

Réaction immunoallergique provoquée chez le rat par l'injection d'extraits chauffés de la tumeur de Walker¹

Nous avons antérieurement observé² que l'antigène spécifique^{3,4} de la tumeur de Walker est thermorésistant; un chauffage de 100°C durant 24 h n'affectant nullement son antigénécité et une température de 120°C sous 30 livres de pression durant 1 h étant requise pour le détruire.

Au cours de ces travaux sur la thermorésistance de l'antigène tumoral, nous avons constaté que le traitement thermique réduit considérablement l'évantai antigénique, par destruction des antigènes thermolabiles.

Etant donné, d'une part, l'hétérogénéité de la tumeur de Walker et, d'autre part, l'incompatibilité résultant des différences génétiques individuelles des rats Sprague Dawley, utilisés dans nos travaux, nous avons pensé reprendre nos recherches antérieures sur la production d'anticorps isologues antitumeurs⁵ en utilisant, d'une part, des rats de lignée purifiée, les Fisher₃₄₄ inbred, et nous servant, d'autre part, comme solution isoantigénique, d'extraits chauffés de la tumeur de Walker; ces extraits ne contenant plus que deux principes antigéniques actifs: un antigène d'espèce et l'antigène tumoral spécifique². Nous avons émis l'hypothèse que ces extraits chauffés de la tumeur de Walker devraient permettre, chez le rat Fisher, la fabrication d'anticorps antitumeur hautement spécifiques et de caractère vraiment isologue.

Matériel et Méthodes. Nous nous sommes servi de 40 rats Fisher₃₄₄ inbred provenant de l'élevage Charles River, Brooklyne, Mass., U.S.A. Ces rats mâles, pesant au départ 200 g, nourris au purina fox chow et gardés dans une chambre à température et humidité relative contrôlées, ont été divisés en 4 groupes expérimentaux, tel que décrit au Tableau I.

Ces animaux ont reçu 4 injections, à raison de une par semaine, de 1 cm³ d'une solution à concentration d'azote contrôlée et équilibrée, des extraits solubles de rat total et de la tumeur de Walker chauffée soit à 100°C durant 4 h soit à 120°C sous 30 livres de pression durant le même temps. Les extraits salins tumoraux ou de rat total sont préparés selon la méthode de KESSEL⁶, consistant en un broyage au virtis à 24, R.P.M. durant 2 m suivi d'une centrifugation réfrigérée à 60 000 g durant 1 h. Ces extraits sont soumis au chauffage, leur concentration d'azote est déterminée au microkjeldhal et sont ensuite adsorbés sur l'hydroxide d'aluminium suivant la méthode de HEKTOEN et WELKER⁷. L'expérience dure 1 mois au cours duquel, au 15e et au 30e jour, nous faisons la détection des anticorps sériques antitumeur par la méthode de précipitation en gélose⁸ et par immunoélectrophorèse⁹.

Au 30e jour, tous les animaux sont sacrifiés et les organes suivants sont prélevés soit pour la détermination du poids frais soit pour la détection de l'antigène tumoral: le foie, la rate, le thymus et les surrénales; nous prélevons de plus le sérum pour l'étude de l'influence des extraits

¹ Travail subventionné par l'Institut du Cancer du Canada.

² D. DUFOUR et P. LINDSAY, *Rev. franç. Et. Clin. Biol.*, sous presse (1962).

³ D. DUFOUR et D. B. LINH, *Rev. Immunol.* 25, 64 (1961).

⁴ D. DUFOUR, D. B. LINH, M. DEMERS et P. LINDSAY, *Rev. franç. Et. Clin. Biol.* 5, 467 (1961).

⁵ D. B. LINH et D. DUFOUR, *Bull. Ass. franç. Et. Cancer* 47, 427 (1960).

⁶ M. KESSEL, *Clin. chim. Acta* 4, 142 (1959).

⁷ L. HEKTOEN et W. H. WELKER, *J. Infect. Dis.* 53, 309 (1933).

⁸ B. OUCHTERLONY, *Bull. Soc. Chim. biol.* 33, 756 (1951).

⁹ P. GRABAR et C. A. WILLIAMS, *Biochem. biophys. Acta* 17, 67 (1955).

Tab. I. Influence d'extraits chauffés de la tumeur de Walker sur la croissance corporelle sur le poids du foie et de la rate et sur le degré de réponse de l'axe thymico-surrénalien

| Groupe expérimental | Gain de poids g | Poids du foie /100 g de poids | Poids de la rate /100 g de poids | Poids du thymus /100 g de poids | Poids des surrénales /100 g de poids |
|---|--------------------|----------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|---|
| Témoins absolus (10 rats) | 100 ± 4,50 | 4,2 ± 0,10 | 0,260 ± 0,03 | 240 ± 10,0 | 20,5 ± 2,4 |
| Extrait chauffé à 100°C/4 h de rat total + Al(OH) ₃ (10 rats) | 78,0 ± 6,65 | 3,8 ± 0,29 | 0,224 ± 0,02 | 181 ± 19,4 | 25 ± 3,8 |
| Extrait tumoral chauffé à 100°C/4 h + Al(OH) ₃ (10 rats) | 21,7 ± 2,65 | 5,4 ± 0,06 | 0,927 ± 0,04 | 57 ± 4,8 | 46,8 ± 2,40 |
| Extrait tumoral chauffé à 120°C/4 h + 30 livres de pression + Al(OH) ₃ (10 rats) | 36,4 ± 2,86 | 4,1 ± 0,09 | 0,348 ± 0,015 | 143 ± 16,4 | 30,3 ± 2,69 |

Tab. II. Influence des extraits tumoraux sur la distribution électrophorétique des protéines sériques

| Groupe expérimental | Albumine | α 1 et 2 | β | γ |
|---|----------|----------|------|------|
| | | % | % | % |
| Témoins absolus (10 rats) | 46,0 | 27,0 | 18,0 | 8,0 |
| Extrait chauffé à 100°C/4 h de rat total + Al(OH) ₃ (10 rats) | 41,3 | 28,7 | 21,6 | 8,2 |
| Extrait tumoral chauffé à 100°C/4 h + Al(OH) ₃ (10 rats) | 13,4 | 46,6 | 27,6 | 12,3 |
| Extrait tumoral chauffé à 120°C/4 h + 30 livres de pression + Al(OH) ₃ (10 rats) | 18,0 | 45,2 | 23,6 | 12,7 |



Fig. 1. Immunoélectrophorèse comparée développée entre l'extrait tumoral chauffé à 100°C durant 4 h, l'extrait tumoral chauffé à 120°C et sous 30 livres de pression durant 4 h et l'immunsérum de lapin antitumeur de Walker. A noter la survie de l'antigène tumoral à un chauffage de 100°C durant 4 h (A); une température de 120°C sous 30 livres de pression étant requise pour le détruire (B).

tumoraux, soit sur la vitesse de migration de l'albumine, soit sur la distribution proportionnelle des protéines sériques¹⁰.

Résultats. La Figure 1 illustre que l'antigène tumoral est présent ou absent dans l'extrait tumoral selon l'intensité du chauffage: survivant à une température de 100°C et étant détruit à 120°C plus 30 livres de pression.

Nous insistons, dans la présentation de ces résultats, sur la présence ou l'absence de l'antigène, attribuant l'ensemble des phénomènes spécifiques observés à la présence de l'antigène et les manifestations non spécifiques à des facteurs tumoraux non antigéniques.

Nous avons noté que les extraits tumoraux contenant ou non l'antigène, produisent invariablement un état de catabolisme, une involution du thymus, une hypertrophie des surrénales (Tableau I), et une perturbation de la distribution proportionnelle des protéines sériques (Tableau II).

Seul l'extrait tumoral contenant l'antigène spécifique est cependant capable de provoquer les réactions spécifiques suivantes: une hypertrophie significative du foie et de la rate (syndrome foie-rate de la tumeur de Walker),

une augmentation de la vitesse de migration électrophorétique de l'albumine (Figure 2), un envahissement du foie par l'antigène cancéreux (Figure 3) et l'apparition, après la 3e injection de l'extrait tumoral, d'un état d'hyper-sensibilité périphérique au site d'injection et caractérisée par un violent gonflement conduisant jusqu'à la formation d'arthrite de type immunoallergique^{11,12} (Figure 4).

En ce qui concerne la fabrication d'anticorps, il nous a été impossible d'en déceler la moindre trace tout au cours de cette expérience.

Discussion. Ces résultats comportent un intérêt particulier qui réside surtout dans le fait que le chauffage semble modifier l'antigénicité de l'extrait tumoral. En effet, contrairement à ce que nous obtenons invariablement avec l'extrait soluble frais de la tumeur de Walker⁵,

¹⁰ L. BERLINGUET, D. DUEFOUR et C. GAGNÉ, *Ann. ACFAS*, 15, 21 (1957).

¹¹ B. H. WAKMAN et M. H. FLOX, *Fed. Proc.* 20, 258 (1961).

¹² P. BRANCATO, C. C. TEODORU et G. W. VOLK, *Fed. Proc.* 20, 262 (1961).

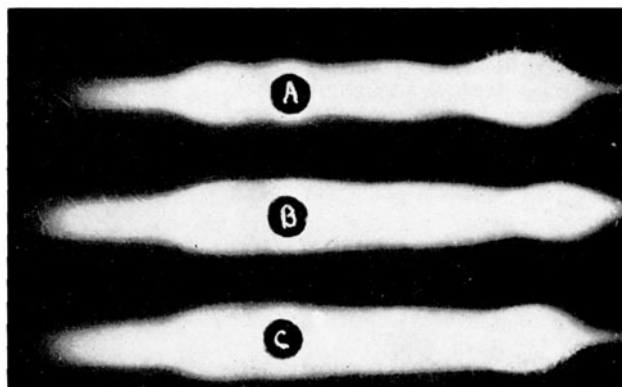


Fig. 2. Electrophorèse sur gélose du sérum de rat normal (A), de rat traité à l'extrait chauffé à 100°C (B) et de rat recevant l'extrait chauffé à 120°C sous 30 livres de pression (C).

A noter que l'extrait tumoral contenant l'antigène thermorésistant (B) provoque l'accélération du pouvoir migratoire de l'albumine sérique.

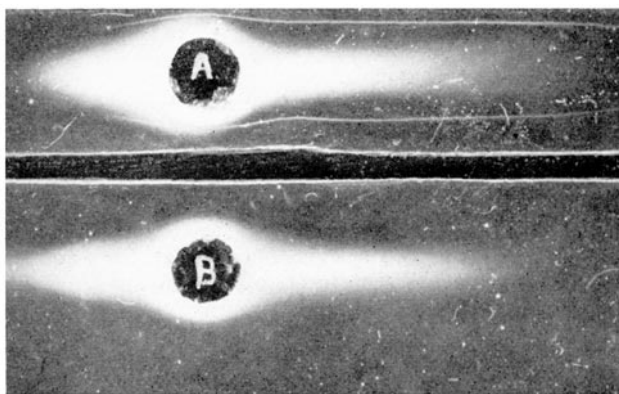


Fig. 3. Détection de l'antigène tumoral retrouvé dans le foie des rats qui ont reçu des injections de l'extrait tumoral chauffé à 100°C durant 4 h (A).

A noter que le foie des rats qui ont reçu l'extrait chauffé à 120°C et sous 30 livres de pression ne contient pas cet antigène qui a été détruit par ce chauffage (B).



Fig. 4. Arthrite immunoallergique produite chez le rat par l'injection d'extrait tumoral chauffé. (A) Rat ayant reçu 4 injections d'extrait tumoral chauffé à 120°C sous 30 livres de pression durant 4 h et adsorbé sur l'hydroxide d'aluminium. (B) Rat ayant reçu 4 injections d'extrait tumoral chauffé à 100°C durant 4 h et adsorbé sur l'hydroxide d'aluminium.

c'est-à-dire une production rapide et importante d'anticorps isologues, facilement détectables par la méthode de précipitation en gélose, l'extrait tumoral chauffé ne provoque pas la formation d'anticorps précipitants mais induit cependant une réaction immunologique spécifique de type immunoallergique.

Une autre observation d'importance nous semble être la capacité de l'extrait tumoral chauffé à 100°C et contenant encore l'antigène, de reproduire fidèlement le syndrome foie-rate, l'accélération du pouvoir migratoire électrophorétique de l'albumine du sérum^{13,14} et l'envahissement du foie par l'antigène tumoral spécifique¹⁵, phénomènes observés chez le rat porteur de la tumeur de Walker.

Nous voulons bien, d'autre part, attribuer l'ensemble des phénomènes non-spécifiques qui apparaissent à la suite de ces injections d'extraits tumoraux contenant ou non l'antigène spécifique aux toxines cancéreuses de NAKAHARA et FUKUOKA¹⁶. C'est ainsi que nous pensons que le catabolisme corporel, l'atrophie du thymus et l'hypertrophie des surrénales peuvent être dûs à la toxohormone de ces auteurs.

En ce qui concerne les changements sériques, il nous semble intéressant d'appuyer sur la dissociation entre les changements dans la distribution proportionnelle des protéines sériques qui sont indépendants de la présence de l'antigène tumoral dans l'extrait injecté et le changement du pouvoir migratoire de l'albumine qui n'est apparent que chez le rat recevant l'extrait qui contient encore l'antigène.

Des travaux antérieurs^{17,18} ont d'ailleurs déjà démontré que les changements de concentration relative des différentes protéines du sérum ne sont pas exclusives au cancer ;

on les rencontre dans d'autres affections, notamment dans l'arthrite¹⁹.

Summary. When repeatedly injected to Fisher Inbred rats, boiled Walker tumour extracts induced non specific and specific reactions; non specific reactions being catabolism, thymus involution, adrenal hypertrophy and perturbation of serum proteins relative distribution. The specific reactions attributable to the presence of the specific tumoral antigen in the tumour extracts are immunoallergic arthritis, liver and spleen hypertrophy, acceleration of serum albumin electrophoretic migratory rate and the apparition of the specific antigen in the liver.

D. DUFOUR

Département de Biochimie, Faculté de Médecine, Université Laval, Québec (Canada), le 22 janvier 1962.

¹³ D. DUFOUR, L. BERLINGUET et J. M. LOISELLE, *Canad. J. Biochem. Physiol.* 37, 1401 (1959).

¹⁴ D. DUFOUR et D. B. LINH, *Bull. Ass. franç. Et. Cancer* 48, 125 (1961).

¹⁵ D. DUFOUR et D. B. LINH, *Bull. Ass. franç. Et. Cancer* 48, 3 (1961).

¹⁶ W. NAKAHARA et F. FUKUOKA in *Advances in Cancer Research* Academic Press, New York 1958), p. 157.

¹⁷ L. BONOMO *Reumatismo, Ital.* 9, 283 (1957).

¹⁸ M. R. SHETLAR, C. CAHILL, G. STIDWORTHY et C. L. SHETLAR, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 93, 44 (1956).

¹⁹ Nous remercions Mme C.-G. PARÉ et M. J. PROULX pour leur collaboration.

Transaminase and Transferase Activities in the Pancreatic Islet Tissue of the Teleost *Cottus quadricornis* L.

The rate of amino acid turnover into proteins is high in pancreatic tissue¹. In making use of the fact that the islet tissue is concentrated into two macroscopically distinct bodies in the *Cottus* teleosts^{2,3} it was possible to perform separate analyses of the *in vitro* formation of amino acids from glucose in the exocrine and endocrine parts of the organ⁴. Since the conversion of glucose into amino acids was particularly intensive in the islet tissue it was suggested that this would be an important metabolic feature of the islet cells in providing some of the amino acids necessary for hormone synthesis. The general importance of the transamination mechanism in the amino acid metabolism and the observation that glucose contributed in formation of comparatively high amounts of glutamic acid and glutamine prompted us to extend the analyses of the intermediary protein metabolism in the pancreatic islet tissue of *Cottus quadricornis* L. to the activities of glutamic-oxaloacetic transaminase (GOT) and glutamic-pyruvic transaminase (GPT). In addition the level of ornithine carbamyl transferase (OCT) was determined in the endocrine and exocrine parts of the pancreas and for comparative reasons also in the liver.

Methods. Adult bull's heads (*Cottus quadricornis* L.) of both sexes were kept for about 24 h in tanks with running fresh water. The animals were killed by decapitation and the tissue to be studied dissected out as rapidly as possible. The following samples were taken for analysis: the principal islets of the pancreas dissected free from capsular

tissue, the exocrine pancreatic tissue and liver slices. Because of the low weight of the endocrine pancreatic samples, tissues from 3 or 4 animals were pooled to give a total weight of about 30 mg. The samples were weighed and transferred to 1 ml ice cold 0.1 M phosphate buffer. After homogenisation the suspension was centrifuged and the supernatant removed and retained. The residue was resuspended in 1 ml phosphate buffer, centrifuged and this supernatant was added to the first. GOT and GPT were then determined as described by REITMAN and FRANKEL⁵. OCT was determined using the method of REICHARD⁶. In the latter case, however, the supernatant had to be diluted 5 times.

Results. The enzyme activities obtained in the three different tissue homogenates are presented in the Table as units per 100 mg wet weight. The value for GOT, similar in both the endocrine and exocrine parts of the pancreas (206), was less than half that obtained in liver (467). The level of GPT was highest in the islet tissue, 100 ± 4 , and lowest in the acinar part, 61 ± 4 ($t = 6.80$; $P < 0.001$). In comparing the GPT activities in the islet tissue and the liver the differences were probably significant ($t = 2.65$; $P < 0.05$). For OCT no difference was recorded between the endocrine, 132 ± 5 , and exocrine, 133 ± 5 , parts of

¹ E. HANSSON, *Acta physiol. scand.* 46, Suppl. 161 (1959).

² S. FALKMER, *Acta endocr. (Kbh.)* 37, Suppl. 59 (1961).

³ S. FALKMER and B. HELLMAN, *Acta morph. neerl. scand.* 4, 145 (1961).

⁴ B. HELLMAN and S. LARSSON, *Acta endocr. (Kbh.)* 38, 303 (1961).

⁵ S. REITMAN and S. FRANKEL, *Amer. J. clin. Path.* 28, 56 (1957).

⁶ H. REICHARD, *Scand. J. clin. lab. Invest.* 9, 311 (1957).