Typs ist, daß eine Tu-Kopie und die entscheidenden R-Gene bei einem Kreuzungspartner auf unterschiedlichen Chromosomen lokalisiert sind, und daß der andere Kreuzungspartner weder diese Tu-Kopie noch die entsprechenden R-Gene besitzt. Ein Experiment, bei dem diese Bedingungen realisiert sind, möge die Situation erläutern (Abb. 12). Als Elterntiere werden Xiphophorus maculatus und Xiphophorus helleri vom Rio Lancetilla verwendet. In der Population von X. maculatus besitzen die Weibchen 2 Tu-Kopien-tragende X-Chromosomen, die nach dem in Abschnitt IV A und Abb. 3 dargestellten Schema aufgebaut sind. Die beiden eng mit Tu gekoppelten R-Gene R_{pp} und R_{Df} unterdrücken normalerweise die Tu-Aktivität im hinteren Teil der Körperhälfte (posterior part) und in der Rückenflosse (dorsal fin). Bei den für diese Kreuzung verwendeten Chromosomen sind diese R-Gene jedoch mutiert (R_{pp}' und R_{Df}') und würden prinzipiell die Melanombildung an der Körperseite und in der Rückenflosse zulassen, wenn diese Tiere nicht auf anderen Chromosomen weitere R-Gene hätten, die die Expression von Tu ausreichend kontrollieren und nur die Bildung kleiner, aus neoplastisch transformierten Pigmentzellen bestehender Flecken in den entsprechenden Körperregionen zulassen. Die entscheidende, wenn auch nur mittelbare Kontrollwirkung auf Tu

geht bei dieser Population von Xiphophorus maculatus von einem Paar nicht gekoppelter R-Gene aus, die als R_{Diff} bezeichnet wurden. Der andere Elter, Xiphophorus helleri, besitzt weder diese Tu-Kopien noch die entsprechenden R-Gene.

Die aus der Kreuzung von Xiphophorus maculatus mit Xiphophorus helleri resultierenden F_1 -Bastarde sind hemizygot für R_{pp'}, Tu und R_{Diff}. Sie entwickeln benigne Melanome. In der Rückkreuzungs-Nachkommenschaft dieser F_1 -Generation mit Xiphophorus helleri (BC_1) erhält man entsprechend den Mendel'schen Gesetzen durch eine Neukombination von Chromosomen und Neuverteilung von R_{pp'}, R_{Df'} und R_{Diff} folgende Aufspaltung:

- a) 50 % bilden keine Melanome (Abwesenheit des R_{pp'}, R_{Df'}- und Tu-tragenden Chromosoms
- b) 25 % bilden benigne Melanome (Anwesenheit von R_{pp'}, R_{Df'}, Tu und R_{Diff})
- c) 25 % bilden maligne Melanome (Anwesenheit von R_{pp'}, R_{Df'}, Tu, Fehlen von R_{Diff}).

Weitere Rückkreuzungen von Tieren mit benignen Melanomen mit Xiphophorus ergeben stets die für die BC_1 beschriebene Aufspaltung. Werden dagegen Fische mit malignen Melanomen als Kreuzungspartner verwendet, so entwickeln sämtliche Tu-tragenden Nachkommen maligne Melanome. Dasselbe wird in allen weiteren Rückkreuzungen beobachtet. Dies beweist, daß Benignität bzw. Malignität von der An- oder Abwesenheit des R_{Diff}-tragenden Chromosoms abhängen.

Es ist gelungen, dieses R_{Diff}-tragende Chromosom aufgrund biochemischer Marker, z.B. des Locus für Esterase-1, nachzuweisen. Auf diese Weise wurde gezeigt, daß das R_{Diff}-tragende Chromosom aus dem Genom von Xiphophorus maculatus stammt, aus dem sich auch das R_{pp'}, R_{Df'}, Tu-tragende Chromosom herleitet (AHUJA et al. 1979; SCHOLL 1977, 1979).

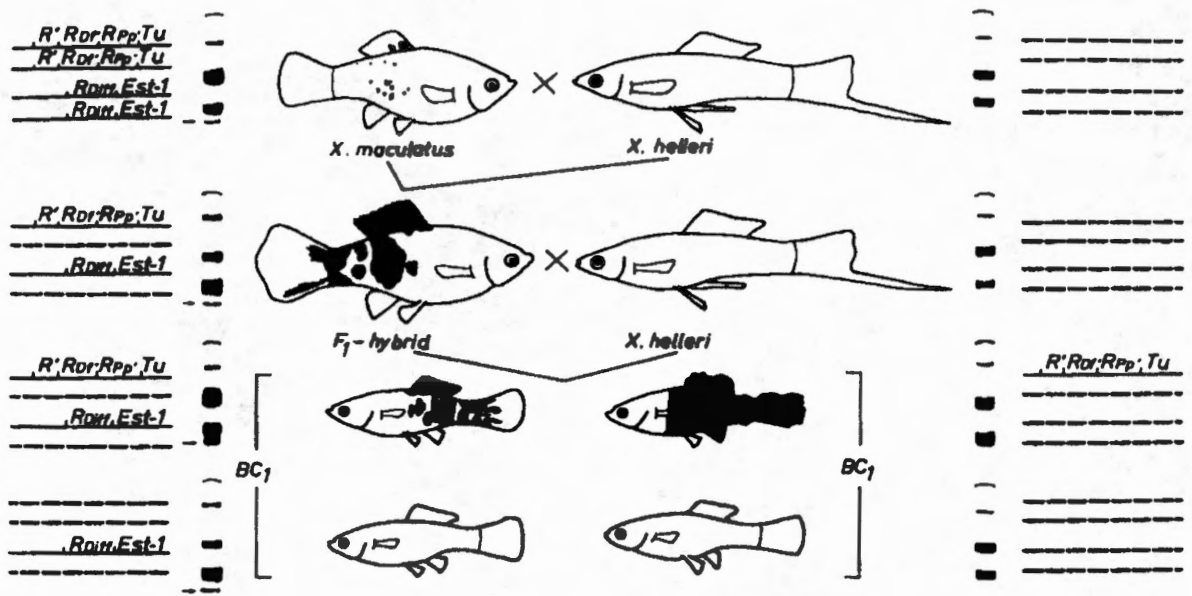


Abb. 12:

Kreuzungen und Rückkreuzungen, die die genetischen Bedingungen für das Fehlen von Melanomen sowie für die Entwicklung von Flecken (extrem gutartige Melanome), gutartigen Melanomen und bösartigen Melanomen demonstrieren. Melanombildung nach Abb. 8, Fall e. — = Chromosomen von *X. maculatus*; ---- = Chromosomen von *X. helleri*; Tu = Tumor-Gen; R_{pp} und R_{Df} = mutierte Regulationsgene, die Tu in den Kompartimenten des hinteren Teils des Körpers (posterior part) und an der Dorsalflosse kontrollieren; R' = mutiertes kompartiment-unspezifisches Regulationsgen; R_{Diff} = Regulationsgen, welches die Differenzierung neoplastisch transformierter Zellen bedingt; Est-1 = Gen, welches für die Synthese der Esterase-1 vom *Xiphophorus maculatus* verantwortlich ist (ein Markier-Gen für das R_{Diff} -tragende Chromosom). Beachte die mit einem Pfeil markierten Elektrophorese-Banden (Polyacrylamid-Gel; Augen-Homogenate).

Die klare Mendelspaltung einer Nachkommenschaft in Träger benigner und maligner Melanome hat die Möglichkeit geboten, die Unterschiede zwischen diesen beiden Tumortypen herauszuarbeiten (VIELKIND 1976).

D. Tumor-Gen-vermittelte Neoplasien, die durch veränderte Zelldifferenzierung bedingt sind (Tab. 5, Spalte D)

Dieser Typ wurde bisher nur bei der Melanombildung untersucht, da nur bei den Pigmentzellen die Zelldifferenzierung hinlänglich bekannt ist (Abschnitt V und VI). Er kann in Embryonen und Jungfischen bestimmter Genotypen induziert werden, deren Tu pigmentzell-spezifisch dereprimiert ist, aber nicht aktiv werden kann, weil die Melanophorendifferenzierung im Stadium der nicht-kompetenten S-Melanoblasten arretiert ist. Durch chemische Agenzien und physikalische Faktoren wie Testosteron, cAMP, ACTH, Retinoide, Erniedrigung der Temperatur und Erhöhung der Salinität des Aquariengewässers kann die Differenzierung der arretierten Zellen zu I-Melanoblasten stimuliert werden, die dann durch das bereits dereprimierte Tu neoplastisch transformiert werden. Sehr zuverlässig wirkende physikalische und chemische Mutagene mit kanzerogener Wirkung, wie Röntgenstrahlen, UV-Strahlen, N-Methyl-N-Nitrosoharnstoff und 5-Bromdesoxyuridin haben den gleichen Effekt. In diesem Falle scheinen sie allerdings nicht als Mutagene zu wirken, sondern als differenzierungsfördernde Substanzen, wie die oben genannten Agenzien (Testosteron, cAMP, usw.), die sicherlich keine Mutagene sind.

Gelegentlich können Melanome dieses Typs auch unter natürlichen Umständen entstehen. Vornehmlich bei Männchen bestimmter Genotypen, die in der sozialen Rangordnung schnell aufsteigen, kommt es während der Geschlechtsreife zur Melanombildung, die hier wahrscheinlich durch einen erhöhten endogenen Hormonspiegel ausgelöst wird.

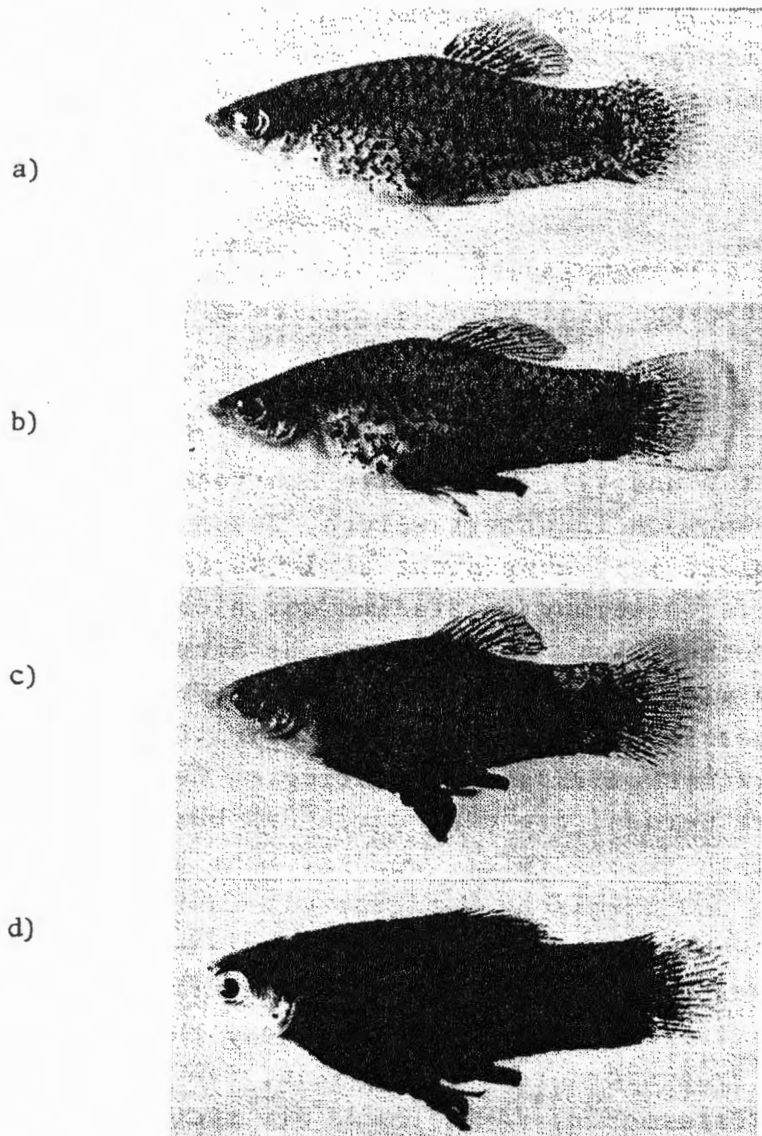


Abb. 13:

Entwicklung eines nach Abb. 8, Fall f (Massenüberführung von Stammzellen in das kompetente Stadium) bedingten Melanoms. Melanombildung setzt "spontan" am männlichen Begattungsorgan ein, wenn das Individuum sexuell aktiv wird.

- a) vor der Melanombildung,
- b) Beginn der Melanombildung,
- c) nach 8 Wochen,
- d) nach 12 Wochen.

Die Melanome dieser Ätiologie entwickeln sich überall dort, wo Melanophoren-Vorläuferzellen für die neoplastische Transformation kompetent werden können (Haut, Peritoneum, Hirnhaut, Auskleidung des Neuralkanals usw.). Sie wachsen extrem schnell und können den Fisch innerhalb weniger Wochen töten (Abb. 13).

VIII. Unizellulärer und multizellulärer Ursprung der Neoplasie

Ein in der Krebsforschung vielbearbeitetes Problem ist die Frage, ob Krebs einen unizellulären oder multizellulären Ursprung hat. Wir haben gefunden, und können biologisch erklären, daß beide Möglichkeiten realisiert sind: Der Ursprung der Neoplasie ist unizellulär, wenn Mutation und Transformation in derselben Zelle stattfinden. Dies ist nur in einer für die neoplastische Transformation kompetenten Somazelle möglich (Abb. 8, Fall b). Aber schon dann, wenn Mutation und Transformation zeitlich versetzt in zwei verschiedenen, wenn auch durch eine direkte Abstammungslinie miteinander verbundenen Zellen stattfindet, ist der Ursprung der Neoplasie nicht mehr unizellulär, sondern geht auf viele Ursprungszellen zurück (Fall c). Diejenigen Abkömmlinge der mutierten Zelle, die im Differenzierungsstadium der Stammzellen (S-Melanoblast) verharren, können das ganze Leben des Individuums hindurch identisch und dichtekontrolliert reproduziert werden und dadurch als permanente Quelle kompetenter Zellen für das Wachstum des Primärtumors sowie für das Auftreten von Sekundärtumoren und Metastasen dienen. Bei den anderen Erscheinungsformen der Krebsätiologie, bei denen das Tu durch Mutation von R in einer Zelle der Keimbahn (Fall d) oder durch Neukombination in Meiose und Zygotenbildung (Fall e) dereprimiert wird, findet "spontan", d.h. erbbedingt, neoplastische Transformation statt, sobald sich aus S-Melanoblasten kompetente Zellen differenzieren.

Hier ist auch der Fall f anzuschließen, bei dem die Tumorbildung darauf beruht, daß ein spezieller Kontrollmechanismus, der die Zelldifferenzierung im noch nicht kompetenten Stadium arretiert, physiologisch durch "Promotion" (im Sinne von BERENBLUM's Zwei-

Stufen-Mechanismus der Kanzerogenese; BERENBLUM 1974) überwunden wird: Kanzerologisch wenig beachtete chemische und physikalische Agenzien wie Testosteron, cAMP, ACTH, Retinoide (SCHARTL, A. 1979), Erniedrigung der Temperatur und Erhöhung der Salinität des Aquarienwassers, epigenetische Faktoren wie der Eintritt in die sexuelle Phase, aber auch bekannte Karzinogene wie Röntgenstrahlen, N-Methyl-N-Nitrosoharnstoff, BrdUrd u.a., stimulieren die Differenzierung der arretierten Zellen zu kompetenten I-Melanoblasten, die dann durch das bereits dereprimierte Tu neoplastisch transformiert werden können.

Aus diesen Befunden läßt sich folgende generalisierende Aussage formulieren: Nur die Neoplasmen, deren Erscheinungsform Fall b entspricht, haben einen unizellulären Ursprung.

IX. Mutagene und Karzinogene

Zu der viel diskutierten und oft positiv beantworteten Frage der experimentellen Krebsforschung, ob Karzinogene Mutagene sind und umgekehrt, läßt sich aufgrund unserer Versuche an Xiphophorus folgendes sagen:

Mutagene sind nicht in jedem Fall Karzinogene, sondern sie treten nur dann als "Karzinogene" in Erscheinung, wenn biologische Bedingungen wie im Falle b und c (Abb. 8) erfüllt sind. Im Falle d erscheint das Mutagen allenfalls in derjenigen Generation als "Karzinogen" (und zwar indirekt), die aus der mutierten Keimbahnzelle unmittelbar hervorgeht. Die darauf folgenden Generationen bilden "spontan" Neoplasmen, d.h. ohne Mutagen und ohne "Karzinogen". Im Falle e erscheint gar die Paarung spezifischer Partner als "Karzinogen", und im Falle f sind es Hormone, Retinoide, Sexualverhalten usw. (siehe oben), die als "Karzinogene" in Erscheinung treten.

X. Tumorwachstum und Rezidive

Eine offenbar weitgehend akzeptierte Annahme der gegenwärtigen Krebsforschung ist, daß Neoplasmen nur durch Proliferation wachsen und durch eine vollständige Beseitigung aller Krebszellen ausgeheilt werden können; Rezidive werden dadurch erklärt, daß die Beseitigung der Krebszellen nicht vollständig war. Unsere Experimente an Xiphophorus zeigen folgendes:

Nur im Fall b (Abb. 8) wächst der Tumor ausschließlich durch Proliferation und zeigt nach Exstirpation keine Rezidive. In allen anderen Fällen wächst der Tumor sowohl durch Proliferation als auch durch fortgesetzte Neu-Transformation kompetent werdender Zellen, und er zeigt Rezidive, weil nachrückende Stammzellen das kompetente Stadium erreichen und transformiert werden können.

Diese Befunde haben Konsequenzen für eine Krebstherapie auf biologischer Grundlage.

XI. Möglichkeiten und Grenzen der Krebstherapie bei Xiphophorus

Nach unseren Ergebnissen erscheint es biologisch begründet, daß eine Exstirpation sowie alle weiteren Methoden, die auf eine Beseitigung einer Neoplasie abzielen, nur bei Neoplasien, deren Ätiologie Fall b (Abb. 8) entspricht, aussichtsreiche therapeutische Maßnahmen darstellen. In allen anderen Fällen kommt es, ebenfalls biologisch begründet (Anwesenheit von Stammzellen, siehe oben), zu Rezidiven.

Anhaltspunkte für eine erfolgversprechende Therapie ergeben sich aus Experimenten, die eine Beeinflussung der Differenzierung neoplastisch transformierter Zellen zum Ziel haben. Maligne Melanome können durch Implantation in Embryonen insuszeptibler Empfänger-Genotypen zur Ausdifferenzierung und damit zum Abbau (s. Abschnitt VI) gebracht werden; in hochsuszeptiblen Empfänger-Genotypen tritt dieser Effekt nicht auf (SCHARTL, M. 1979). Es gibt

also körpereigene diffusible Agenzien, die die Differenzierung fördern; sie erinnern an den "macrophage and granulocyte inducer" MGI (SACHS 1978), der die neoplastischen Zellen der myeloischen Leukämie der Maus zur Ausdifferenzierung bringt. Auch durch Behandlung mit einer Reihe von chemischen Substanzen kann die Ausdifferenzierung von Krebszellen erzwungen oder doch wenigstens gefördert werden. Hierzu gehören 2-4-Dinitrochlorbenzol (DNCB), BrdUrd, Dexamethason, ACTH, cAMP, Retinoide, Testosteron. Da diese Substanzen zugleich aber auch die Stammzellen in das kompetente Stadium bringen (siehe oben), hat eine Dauerbehandlung einen doppelten Effekt: Sie bringt die Quelle des Nachschubs für die neoplastischen Zellen (die Stammzellen) zum Versiegen und verkürzt die Proliferationsphase der neoplastischen Zellen. Ihr Anwendungsbereich erstreckt sich auf alle Ätiologietypen der Neoplasien (Fälle b bis f) und kann zur nahezu vollständigen Regression führen, wie in Abb. 14 für den Fall e beim Melanom dargestellt ist (SCHARTL, A. 1979).

Bei einer Kurzzeitbehandlung erscheinen dieselben Agenzien jedoch als "Karzinogene", da sie über eine beschleunigte Differenzierung von noch nicht kompetenten Zellen zu kompetenten Zellen eine temporäre Verstärkung des Tumorwachstums bewirken. Dieses Risiko einer Stimulation der Zelldifferenzierung zum Zwecke der Krebstherapie kann jedoch durch eine konsequente Dauerbehandlung vermieden werden (s.o.).

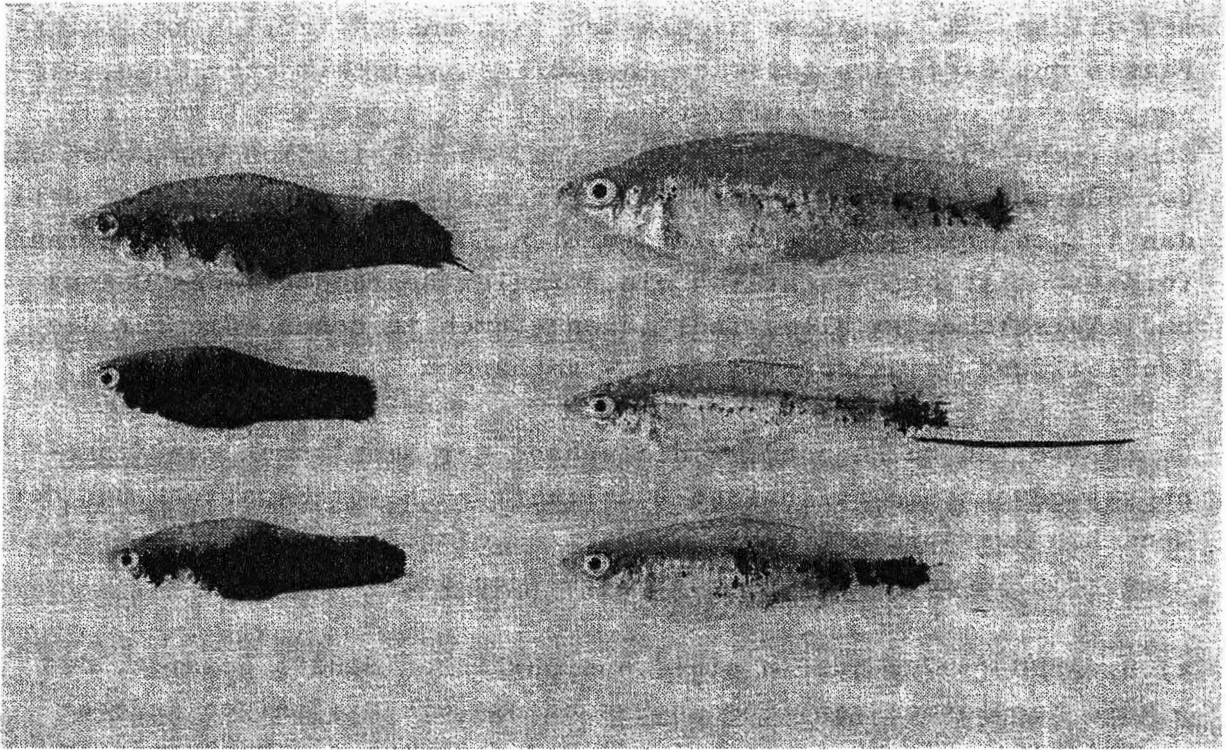


Abb. 14:

Tumor-Regression, induziert durch Methyl-Testosteron; links Kontrolltiere, rechts Versuchstiere (aus SCHARTL, A., 1979).

XII. Zusammenfassung:

Die langjährigen Untersuchungen, deren Ergebnisse hier zusammenfassend dargestellt wurden, haben gezeigt, a) daß Xiphophorus eine Vielzahl epithelialer, mesenchymaler und neurogener Neoplasmen bildet, b) daß diese Neoplasmen fast ausschließlich bei Zuchtrassen und Bastarden zwischen Angehörigen verschiedener Populationen, Rassen und Arten auftreten und c) daß diese Neoplasmen auf somatische Mutation, Keimbahnmutation, Neukombination von Genen und Veränderungen im Ablauf der Zelldifferenzierung zurückgeführt werden können. Die genetische Information für die neoplastische Transformation ist offensichtlich ein normaler Bestandteil des Genoms und als solcher in allen Individuen - auch in denen, die für die Krebsbildung insuszeptibel sind - vorhanden.

Um beurteilen zu können, ob die anhand der Neoplasmen von Xiphophorus gewonnenen Ergebnisse modellhaft auch für Haustiere und den Menschen Aussagekraft haben, bedarf es eingehender Vergleichsstudien, die im folgenden diskutiert werden sollen.

- a) S. ABDO (1979) hat in einer ausführlichen Studie gezeigt, daß die Neoplasmen von Xiphophorus ebenso wie diejenigen anderer Kaltblüter in Histomorphologie und Wachstumseigenschaften im Prinzip mit denen der Warmblüter übereinstimmen (vgl. SCHLUMBERGER, LUCKE 1948; SCHLUMBERGER 1957; SCARPELLI 1969). Papillome, wie sie bei Xiphophorus auftreten, kommen auch bei Säugern vor, z.B. beim Hauskaninchen, bei der Labormaus und beim Menschen (vgl. SHOPE 1933; DERINGER 1962; SCARPELLI 1969; DAHME, WEISS 1978). Das Plattenepithelkarzinom von Xiphophorus gleicht mit Ausnahme der Keratinisierung, die im Fisch generell nicht vorkommt (SCARPELLI 1969), dem BROWN-PEARCE-Karzinom des Kaninchens (vgl. EL-FIKY 1963). Weitgehende histologische Übereinstimmung besteht auch zwischen dem Schilddrüsenkarzinom von Xiphophorus (siehe auch GORBMANN, GORDON 1951) und dem hormoninduzierten sowie dem spontanen anaplastischen Schilddrüsenkarzinom des Hundes (vgl. MORRIS et al. 1951; ALLAM et al. 1954). Die verschiedenen Sarkomtypen, die bei Xiphophorus gefunden

wurden, sind völlig analog denen des Menschen aufgebaut (vgl. SCARPELLI 1969). Beim Neuroblastom des Auges von Xiphophorus ist weder ein histologischer noch ein ultrastruktureller Unterschied zu dem des Hamsters und der Maus zu finden (KOLLINGER 1979; vgl. MUKAI, KOBAYASHI 1973; KOBAYASHI, MUKAI 1974). Ähnliches gilt für das Melanom von Xiphophorus, welches in Histologie und Feinstruktur nur unwesentlich von dem der Maus, des Hamsters und des Menschen abweicht (VIELKIND 1976; SOBEL et al. 1975).

Die histologischen und feinstrukturellen Übereinstimmungen der Neoplasmen lassen keinen Zweifel darüber aufkommen, daß Xiphophorus ebenso wie Maus, Hamster, Ratte und andere Säuger als Modell der Krebsforschung für den Menschen dienen kann.

- b) Die Tatsache, daß im wesentlichen nur die Bastarde von Xiphophorus Neoplasmen zu bilden vermögen, während die Individuen rein gezüchteter Wildpopulationen weitgehend insuszeptibel sind, fordert zu einer Überprüfung dieses Sachverhaltes bei anderen Organismengruppen auf.

Bei vielen Pflanzen wurde eine große Krebshäufigkeit beobachtet, die offensichtlich ebenso wie bei Xiphophorus mit vorausgegangener Bastardierung, Züchtungsmaßnahmen und anderen, das genetische Gleichgewicht störenden Vorgängen in Zusammenhang steht, wie die folgenden Beispiele zeigen:

Kohl	Artkreuzung führt zur Suszeptibilität; Bodenbakterien lösen Neoplasie aus.	(JENSEN 1918; VOSKRESENKAJA, SHPOTA 1959)
Lilie	Artkreuzung führt beim Bastard-Embryo zur Suszeptibilität; Ferulasäure aus dem maternellen Gewebe löst Neoplasie aus.	(EMSWELLER et al. 1962)

Tabak	Artkreuzung bedingt Neoplasie; läßt sich auf ein bestimmtes Chromosomensegment zurückführen.	(KOSTOFF 1930; AHUJA 1968)
	Artkreuzung führt zur Suszeptibilität; Nadelstiche, Kalkspritzer, Röntgenstrahlen usw. lösen Neoplasie aus.	(AHUJA 1962; STEITZ 1967)
Tomate	Artkreuzung bedingt Neoplasie.	(DOERING, AHUJA 1967)
Stechapfel	Bastard-Zygote induziert Neoplasie im maternellen Gewebe.	(SATINA et al. 1950)
Löwenmäulchen	Extrachromosomen bedingen Neoplasie	(STEIN 1935)
Hirse	Eine bestimmte Trisomie bedingt Neoplasie.	(LIN, ROSS 1969)
Kalanchoe	Artkreuzung bedingt Neoplasie.	(BOPP, RESENDE 1966)
Mehrere Kulturpflanzen	Bestimmte DNA-Sequenzen von Ti-Plasmiden aus Agrobacterium tumefaciens bedingen Neoplasie.	(DEPICKER et al. 1978; BRAUN 1978)

Weitere Beispiele finden sich bei BRAUN und STONIER 1958; AHUJA 1965; BRAUN 1974; BEIDERBECK 1977.

Bei den Invertebraten (z.B. Süßwasserpolyphen, Planarien, Muscheln, Würmern, Drosophila, Schmetterlingen) ist gelegentlich zwar spontanes und induziertes Auftreten von Neoplasmen beobachtet worden (CHRISTENSEN et al. 1974; FARLEY 1976; KHUDOLEY, SYRENKO 1978; GATEFF 1978; für eine zusammenfassende Darstellung s. KRIEG 1973), doch wird nur beim Schmetterling Solenobia

über ursächliche Beziehungen zwischen Krebsbildung und vorausgegangener Bastardierung berichtet (SEILER et al. 1958). Allerdings ist von Drosophila seit langem bekannt, daß intraspezifische Hybridisierung die Mutationshäufigkeit steigert (siehe WOODRUFF et al. 1979). Dies könnte die Krebsbildung bei dieser Spezies, die eindeutig auf Mutationen zurückgeht (GATEFF, SCHNEIDERMAN 1974; GATEFF 1978), begünstigt haben. - Auffallend ist, daß bei den Invertebraten viel seltener Neoplasien beobachtet wurden als bei den bereits besprochenen Pflanzen und den noch zu besprechenden Vertebraten. Wir vermuten, daß dies nicht mit der "niedrigen" Organisation dieser Tiere zusammenhängt, sondern damit, daß wir sie meistens nur im genetisch unversehrten Wildzustand kennen, in dem sie durch adaptive Gen-systeme vor Krebs geschützt sind.

Bei den Vertebraten läßt sich leicht erkennen, daß Bastarde sowie Haus- und Laboratoriumstiere, die im Prinzip alle nach den klassischen Methoden der Kombinationszüchtung (Bastardierung!), Selektion und Inzucht (genetische Konservierung der Bastardnatur!) geschaffen wurden, im Vergleich zu den Wildtieren eine hohe "Spontanrate" diverser Neoplasmen haben; außerdem lassen sich bei Laboratoriumstieren Neoplasmen viel leichter induzieren als bei den entsprechenden Wildtieren. Auch andere Störungen des genetischen Gleichgewichtes, wie numerische und strukturelle Chromosomenanomalien, lassen Beziehungen zur Krebsbildung erkennen. Hohe Raten von "Spontan-Tumoren" sowie leichte Induzierbarkeit von Neoplasmen zeigen unter anderem folgende Wirbeltiere:

Xiphophorus	Bastarde und Zuchtformen bilden "spontan" oder nach Induktion mittels Karzinogenen diverse Neoplasmen.	(vorliegende Publikation)
Forelle	Zuchtformen (Bastarde!) bilden unter dem Einfluß von Aflatoxin Lebertumoren u.a.	(HALVER, MITCHELL 1967)

Karpfen	Cyprinus carpio/Carassius auratus-Bastarde bilden Hodentumoren, die möglicherweise umweltbegünstigt sind (große Häufigkeit im Ontario-See).	(SONSTEGARD 1977; LEATHERLAND, SONSTEGARD 1978)
Kröte	Bufo calamita/B.viridis-Bastarde bilden "spontan" Chordome.	(FLINDT et al. 1968)
Ente	Moschusenten/Stockenten-Bastarde bilden "spontan" Testistumoren.	(CREW, KOLLER 1936)
Huhn	Pfauhahn/Perlhuhn-Bastarde bilden "spontan" Testistumoren. Bestimmte Zuchtrassen haben große Leukose-Häufigkeit.	(POLL 1920)
Maus	Mus musculus/M.bactrianus-Bastarde bilden fünfmal häufiger Neoplasmen als die Ausgangsarten. Bastarde zwischen Inzuchtstämmen zeigen gesteigerte "Spontan-Raten" und Induzierbarkeit von Neoplasmen. Strukturveränderungen einzelner Chromosomen sind mit der Bildung diverser Neoplasmen korreliert. Trisomie 15 ist mit Leukämie korreliert.	(LITTLE 1939, 1947) (WOOLLEY et al. 1952) (GERMAN 1974) (DOFUKU et al. 1975)

- F₁-Bastarde von BALBc und NZB entwickeln zu 50-60 % Plasmazelltumoren, die mit Hilfe von Rückkreuzungen auf einzelne Gene zurückgeführt werden könnten. (WARNER et al. 1974)
- Suszeptibilität für Tumoren des Enddarms zeigt bei bestimmten Bastarden Mendel-Spaltung. (EVANS et al. 1977)
- Ratte Ein bestimmter Zuchtstamm hat 100%ige Penetranz eines Gens für Nierentumoren. (MOSSIGE, EKER 1963)
- Bastardierung von Zuchtstämmen führte bei 23 % der Tiere zu Immunozytomen. (BAZIN et al. 1973)
- Schwein Zuchtstamm "Sinclair" (Miniaturschwein) bildet Melanome, die nach den Mendel'schen Gesetzen vererbt werden. (MILLIKAN et al. 1974)
- Hund Hohe "Spontan-Rate" und leichte Induzierbarkeit der Neoplasmen. (WEISS 1972; DENLINGER et al. 1978)
- Boxer hat extrem hohe Suszeptibilität für diverse Neoplasmen; bis zu 80 % der Tiere bilden "spontan" Mastzellentumoren.
- Pferd Beim Lipizzaner bilden alle Individuen auf genetischer Basis Melanome. (GEBHARD, NIEBAUER 1979)

Diese Beispiele ließen sich um ein Vielfaches vermehren. Sie zeigen, daß die bei Xiphophorus gefundene Beziehung zwischen Bastardierung bzw. Kombinationszüchtung und Krebs-Suszeptibilität keine Ausnahme darstellt, sondern offenbar die Regel ist.

- c) Es ist bisher kein System bekannt, bei dem die Bedeutung der genetischen Information für die neoplastische Transformation und deren Aktivierung (Derepression) durch somatische Mutation, Keimbahnmutation, Neukombination der Gene und Veränderung der Zelldifferenzierung so integrierend untersucht werden konnte wie bei Xiphophorus. Hier hat es sich gezeigt, daß viele Schritte zur Derepression des Tumor-Gens Tu notwendig sind, und daß der letzte Schritt sich entweder im Soma oder in der Keimbahn vollziehen kann.

Unter den bisher aufgeführten Beispielen, bei denen die Neoplasmen "spontan" auftreten, wie bei den Tabak- oder Enten-Bastarden, dürfte der letzte Derepressionsschritt wohl meist auf der kreuzungsbedingten Elimination von R-Genen aus der Keimbahn (Neukombination des Genoms) beruhen. Keimbahnmutation als letzter Derepressionsschritt könnte z.B. für die Melanome der Lipizzaner verantwortlich sein. Bei manchen Neoplasmen, wie bei denen der Kohlbastarde, scheint die keimbahnbedingte Derepression der vorletzte Schritt zu sein, während der letzte Schritt modifikatorisch in die Zelldifferenzierung eingreift und die Kompetenz zur neoplastischen Transformation herbeiführt. Die Mehrzahl der Neoplasmen, die nach Induktion mit mutagenen Karzinogenen bei einzelnen Individuen fokal auftritt, wird dagegen vermutlich im letzten Derepressionsschritt durch somatische Mutation bedingt sein (Abb. 8, Fall b und c), so wie die meisten der in Tab. 3 aufgeführten Neoplasien von Xiphophorus.

Auch die Mehrzahl der Neoplasmen des Menschen wird vermutlich, wie bei Xiphophorus, auf eine somatische Mutation, die den letzten Derepressionsschritt der genetischen Information für die neoplastische Transformation darstellt, zurückgeführt werden können. Darüber hinaus gibt es konkrete Beispiele menschlicher

Tumoren, deren Ätiologie ganz oder teilweise den an Xiphophorus erarbeiteten Ätiologie-Typen zugeordnet werden kann:

Retinoblastom	3 Ätiologie-Typen: a) Dominante Keimbahn- mutation b) Somatische Mutation c) Partieller Verlust des langen Armes von Chromosom 13	(s. KNUDSON 1971; SPARKES et al. 1979)
Polyposis des Enddarms	Dominante Mutation	(s. LYNCH 1967)
Meningiom	Verlust eines Endes von Chromosom 22	(MARK 1973)
Chronische myeloische Leukämie	Translokation des langen Armes von Chromosom 22 an Chromosom 9	(ROWLEY 1973)
Akute lympho- cytäre Leukämie	Chromosomenmutationen bedingen Leukämie	(CIMINO et al. 1979)
Burkitt's Lymphom	2 Typen: a) Translokation eines terminalen Segments von Chromosom 8 an 14; b) Translokation eines terminalen Segments von Chromosom 2 an 8.	(ZECH 1974; ZECH et al. 1976; MIYOSHI et al. 1979; vgl. KIRCHNER 1979)
	Unter dieser Voraussetzung löst das weitverbreitete Epstein-Barr-Virus die Lymphom-Bildung aus.	
Melanom	Derepression eines "major"- Genes durch Mutation oder Elimination eines anderen Gens, vermutlich Regula- tions-Gens.	(ANDERSON 1971)

Aus unserer Sicht beruhen diese und eine Reihe anderer, ähnlich bedingter Neoplasmen des Menschen (s. LENZ 1979), auf Mutation, Deletion oder Elimination von R-Genen, die normalerweise die genetische Information für die neoplastische Transformation - entsprechend dem Tu-Gen von Xiphophorus - reprimieren.

Mit Unterstützung durch die Universität Gießen und durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft, Sonderforschungsbereich 103, "Zellenergetik und Zelldifferenzierung" (Marburg).

Literatur:

1. ABDO, S.: Studies on Neoplasia in Xiphophorus. Histomorphology of N-Methyl-N-Nitrosourea (MNU) Induced Neoplasms and Cytology and Cytochemistry of Genetically Conditioned Amelanotic Melanoma. Dissertation, Gießen 1979.
2. AHUJA, M.R.: A Cytogenetic Study of Heritable Tumors in Nicotiana Species Hybrids. Genetics 47, 865-880 (1962).
3. AHUJA, M.R.: Genetic Control of Tumor Formation in Higher Plants. Quart. Rev. Biol. 40, 329-340 (1965).
4. AHUJA, M.R.: An Hypothesis and Evidence Concerning the Genetic Components Controlling Tumor Formation in Nicotiana. Mol. Gen. Genetics 103, 176-184 (1968).
5. AHUJA, M.R., ANDERS, F.: Cancer as a Problem of Gene Regulation In: GALLO (ed.): Recent Advances in Cancer Research: Cell Biology, Molecular Biology and Tumor Virology; C.R.C. Press, Cleveland 1977, pp. 103-117.
6. AHUJA, M.R., LEPPER, K., ANDERS, F.: Sex Chromosome Aberrations Involving Loss and Translocation of Tumor-Inducing Loci of Platyfish, Platyopocilus maculatus. Experientia 35, 28-30 (1979).
7. AHUJA, M.R., SCHWAB, M., ANDERS, F.: Tissue Specific Esterase in the Xiphophorine Fish Platyopocilus maculatus, Xiphophorus

- helleri and their Hybrids. *Biochem. Genet.* 15, 601-609 (1977).
8. AHUJA, M.R., SCHWAB, M., ANDERS, A., ANDERS, F.: Relationship between a Regulating Gene R^{Diff} and an Esterase Locus in Xiphophorus Melanoma System. *Biochemical Genetics* 1979.
 9. ALLAM, M.W., LOMBARD, L.S., STUBBS, E.L., SHIRER, J.F.: Transplantation of a Thyroid Carcinoma within the canine species. *Cancer Res.* 14, 734-737 (1954).
 10. AMES, B.C.: Identifying Environmental Chemicals Causing Mutations and Cancer. *Science* 204, 587-593 (1979).
 11. ANDERS, A., ANDERS, F.: Etiology of Cancer as Studied in the Platyfish-Swordtail System. *Biochim. Biophys. Acta* 516, 61-95 (1978).
 12. ANDERS, A., ANDERS, F., KLINKE, K.: Regulation of Gene Expression in the Gordon-Kosswig-Melanoma System. II. The Arrangement of Chromatophore-Determining Loci and Regulating Elements in the Sex Chromosomes of Xiphophorine Fish, Platypoecilus maculatus and Platypoecilus variatus.
In: J.H. SCHRÖDER (ed.): *Genetics and Mutagenesis of Fish*; Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1973, pp. 53-63.
 13. ANDERS, F., DIEHL, H., SCHOLL, E.: Differentiation of Normal Melanophores and of Neoplastically Transformed Melanophores in the Skin of Xiphophorus.
In: SPEARMAN, R.I.C. (ed.): *Zoological Society of London Symposia Academic Press, New York 1979*.
 14. ANDERS, F., KLINKE, K., VIELKIND, U.: Genregulation im Melanom-System der Zahnkärpflinge. *Biologie in unserer Zeit* 2, 35-45 (1972).
 15. ANDERSON, D.E.: Clinical Characteristics of the Genetics Variety of Cutaneous Melanoma in Man. *Cancer* 28, 721-725 (1971)
 16. AZUMI, J., SACHS, L.: Chromosome Mapping of the Genes that Control Differentiation and Malignancy in Myeloid Leukemic Cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 74, 253-257 (1977).
 17. BAGNARA, J., MATSUMOTO, J., FERRIS, W., FROST, S., TURNER, W. jr., TCHEN, T., TAYLOR, J.: Common Origin of Pigment Cells. *Science* 203, 410-415 (1979).

18. BAUER, K.H.: Mutationstheorie der Geschwulstentstehung. Übergang von Körperzellen in Geschwulstzellen durch Gen-Änderung. Springer-Verlag, Berlin 1928.
19. BAUER, K.H.: Aktuelle Probleme aus dem Gebiet der Cancerologie II. LETTRÉ, H. und WAGNER, G. (eds.): Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1968.
20. BAZIN, H., BECKERS, A., DECKERS, C., MORIAME, M.: Transplantable Immunoglobulinsecreting Tumors in Rats. V. Monoclonal Immunoglobulin Secreted by 250 Ileocecal Immuncytomas in Lon-Wsl Rats. J.Natl.Cancer Inst. (1973), 1359.
21. BEIDERBECK, R.: Pflanzentumoren, 1. Aufl.; Ulmer, Stuttgart 1977.
22. BENTVELZEN, P.: Genetical Control of the Vertical Transmission of the Mühlbock Mammary Virus in the GR Mouse Strain; Hollandia, Amsterdam 1968.
23. BERENBLUM, I.: Carcinogenesis as a Biological Problem. North-Holland Publishing Company, Amsterdam, Oxford 1974.
24. BLOT, W.J., MASON, T.J., HOOVER, R., FRAUMENI, J.F. jr.: Cancer by Country: Etiologic Implications. In: HIATT, H.H., WATSON, J.D., WINSTEN, J.A. (eds.): Origins of Human Cancer, Book A.; Cold Spring Harbor Laboratory 1977, pp. 21-32.
25. BOPP, M., RESENDE, F.: Grown-Gall-Tumoren bei verschiedenen Arten und Bastarden der Kalanchoideae. Port. Acta Biol. Ser. A. IX, 327-366 (1966).
26. BOVERI, T.: The Origin of Malignant Tumors. Williams and Wilkins, Baltimore 1929.
27. BRAUN, A.C.: The Cancer Problem. A Critical Analysis and Modern Synthesis; Columbia Press, New York 1972.
28. BRAUN, A.C.: The Biology of Cancer. Addison-Wesley Publishing Company, London 1974.
29. BRAUN, A.C.: Plant Tumors. Biochim. Biophys. Acta 516, 167-191 (1978).
30. BRAUN, A.C., STONIER, T.: Morphology and Physiology of Plant Tumors. In: HEILBRUNN, L.V., WEBER, F. (eds.): Protoplasmatologia, Vol. 10; Springer-Verlag, Wien 1958.
31. BREIDER, H.: Über Melanosarkome, Melaninbildung und homologe Zellmechanismen. Strahlentherapie 88, 3/4 (1952).

32. BROOKE, E.M.: Géographie de la mortalité due au Cancer en Suisse. 1969-1971. Département de l'intérieure et de la Santé Publique, Lausanne 1976.
33. BURCH, P.R.: Rauchen und Krebs; 1. Aufl.; Rau, Düsseldorf 1977.
34. CHRISTENSEN, D.J., FARLEY, C.A., KERN, F.G.: Epizootic Neoplasms in the Clam Macoma balthica (L.) from Chesapeake Bay. J. Natl. Cancer Institute 52, 1739-1749 (1974).
35. CIMINO, M., ROWLEY, J., KINNEALEY, A., VARIAKOJIS, D., GOLOMB, H.: Banding Studies of Chromosomal Abnormalities in Patients with Acute Lymphocytic Leukemia. Cancer Res. 39, 227-238 (1979).
36. CREW, F.A.E., KOLLER, P.: Genetical and Cytological Studies on the Inter-Generic Hybrid of *Cairina moschata* and *Anas platyrhynchos*. Proc.roy. Soc. Edinb. 56, 210 (1936).
37. DAHME, E., WEISS, E.: Grundriß der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere, Neubearb. Aufl.; Enke, Stuttgart 1978, p. 184, Abb. 2.
38. DENLINGER, R.H., KOESTNER, A., SWENBERG, J.A.: Neoplasms in Purebred Boxer Dogs Following Long-Term Administration of N-Methyl-N-Nitrosourea. Cancer Res. 38, 1711-1717 (1978).
39. DEPICKER, A., van MONTAGU, M., SCHELL, J.: Homologous DNA Sequences in Different Ti-Plasmids are Essential for Oncogenicity. Nature 275, 150-152 (1978).
40. DERINGER, M.K.: Response of Strain HR/De Mice to Painting with Urethan. J. Natl. Cancer Institute 29, 1107-1121 (1962).
41. DOFUKU, R., BIEDLER, J.L., SPRENGLER, B.A., OLD, L.J.: Trisomy of Chromosome 15 in Spontaneous Leukemia of AKR Mice. Proc. Natl. Acad. Sci. 72, 1515-1517 (1975).
42. DOERING, G.R., AHUJA, M.R.: Morphogenetic Studies of Genetically Controlled Tumor-Like Condition in Lycopersicon hybrids. Planta 75, 85-93 (1967).
43. EL-FIKY, SH.M.: Cytological and Cytochemical Studies of Malignant Cells of Brown-Pearce Tumor and its Different Metastases in Rabbits. Ph.D. Dissertation, Moscow 1963.
44. EMSWELLER, S.L., ASEN, S., UHRING, J.: Tumor Formation in Interspecific Hybrids of Lilium. Science 136, 266 (1962).

45. EVANS, J.T., SHOWS, T.B., SPROUL, E.E., PAOLINI, N.S., MITTELMAN, A., HAUSCHKA, T.S.: Genetics of Colon Carcinogenesis in Mice Treated with 1,2-Dimethylhydrazine. *Cancer Res.* 37, 134-136 (1977).
46. FARLEY, C.A.: Ultrastructural Observations on Epizootic Neoplasia and Lytic Virus Infection on Bivalve Mollusks. In: HOMBURGER (ed.): *Progress in Experimental Tumor Research* 20, Karger, Basel 1976, pp. 283-294.
47. FARLEY, C.A.: Neoplasms in Estuarine Mollusks and Approaches to Ascertain Causes. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 298, 225-232 (1977).
48. FLINDT, R., HEMMER, H., SCHIPP, R.: Zur Morphogenese von Mißbildungen bei Bastardlarven *Bufo calamina* ♀ x *Bufo viridis* ♂: Störungen in der Ausbildung des Axialskeletts. - *Zool. Jb. Anat.* 85, 51-71 (1968).
49. FOERSTER, W., ANDERS, F.: Zytogenetischer Vergleich der Karyotypen verschiedener Rassen und Arten lebendgebärender Zahnkarpfen der Gattung *Xiphophorus*. *Zool. Anz., Jena* 198, 167-177 (1977).
50. FRENTZEL-BEYME, R., WAGNER, G.: Krebsatlas für die Bundesrepublik Deutschland. Trenddarstellung der regionalen Krebshäufigkeit. *Umschau* 79, Heft 2, 47-51 (1979).
51. GATEFF, E.: Malignant Neoplasms of Genetic Origin in *Drosophila melanogaster* *Science* 200, 1448-1459 (1978).
52. GATEFF, E., SCHNEIDERMAN, H.A.: Developmental Capacities of Benign and Malignant Neoplasms of *Drosophila*. *Wilhelm Roux's Archiv* 176, 23-65 (1974).
53. GALLO, R.C.: On the Origin of Human Acute Myeloblastic Leukemia: Virus "hot spot" hypothesis. In: NETH, R., GALLO, R.C., SPIEGELMAN, S., STOHLMAN, F. (eds.): *Modern Trends in Human Leukemia*; Lehmanns, München 1974.
54. GEBHARD, NIEBAUER: In: KLAUS, S. (ed.): *Pigmentation - its Genesis and Biological Control*. Karger, Basel (1979).
55. GERMAN, J. (ed.): *Chromosomes and Cancer*, Wiley, New York 1974
56. GILLESPIE, D., GALLO, R.C.: RNA Processing and RNA Tumor Virus Origin and Evolution. *Science* 188, 802-811 (1975).

57. GORBMAN, A., GORDON, M.: Spontaneous Thyroidal Tumors in the Swordtail Xiphophorus montezumae. Cancer Res. 11, 184-187 (1951).
58. GORDON, M.: The Genetics of a Viviparous Top-Minnow Platy-poecilus; the Inheritance of Two Kinds of Melanophores. Genetics 12, 253-283 (1927).
59. GRAFFI, A.: Untersuchungen zur Virusätiologie des Krebses, Sitzungsberichte der AdW der DDR 9/2N, 25-59 (1975).
60. GROSS, L.: Facts and Theories on Viruses Causing Cancer and Leukemia. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 71, 2013-2017 (1974).
61. HAAS, J.: Nachweis somatischer Mutationen im Melanomsystem der Zahnkarpfen. Dissertation, Gießen 1979.
62. HAAS-ANDELA, H.: Versuche zur genetischen Transformation von Pigmentzellen bei lebendgebärenden Zahnkarpfen (Poeciliidae). Dissertation, Gießen 1978.
63. HÄUSSLER, G.: Über Melanombildung bei Bastarden von Xiphophorus helleri und Platy-poecilus maculatus var. Rubra. Klin. Wschr. 7, 1561-1562 (1928).
64. HALVER, J.E., MITCHELL, I.A.: Trout Hepatoma Research Conference Papers. Res. Rep. U.S. Fish. Wildl. Serv. 70, 1-99 (1967).
65. HOLLEY, R.W.: Control of Growth of Mammalian Cells in Cell Culture. Nature 258, 487-490 (1975).
66. HOWE, M.: National Atlas of Disease Mortality in the United Kingdom. Nelson, London 1970.
67. HUEBNER, R.J., and TODARO, G.J.: Oncogenes of RNA Tumor Viruses Determinants of Cancer. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 64, 1087-1094 (1969).
68. HUXLEY, J.: Krebs in biologischer Sicht, 1. Aufl. Thieme, Stuttgart 1960.
69. JENSEN, C.O.: Undersøgelse over vedrørende nogle svulstignende dannelser hos planter. Kgl. Vet. Landboh. Aarsk., Kopenhagen, 91-143 (1918).
70. KAISER, H.E.: Das Abnorme in der Evolution, 1. Aufl. Brill, Leiden 1970.
71. KAISER, H.E.: In: KAISER, H.E. (ed.): Comperative Pathology of Abnormal Growth. Raven, New York, im Druck 1979.

72. KALLMAN, K.D., ATZ, J.W.: Gene and Chromosome Homology in Fishes of the Genus Xiphophorus. Zoologica (New York) 51, 35-107 (1967).
73. KALLMAN, K.D.: The Platyfish Xiphophorus maculatus. In: KING, R.C. (ed.): Handbook of Genetics, Vol. 4; Plenum Press, New York 1975, pp. 81-132.
74. KARLSON, P., GEROK, W., GROSS, W.: Pathobiochemie, 1. Aufl. Thieme, Stuttgart 1978.
75. KHUDOLEY, V.V., SYRENKO, O.A.: Tumor Induction by N-Nitroso Compounds in Bivalve Mollusks Unio Pictorum. Cancer Letter 4, 349-354 (1978).
76. KIRCHNER, H.: Bürgerkrieg der Lymphozyten. Umschau 79, 137-142 (1979).
77. KNUDSON, A.G.: Mutation and Cancer: Statistical Study of Retinoblastoma. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 68, 820-823 (1971).
78. KNUDSON, A.G.: Mutation and Cancer. Adv. Cancer Res. 17, 317-352 (1973).
79. KNUDSON, A.G., STRONG, L.C., ANDERSON, D.C.: Heredity and Cancer in Man. Progr. Med. Genet. 9, 113-158 (1973).
80. KOBAYASHI, S., MUKAI, N.: Retinoblastoma-Like Tumors Induced by Human Adenovirus Type 12 in Rats. Cancer Res. 34, 1646-1651 (1974).
81. KOLLINGER, G.: Neurogene Neoplasmen (Melanom, Neuroblastom) bei Xiphophorus. Über Histomorphologie, Ultrastruktur und die chemische Induktion dieser Tumoren in Abhängigkeit vom Genotyp. Dissertation, Gießen 1979.
82. KOLLINGER, G., SCHWAB, M., ANDERS, F.: Virus-Like Particles Induced by Bromodeoxyuridine in Melanoma and Neuroblastome of Xiphophorus. Z.f.Krebsforsch. (im Druck 1979).
83. KOSSWIG, C.: Über Bastarde der Teleostier Platypoecilus und Xiphophorus. Z. indukt. Abstamm. u. Vererb.-Lehre 44, 253 (1927).
84. KOSSWIG, C.: Kleinere Mitteilungen über Art- und Gattungsbastarde von Zahnkarpfen. Zool. Anz. 114, 195-206 (1936).
85. KOSTOFF, D.: Tumors and Other Malformation on Certain Nicotiana Hybrids. Zbl. Bakt. Parasitenk. Abt. II, 81, 244-260 (1930).

86. KRIEG, K.: Invertebraten in der Geschwulstforschung.
In: MÖBIUS, W., GERSCH, M., DRUCKEREY, H. (eds.): Beiträge zur Krebsforschung, Bd. 12; Steinkopf, Dresden 1973.
87. KUHN, C.: Über das in vitro-Verhalten transformierter Zellen der lebendgebärenden Zahnkarpfen. Dissertation, Gießen 1979.
88. LAMPERT, F.: Chromosome Alterations in Human Carcinogenesis.
In: Advances in Cell and Molecular Biology I. Academic Press, New York and London 1971, pp. 185-212.
89. LEATHERLAND, J.F., SONSTEGARD, R.A.: Structure of Normal Testis and Testicular Tumors in Cyprinids from Lake Ontario.
Cancer Res. 38, 3164-3173 (1978).
90. LENZ, W.: Medizinische Genetik. 4. Aufl., Thieme-Verlag, Stuttgart 1979.
91. LIN, P.S., ROSS, J.G.: Ovular Tumors in a Trisomic Sorghum Plant. J. Hered. 60, 183-185 (1969).
92. LITTLE, C.C.: Hybridisation and Tumor Formation in Mice.
Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 25, 452-455 (1939).
93. LITTLE, C.C.: The Genetics of Cancer in Mice.
Biol. Rev. 22, 315 (1947).
94. LWOFF, A.: In: RNA Viruses and Host Genome in Oncogenesis; North-Holland, Amsterdam, London 1972.
95. LYNCH, H.T.: Heredity Factors in Carcinoma. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg 1967.
96. MANGELSDORF, P.C.: The Mutagenic Effect of Hybridizing Maize and Teosinte. Cold Spring Harb. Symp. quant. Biol. 23, 409-421 (1958).
97. MARK, J.: Karyotype Patterns in Human Meningiomas. A Composition between Studies with G- and Q-Banding Techniques.
Hereditas 75, 213-220 (1973).
98. MARKERT, C.L.: Neoplasia, a Disease of Cell Differentiation.
Cancer Res. 28, 1908-1914 (1965).
99. MASON, T.J., MCKAY, F.W., HOOVER, R. et al.: Atlas of Cancer Mortality for U.S. Counties; 1959-1969. DHEW Publ. No. 75-780 Govt. Printing Office, Washington 1975.
100. MASON, T.J., MCKAY, F.W., HOOVER, R. et al.: Atlas of Cancer Mortality among US-Nonwhites- DHEW Publ. No. 75-780. Govt. Printing Office, Washington 1975.

101. MATSUSHIMA, T., SUGIMURA, T.: Experimental Carcinogenesis in Small Aquarium Fishes. *Progr. exp. Tumor Res.* 20, 367-379 (1976).
102. MILLER, E.: Some Current Perspectives on Chemical Carcinogenesis in Humans and Experimental Animals: Persidential Address. *Cancer Res.* 38, 1479-1496 (1978).
103. MILLIKAN, L.E., BOYLON, J.L., HOCK, R.R., MANNING, P.J.: Miniature Swine = Sinclair Swine. Melanoma in Sinclair Swine: a New Animal Model. *J. of Investigative Dermatology* 62, 20-30 (1974).
104. MIYOSHI, I., HIRAKI, S., KIMURA, I., SATO, J.: 2/8 Translocation in a Japanese Burkitt's Lymphoma. *Experientia* 35, 742-743 (1979).
105. MOSSIGE, J., EKER, R.E.: Dominant Renal Adenomas in the Rat. *Genetics Today* 1, 185 (1963).
106. MORRIS, H.P., DALTON, A.J., GREEN, C.D.: Malignant Thyroid Tumors Occuring in the Mouth After Prolonged Hormonal Imbalance during the Ingestion of Thiouracil. *J. Clin. Endocrinol.* 11, 1281-1295 (1951).
107. MUIR, C.: Zitiert aus: *Naturw. Rdsch.* 30, 447 (1977).
108. MUKAI, N., KOBAYASHI, S.: Extraocular Orbital Tumors Induced by Human Adenovirus Type 12 in Hamsters. *Invest. Ophthalmol.* 12, 185-192 (1973).
109. ORTNER, D.O.: In: KAISER, H.E. (ed.): *Comparative Pathology of Abnormal Growth*. Raven Press, New York, im Druck 1979.
110. PIERCE, G.R.: The Benign Cells of Malignant Tumors. In: KING, T. (ed.): *Developmental Aspects of Carcinogenesis and Immunity*; Academic Press, New York, San Francisco, London 1974, pp. 3-22.
111. POLL, H.: Zwischenzellengeschwulst des Hodens bei Vogel-mischlingen. *Beitr. Path. Anat.* 67, 40 (1920).
112. PRESCOTT, D.: *Cancer - The Misguided Cell*. The Bobbs-Merrill Company, Inc., Publishers, Indianapolis, New York 1973.
113. ROWE, W.P.: Genetic Factors in the Natural History of Murine Leukemia Virus Infection: G.H.A. Clowes Memorial Lecture. *Cancer Res.* 33, 3061-3068 (1973).

114. ROWLEY, J.D.: A New Consistant Chromosomal Abnormality in Chronic Myelogenous Leukemia Identified by Quinacrine Fluorescence and Giemsa Staining. *Nature* 243, 290-293 (1973).
115. SACHS, L.: Control of Normal Cell Differentiation and the Phenotypic Reversion of Malignancy in Myeloid Leukemia. *Nature* 274, 535-539 (1978).
116. SATINA, S.J., RAPPAPORT, J., BLAKESLEE, A.F.: Ovular Tumors Connected with Incompatible Crosses in Datura. *Amer. J. Bot.* 37, 576-586 (1950).
117. SCARPELLI, D.G.: Comparative Aspects of Neoplasia in Fish and Other Laboratory Animals. In: NEUHAUS, O.W., NALVER, J.E. (eds.): *Fish in Research*. Academic Press, New York and London 1969, pp. 45-48.
118. SCHARTL, A.: Untersuchungen über den Einfluß von Steroiden und Retinoiden auf die Differenzierung von Zellen von Xiphophorus. Diplomarbeit, Gießen 1979.
119. SCHARTL, M.: Versuche zur Chimärenbildung bei Xiphophorus. Applikation und Integration von prospektivem und definitivem Melanomgewebe in Embryonen. Diplomarbeit, Gießen 1978.
120. SCHARTL, M.: Versuche zur Chimärenbildung bei Xiphophorus. Untersuchungen über die Zellautonomie von Genwirkungen in neoplastisch transformierten Zellen. Dissertation, Gießen 1979.
121. SCHLUMBERGER, H.G., LUCKE, B.: Tumors of Fishes, Amphibians, and Reptiles. *Cancer Res.* 8, 657-712 (1948).
122. SCHLUMBERGER, H.G.: Tumor Characteristic for Certain Animal Species. A Review. *Cancer Res.* 17, 823-832 (1957).
123. SCHOLL, A.: Biochemical Evolution in the Genus Xiphophorus (Poeciliidae, Teleostei). In: SCHRÖDER, J.H. (ed.): *Genetics and Mutagenesis of Fish*; Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1973, pp. 277-299.
124. SCHOLL, E.: Biochemische Markierung von Chromosomen und differentielle Genexpression in Tumor- und Embryonalgewebe bei Zahnkarpfen (Poeciliidae). Staatsexamensarbeit, Univ. Gießen 1977.
125. SCHOLL, E.: Untersuchungen über biochemische Marker bei verschiedenen Genotypen lebendgebärender Zahnkarpfen der Gattung

- Xiphophorus. Dissertation, Gießen 1979.
126. SCHWAB, M., ABDO, S., AHUJA, M.R., KOLLINGER, G., ANDERS, A., ANDERS, F.: Genetics of Susceptibility in the Platyfish/Swordtail Tumor System to Develop Fibrosarcoma and Rhabdomyosarcoma following Treatment with N-Methyl-N-Nitrosourea (MNU). *Z. Krebsforsch.* 91, 301-315 (1978).
 127. SCHWAB, M., AHUJA, M.R., ANDERS, F.: Elevated Levels of Lactate Dehydrogenase in Genetically Controlled Melanoma in Xiphophorine Fish. *Comp. Biochem. Physiol.* 54B, 197-199 (1976).
 128. SEILER, J., PUCHTA, O., BRUNOLD, E., RAINER, M.: Die Entwicklung des Genitalapparates bei triploiden Intersexen von *Solenobia triquetrella* F.R. (Lepid. Psychidae). Deutung des Intersexualitätsphänomens. *Wilhelm Roux's Archiv für Entwickl.-mech.*, Bd. 150, 199-372 (1958).
 129. SHOPE, R.E.: Infectious Papillomatosis of Rabbits. *J. Exp. Med.* 58, 607-624 (1933).
 130. SMITH, H.H.: Plant Genetic Tumors. *Prog. Exp. Tumor Res.* 15, 138-164 (1972).
 131. SOBEL, H.J., MARQUET, E., KALLMAN, K.D., CORLEY, G.J.: Melanoma In Platy/Swordtail Hybrids. In: RIBELIN, W.E., MIGAKI, G. (eds.): *The Pathology of Fishes; The University of Wisconsin Press, Wisconsin 1975*, pp. 945-981.
 132. SONSTEGARD, R.A.: Environmental Carcinogenesis Studies of Fishes of the Great Lakes of North America. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 298, 261-269 (1977).
 133. SPARKES, R.S., MULLER, H., KLISAK, I.: Retinoblastome with 13q - Chromosomal Deletion Associated with Maternal Paracentric Inversion of 13q. *Science* 203, 1027-1029 (1979).
 134. STEIN, E.: Weitere Analyse der Gruppe A... bei Antirrhinum. *Z. indukt. Abstamm. u. Vererbungsleh.* 69, 303-326 (1935).
 135. STEITZ, E.: Untersuchungen über die Wirkung von Kinetin auf Kallus und Tumoren bei Organkulturen von Nicotiana glauca, N. langsdorffi und deren amphidiploiden Bastard. *Experientia* 23, 367-369 (1967).

136. STRONG, L.C.: Theories of Pathogenesis: Mutation and Cancer. In: MULVIHILL, J.J., FRAUMENI, J.F. (eds.): Genetics of Human Cancer. Raven Press, New York 1977, pp. 401-404.
137. STURTEVANT, A.H.: High Mutation Frequency Induced by Hybridisation. Proc. Natl. Acad. Sci. 25, 308-310 (1939).
138. TNM-System: Die Klassifizierung der malignen Tumoren nach dem TNM-System. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1970.
139. TOOZE, J.: The Molecular Biology of Tumor Viruses. Cold Spring Harbour Laboratory 1973.
140. VIELKIND, J., HAAS-ANDELA, H., ANDERS, F.: DNA-Mediated Transformation in the Platyfish-Swordtail Melanoma System. *Experientia* 32, 1043 (1976).
141. VIELKIND, U.: Genetic Control of Cell Differentiation in Platyfish-Swordtail Melanomas. *J. Exp. Zool.* 196, 197-205 (1976)
142. VOSKRESENKAJA, G.G., SHPOTA, V.I.: Genetic Tumors in Distant Plant Hybrids and their Use in Selection. *Dokl. Akad. Nauk. SSR (Biol. Sci.)* 124, 195-197 (1959).
143. WARNER, N.L., POTTER, M., METCALF, D. (eds.): Multiple Myeloma and Related Immunoglobulin-Producing Neoplasms. U/CC Technical Report Series - Vol. 13, Genf 1974.
144. WEISS, E.: Geschwülste. In: FREI, A. (ed.): Allgemeine Pathologie, Verlag Paul Parey, Berlin 1972, pp. 295-347.
145. WESTON, J.A.: The Migration and Differentiation of Neural Crest Cells. *Adv. Morphogenes.* 8, 41-114 (1970).
146. WEYL, R.: Die paläogeographische Entwicklung Mittelamerikas. *Zbl. f. Geologie und Paläontologie, Teil I*, 432-466 (1973).
147. WITTLAKE, E.B.: In: KAISER, H.E. (ed.): Comparative Pathology of Abnormal Growth. Raven-Press, New York, im Druck 1979.
148. WOLF, B., ANDERS, F.: Xiphophorus I: Farbmuster; Genetisches Institut, Univ. Gießen 1975.
149. WOLLEY, G.W., DICKIE, M.M., LITTLE, C.C.: Adrenal Tumors and other Pathological Changes in Reciprocal Crosses in Mice I. *Cancer Res.* 12, 142 (1952).
150. WOODRUFF, R.C., THOMPSON, J.N. jr., LYMAN, R.F.: Intraspecific Hybridization and the Release of Mutator Activity. *Nature* 278, 277-279 (1979).

151. ZANDER, K.D.: Physiologische und genetische Untersuchungen zur Systematik xiphophoriner Zahnkarpfen. Mitt. Hamburg. Zool. Mus. Inst. (Kosswig-Festschrift) Sept. 1964, 333-348 (1964).
152. ZECH, L.: Non-Random Distribution of Chromosome Abnormalities in Tissues of Neoplastic Origin. Proc. XI. Int. Cancer Congr. Florence, p. 644 (1974).
153. ZECH, L., HAGLUND, U., NILSON, K., KLEIN, G.: Characteristic Chromosomal in Biopsies and Lymphoid-Cell Lines from Patients with Burkitt and Non-Burkitt Lymphomas. Int. J. Cancer 17, 47-56 (1976).