15. W. Arnold, F. Huth (Düsseldorf): Untersuchungen zur Virusätiologie der Nasopharynxkarzinome

Investigations of Nasopharyngeal Carcinomas with Regard to the Viral Etiology

Summary. Five carcinoma of the nasopharynx (four lymphoepithelial carcinoma of the Regaud type and one squamous cell carcinoma) were examined light and electron microscopically. In addition to the familiar histological and cytological features of these tumors, and because of an increased antibody titer against Epstein-Barr virus in all five patients, all those cytoplasmic and nuclear inclusions were examined which could be interpreted as indicative of a virus contact.

The following structures were found:

1. Particles and microtubules which correspond in diameter, shape and location to Corona viruses.
2. Particles surrounded by a double membrane and resembling in form and diameter Onkorna viruses.
3. Tubulo-reticular, coil-shaped cytoplasmic inclusions interpreted as an unspecific reaction of the host cell to viral attack.
4. Spherical nuclear bodies, which are frequently observed in tumors and during viral infections.
5. Intranuclear particles which correspond in diameter, structure and distribution to viruses of the herpes type such as have been described in cell cultures of Burkitt lymphoma and nasopharyngeal carcinoma.

The fifth group particularly was discussed in detail with regard to differentiation between those particles and other structures which could simulate a virus structure.

Together with the appearance of increased ribosomes and of particular chromatin distribution within the tumor cell nuclei, the particles we discussed have been interpreted as morphological indications of a virus etiology of the examined tumors.

1976 hatten wir die Malignome des Nasopharynx der Jahrgänge 1964–1974 der Universitäts-Hals-Nasen-Ohrenklinik Frankfurt anhand der Krankengeschichten und histologischen Diagnosen gegliedert in lymphoepitheliale Karzinome, sonstige Karzinome, Sarkome, Zylindrome, Hämangioperizytome und Melanome. Dabei zeigte es sich, daß von insgesamt 92 Malignomen der Anteil der histologisch als lymphoepitheliale Karzinome bezeichneten Tumoren 49 betrug. Zählt man die 22 damals nicht als lymphoepitheliale Karzinome vom Typ Schmincke-Regaud histologisch diagnostizierten Karzinome dazu, so beträgt der Anteil der Plattenepithelkarzinome des Epipharynx in der damals untersuchten Zehnjahresspanne 71. Allerdings hatten wir zu diesem Zeitpunkt nicht – wie wir es heute tun – bei allen Patienten mit Karzinomen des Nasenrachenraumes die Epstein-Barr-Virus-assoziierten Antigene im Blutserum bestimmen lassen. Dies wurde in den letzten beiden Jahren an der Hals-Nasen-Ohrenklinik der Universität Düsseldorf jedoch konsequent durchgeführt, und es zeigte sich, daß von den mittlerweile diagnostizierten und behandelten 19 Karzinomen des Nasopharynx alle Patientenserum einen charakteristisch erhöhten Epstein-Barr-Virus-antigengentiter aufwiesen. Von diesen 19 Patienten erbrachte die Probeexzision des

Tumors aus dem Nasopharynx in 16 Fällen die histologische Diagnose „lymphoepitheliales Karzinom vom Typ Schmincke-Regaud“; in 3 Fällen war die Diagnose „undifferenziertes Plattenepithelkarzinom“.

In allen Fällen deckte sich die histologische Beschreibung des Primärtumors im Epipharynx mit dem Bild der regionalen Metastasen. Im Verlauf der Behandlung der oben bezeichneten 19 Patienten zeigte es sich, daß es allein durch die Operation (beidseitige — zweizeitige Neckdissection) zu einem signifikanten Abfall des Epstein-Barr-Virustiters im Serum kam. Dagegen beobachteten wir im Verlaufe der postoperativen Nachbestrahlung bei den meisten Patienten einen deutlichen Wiederanstieg des Epstein-Barr-Virustiters. Diese Beobachtung erlaubt keinerlei Aussage über etwaige Pathomechanismen, die durch die Bestrahlung des vermutlich virusinduzierten Tumors in Gang gebracht werden könnten, sie erfordern zukünftig jedoch eine genaue Analyse der verschiedenen Titerbestimmungen vor und nach Bestrahlung sowie eine entsprechende Kontrolle der EB-Kernantigene des Tumors. Dies ist deshalb erforderlich, da zur Hausen 1967 zeigen konnte, daß eine Bestrahlung einer virusinfizierten Gewebekultur zu einer rapiden Virusvermehrung führte.

Es ist bis heute allerdings nicht sicher erwiesen, ob der Nachweis des Epstein-Barr-Virusantigens oder der Nachweis Epstein-Barr-Virus-assoziiierter Kernantigene beim Nasopharynxkarzinom mit der Ätiologie und Entstehungsweise des Tumors zusammenhängen. Dennoch weist die signifikante Titererhöhung ausschließlich bei diesem Tumor — wie dies in großen Feldstudien in Formosa gezeigt werden konnte — auf irgendeine Beteiligung dieses Virus beim Nasopharynxkarzinom hin.

Bisher war es noch nicht gelungen, in menschlichem Tumorgewebe Epstein-Barr-Viren nachzuweisen. Für uns erhob sich daher die Frage, warum bei diesen Patienten zwar ein hoher Antikörpergehalt gegen die Viruskapside vorhanden war, obgleich bisher noch kein morphologischer Nachweis für die Anwesenheit eines Virus erbracht werden konnte. Wir haben nun bei 6 Tumorpatienten mit signifikant erhöhten Epstein-Barr-Virus-assoziierten Antigenen im Serum, nach eindeutiger Sicherung der histologischen Diagnose „lymphoepitheliales Karzinom, Typ Schmincke-Regaud“ sehr sorgfältig die epithelialen Tumorzellinseln elektronenmikroskopisch untersucht und dabei einige bemerkenswerte Befunde erhoben, die doch für eine unmittelbare Infektion der Tumorzellen mit Viren sprechen.

Nach unseren Befunden spricht folgendes für eine virale Infektion der Tumorzellen.

1. Man beobachtet regelmäßig tubuläre Aggregate entweder frei im Zytoplasma oder von Membranen des endoplasmatischen Retikulums umgeben. Die Einzelpartikel haben einen Durchmesser von 80–160 nm und können sich auch innerhalb der Schläuche des endoplasmatischen Retikulums finden. Nach Struktur und Lokalisation handelt es sich dabei um sogenannte Corona-Viren, einer RNS-Virusgruppe, die beim Kaninchen und beim Menschen akute Infektionen des Bronchialsystems auslösen können. Im Bereich des Epipharynx konnten diese Partikelchen bisher nicht nachgewiesen werden, wir haben sie niemals bei unseren Untersuchungen von Nasenrachenraumfibromen oder normalen Adenoiden gesehen. Dennoch haben diese RNS-Viren nichts mit der Ätiologie des Tumors zu tun.

2. Innerhalb des Zytoplasmas der Tumorzellen, in Lymphozyten, Fibrozyten und Adventitiazellen von kleinen Gefäßen findet man häufig ineinander versponnene tubuläre Komplexe mit einem Einzeldurchmesser von 12–15 nm. Diese Komplexe werden

von zytoplasmatischen Membranen umgeben. Derartige Komplexe sind schon oft mit tubulären oder kristallinstrukturierten Viren verwechselt worden, da sie ausschließlich bei DNS-Virusinfektionen des Zentralnervensystems (Staupe, Herpes simplex-Encephalitis), in Papillomen mit gleichzeitigem Papovavirusnachweis und beim Lupus erythematodes gefunden werden. Heute interpretiert man diese Strukturen als eine unspezifische Reaktion der Wirtszelle auf eine virale Infektion.

3. Den auffälligsten Befund erhoben wir im Bereich des Kernchromatins von Zellen in der späten Telophase. Dort beobachtet man regelmäßig konturierte, gleich große Partikel mit einem konstanten äußeren Durchmesser von 100 nm; sie zeigen eine Doppelmembran und häufig ein zentrales Core. Ähnliche Partikel konnten bis heute in einem einzigen Falle von Nasopharynxkarzinom im Zytoplasma der Tumorzellen gefunden werden (Nadol, 1977). Nach Umriß und Durchmesser erinnern diese Partikel doch sehr an Herpesviren, wie sie von Epstein, Henle oder zur Hausen in Lymphoblastenzellkulturen des Burkitt-Lymphoms gefunden wurden.

Zusammenfassend müssen wir sagen, daß wir nicht alleine vom morphologischen Bild her sagen können, daß es sich dabei um Viren handelt! Wir glauben jedoch, daß es beim Nasopharynxkarzinom zahlreiche Fingerabdrücke einer viralen Infektion gibt. Weitere spezifische immuno-histochemische Untersuchungen mit Fluoreszein – oder Ferritin – markierten Epstein-Barr-Virusantikörpern sind notwendig, um zu beweisen, daß die gezeigten intranukleären virusähnlichen Partikel antigene Eigenschaften gegenüber den Epstein-Barr-Virusantikörpern besitzen.

16. W. Steiner, M. P. Jaumann, W. Gunselmann (a. G.), H.-J. Pesch, H. Lindorf (a. G.), E. Schirner (a. G.), O. P. Hornstein (a. G.) (Erlangen): Simultanes Vorkommen von Präkanzerosen und Karzinomen in Mund, Rachen und Kehlkopf. Vorläufige Ergebnisse einer interdisziplinären Studie*

The Simultaneous Occurrence of Precancerous Conditions and Carcinomas in the Mouth, Pharynx and Larynx. Preliminary Results of an Interdisciplinary Study

Summary. The incidence of two simultaneous carcinomas within the organism is 5%, in the region of the upper airways and alimentary tract, less than 1%. With the aid of systematized clinical endoscopic and cyto-histomorphological screening procedures for carcinomas along the "smoker's pathway", concomitant carcinomas and pre-cancerous states are being detected more and more frequently and at an earlier stage.

Between 1976 and 1978, 210 patients presenting with oral leukoplakia of varying genesis and localization, and both benign and malignant, were subjected to systematic dermatological, dental and ENT examinations. A therapy-relevant finding in the ENT region was found in every third patient. In 41 patients with oral pre-cancerous conditions and carcinomas, similar concomitant findings were seen in the larynx in 15%, localized in the glottis in 90% of the cases. — Etiologically particularly high-risk patients proved to be men over 30, with oral leukoplakia and

* Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft (SFB 118)