

Dezembre 1984

C. R. Soc. Biol., 1985, 179, 271-275.

Radiobiologie.

Activité NK chez la Souris C57BL/Ka au cours du développement des lymphomes radio-induits

par A. NOËL, N. SCHAAF-LAFONTAINE, M. P. DEFRESNE (*)
et J. BONIVER (**)

*Laboratoire d'Anatomie Pathologique
et Laboratoire de Biologie Générale, Université de Liège,
Institut de Pathologie B.23, 4000 Liège.*

(reçue le 17 décembre 1984).

Summary. — Treatment of C57BL/Ka mice with a split dose whole-body irradiation (four weekly irradiations of 1,75 Gy) induces the development of thymic lymphomas. NK activity of spleen cells has been determined at several intervals after leukemogenic treatment. Two days after irradiations, NK activity is normal and decreases strongly after one week. This period of decline persists during about one month. Then, NK activity restores and reaches control values. Lymphomas appear in spite of NK activity restauration. The diminution of NK activity during the preleukemic period could favour preleukemic cells apparition.

Résumé. — Le traitement de souris C57BL/Ka par une irradiation corporelle totale fractionnée (quatre irradiations de 1,75 Gy exercées à une semaine d'intervalle) induit le développement de lymphomes thymiques. L'activité NK des cellules spléniques a été déterminée à différents intervalles après ce traitement leucémogène. Deux jours après les irradiations, l'activité NK est normale et diminue fortement après une semaine. Cette période de déclin persiste pendant environ un mois. L'activité NK se rétablit alors et atteint des valeurs analogues à celles des témoins. Des lymphomes apparaissent malgré une restauration de l'activité NK. La diminution de l'activité NK durant la période préleucémique pourrait favoriser l'apparition de cellules préleucémiques.

Chez la Souris C57BL/Ka, des irradiations fractionnées (quatre irradiations corporelles totales de 1,75 Gy appliquées à une semaine d'intervalle) conduisent au développement de lymphomes thymiques.

(*) Chercheur du Fonds de la Recherche Scientifique Médicale.

(**) Chercheur Qualifié du Fonds National de la Recherche Scientifique.

Les tumeurs atteignent plus de 90 % des animaux à partir du quatrième mois après le traitement (1). La formation de lymphomes semble dépendre de la transformation de lymphoblastes du cortex thymique (cellules cibles) en cellules préleucémiques. Ces dernières requièrent l'environnement thymique pour poursuivre leur évolution en cellules pleinement lymphomateuses (2, 3). Les radiations ionisantes exercent leurs effets sur plusieurs éléments du système lymphocytaire T dont les prothymocytes de la moelle (3, 4, 5), les sous-populations de thymocytes (6, 7) et les complexes lympho-épithéliaux thymiques dénommés « cellules nurses » (8, 9). En outre, les radiations agissent sur le système immunitaire et facilitent ainsi l'évolution des cellules préleucémiques en cellules lymphomateuses.

Plusieurs populations sont impliquées dans la réponse immunitaire antitumorale. Les cellules NK (« natural killer ») suscitent beaucoup d'intérêt. Ces cellules détruisent spontanément certaines cellules normales (10) et des éléments anormaux tels que des cellules infectées par un virus ou des cellules tumorales (pour revue : 11).

Plusieurs travaux suggèrent que la destruction des cellules NK après une irradiation fractionnée explique que les défenses immunitaires ne peuvent empêcher le développement des lymphomes thymiques. En effet, l'activité NK de la rate est fortement diminuée (12). L'activité NK peut toutefois être restaurée par une greffe de moelle provenant d'un animal normal. Dans ce cas, le développement des lymphomes est inhibé (13). Dans ce même modèle expérimental, une diminution de l'incidence des lymphomes peut également être obtenue après injection de cellules NK syngéniques préalablement maintenues en culture (14). Ces données nous ont incité à nous interroger sur les effets éventuels des cellules NK sur les cellules préleucémiques. Toutefois, en préalable à cette recherche, nous avons déterminé dans notre matériel expérimental quels sont les effets de l'irradiation fractionnée sur l'activité NK.

Animaux, matériel et méthodes. — Des souris C57BL/Ka produites dans notre élevage ont été utilisées. Elles proviennent de la colonie du Département de Radiobiologie de l'Université de Stanford (Dr H. S. Kaplan).

Les souris âgées de 1 mois, des deux sexes, subissent quatre irradiations corporelles totales de 1,75 Gy à une semaine d'intervalle. Les irradiations sont exercées dans les conditions suivantes : émission de Rayons X sous 190 kV, 18 mA, à un débit de 190 Rads/min., focalisée à 35 cm (Stabilivolt Siemens, Berlin, R. F. Allemagne).

Cinq souris irradiées et cinq souris témoins sont sacrifiées 9, 14, 30, 45, 61, 75 et 91 jours après la quatrième irradiation. Les souris témoins sont des souris de même âge, non irradiées.

L'activité NK est déterminée par un test de cytotoxicité au chrome selon la méthode mise au point par Brunner et coll. (15). Les cellules cibles employées sont des cellules YAC-1 dans les conditions définies

par Courtoy et coll. (16). Les cellules effectrices (E) sont mises en présence des cellules cibles (C) pendant trois heures trente, dans des rapports E/C de 100, 50, 25 et 12,5.

Le test statistique utilisé est le test de la variance (17, 18).

Résultats. — Le tableau I rapporte les résultats d'une expérience significative. L'activité des cellules NK varie considérablement d'un animal à l'autre. En outre, l'activité moyenne diminue avec l'âge. Deux jours après la fin de l'irradiation fractionnée, l'activité des cellules NK est normale. Ensuite, elle diminue fortement; elle est pratiquement nulle une semaine après les irradiations. L'activité NK augmente alors pour rejoindre des valeurs proches de celles des témoins à partir du 45^e jour : les différences apparentes entre les contrôles et les souris irradiées ne sont plus significatives.

TABLEAU I. — Activité NK des cellules spléniques chez des souris témoins et irradiées (quatre fois 1,75 Gy) après la quatrième irradiation, pour un rapport E/C : 50.

Jours après les irradiations	Témoins	4 × 175 R	
2	8,7	7,43 +/- 1,73	NS
7	9,25 +/- 1,48	0,03 +/- 0,06	S
14	3,1	0,58 +/- 0,46	S
30	1,95 +/- 1,48	0,24 +/- 0,36	NS
45	6,88 +/- 2,25	2,06 +/- 0,9	S
61	3,1 +/- 1,1	2,47 +/- 2,67	NS
75	3,7 +/- 1,6	0,86 +/- 0,84	NS
91	3,26 +/- 0,4	2,12 +/- 0,99	NS

NS : différence non significative;

S : différence significative.

Discussion. — Après une irradiation fractionnée, l'activité des cellules NK diminue fortement; cependant, après environ un mois, elle rejoint des valeurs proches de la normale. Cette cinétique a été observée à plusieurs reprises dans notre matériel expérimental. La perte d'activité des cellules NK n'est donc pas irréversible. Ces résultats sont en contradiction apparente avec les conclusions des observations rapportées par Parkinson et coll. (12). Une analyse minutieuse du travail de ces auteurs montre toutefois que les différences entre les témoins et les souris irradiées tendent à diminuer six semaines après les irradiations et indiquent même une restauration de l'activité NK chez des souris irradiées après 9 et 42 semaines.

Assez curieusement, ces résultats n'ont pas été discutés par ces

auteurs. De leur côté, Datta et coll. (19) ont montré une récupération de l'activité NK, six semaines après 4 irradiations de 225 Rads. Dans ce cas encore, les auteurs n'ont pas analysé ces données dans le détail et se sont seulement attachés à discuter la phase de réduction de l'activité NK.

De notre propre étude et de l'analyse minutieuse des travaux rapportés par d'autres, nous concluons que l'activité NK tend à retrouver des valeurs normales, cinq à six semaines après une irradiation fractionnée. Le développement de lymphomes ne requiert donc pas de diminution irréversible de l'activité NK. Il n'en reste pas moins que la réduction de cette fonction immunitaire au début de la période préleucémique pourrait favoriser l'apparition de cellules préleucémiques (*).

BIBLIOGRAPHIE

1. Kaplan H. S. & Brown M. B., *In « The leukemias: etiology, pathophysiology and treatment »*, J. W. Rebeck, F. H. Bethell and R. W. Monto Edts., Academic Press, New York, London, 1957, pp. 163-176.
2. Haran Ghera N., *J. Nat. Cancer Inst.*, 1978, 60, 707-710.
3. Boniver J., Declève A., Lieberman M., Honsik C., Travis M. & Kaplan H. S., *Cancer Res.*, 1981, 41, 390-391.
6. Pazmino N. H. McEwans R. & Ihle J. N., *J. Exp. Med.*, 1978, 148, 1338-1350.
5. Van Bekkum D. W., Boersma W. J. A., Eliason J. F. & Knaan S., *Leukemia Res.*, 1984, 8, 461-471.
6. Chazan R. & Haran Ghera N., *Cell. Immunol.*, 1976, 23, 356-375.
7. Rongy A. M., Greimers R., Defresne M. P. & Boniver J., *C. R. Soc. Biol.*, 1985, 179, 265-270.
8. Houben-Defresne M. P., Lenaerts P., Greimers R. & Boniver J., *C. R. Soc. Biol.*, 1984, 178, 195-202.
9. Houben-Defresne M. P., Greimers R., Lenaerts P. & Boniver J., *J. Natl. Cancer Inst.*, soumis pour publication.
10. Hansson M., Karre K., Kiessling R., Roder J., Anderson B. & Hayry P., *J. Immunol.*, 1979, 123, 765-771.
11. Roder J. C., Karre K. & Kiessling R., *Progress in Allergy*, 1981, 28, 66-159.
12. Parkinson D. R., Brightman A. P. & Waksal S. D., *J. Immunol.*, 1981, 126, 1460-1464.
13. Kaplan H. S., Brown M. B. & Paull J., *J. Nat. Cancer Inst.*, 1953, 14, 303-316.
14. Warner J. F. & Dennert G., *Nature*, 1982, 300, 31-34.
15. Brunner K. T., Engers H. D. & Cerottini J. C., *In: « In vitro methods in cell mediated and tumor immunity »*, R. B. Bloom and J. R. David Edts, Academic Press, New York, 1977, p. 243.
16. Courtoy R., Schaaf-Lafontaine N., Degiovanni G. & Boniver J., *Scand. J. Immunol.*, 1983, 18, 101-111.

(*) Les auteurs remercient le Dr H. S. Kaplan qui leur a donné les souris C57BL/Ka. Ce travail est soutenu par le Fonds de la Recherche Scientifique Médicale et le Centre Anticancéreux près l'Université de Liège.

17. Dagnelie J., *Théorie et méthodes statistiques*. Presses Agronomiques de Gembloux, 1975.
 18. Snedecor G. W. & Cochran W. G., *Méthodes statistiques*. Association de Coordination Technique et Agricole, Paris, 1957.
 19. Datta S. K., Priest E. L. & Trentin J. J., *In*: « NK cells and other natural effector cells », R. B. Herberman Ed., Academic Press, New York, London, 1982, pp. 873-877.
-