

Influence du sexe, de la carcinogénèse et de la vie en milieu exempt de germe sur la concentration tissulaire en une β -glycoprotéine¹

Des travaux antérieurs nous ont permis de relier la présence d'une β -glycoprotéine² dans des tissus normaux du rat, à la présence simultanée, à ce niveau, de cellules reliées au système réticulo-endothélial³.

Nous avons également observé que différents processus physio-pathologiques déclenchant l'envahissement du tissu inflammatoire par des cellules de ce type, entraînaient l'acquisition d'une réactivité antigénique du tissu affecté vis-à-vis l'immunsérum anti- β -glycoprotéine⁴.

Basés sur ces données, nous avons utilisé la nouvelle méthodologie immunochimique quantitative⁵, afin (1) d'évaluer la distribution tissulaire naturelle de cette glycoprotéine (2) d'apprécier l'importance quantitative de la participation de cette protéine à la carcinogénèse expérimentale et (3) d'apprécier l'influence, soit du sexe, soit de l'axénisme sur la concentration tissulaire en cette protéine. On sait, en effet, que cette glycoprotéine participe qualitativement au développement de différentes tumeurs⁶. On connaît, d'autre part, la différence maintenant classique de résistance entre le mâle et la femelle vis-à-vis l'agression⁷. En fin, il a été montré que chez le rat exempt de germe, la population cellulaire du système réticulo-endothélial est nettement inférieure à la population de ces cellules chez le rat conventionnel de même race⁸.

Matériel et méthode. Des rats de race Wistar ont été utilisés, soit pour la greffe tumorale de Walker (50 rats adultes mâles), soit pour l'étude des rats conventionnels (25 mâles et 25 femelles), soit les rats exempts de germe (15 rats mâles laboratoire Charles River Breeding) ou pour la carcinogénèse chimique au 2-acétylamino-fluorène (2-AAF) donné dans l'alimentation standard (300 mg de 2-AAF/kg de régime) à 50 femelles adultes⁹. Dans ce dernier cas, la phase préliminaire correspond au 3e mois depuis l'instauration du régime cancérigène, la phase initiale correspond au moment où les tumeurs sont cliniquement détectables dans la région antérieure de l'animal et la phase terminale correspond au moment où la tumeur est complètement développée, soit entre le 8e et le 9e mois.

Les déterminations quantitatives de la concentration de cette glycoprotéine dans les organes de ces différents animaux, dans ces différentes conditions, ont été faites à l'aide de solutions antigéniques préparées selon un mode déjà décrit ailleurs¹⁰ et comportant rigoureusement 5 mg de protéines solubles dans 0,1 ml de solution saline tamponnée.

La méthode immunochimique quantitative décrite par FAHEY⁵ a été utilisée. Dans un gel d'agarose à 1,5% dissous dans un tampon phosphate 0,13M, pH 8,0, nous avons incorporé un anticorps de chèvre anti- β -glycoprotéine pure No. 118, à la concentration de 3,0%². Nous avons d'abord établi une courbe standard à l'aide, comme antigène, de concentrations progressives de glycoprotéine pure isolée à partir d'une tumeur induite chimiquement au 2-acétylamino-fluorène².

Cette courbe de référence tracée, en fonction du diamètre de la zone de précipitation obtenue, a alors été utilisée pour la détermination comparée du taux de cette protéine dans les tissus des animaux des différents groupes expérimentaux. Les Figures 1 et 2 illustrent les valeurs que cette méthode d'analyse nous a permis d'obtenir.

Résultats. Comme l'illustre la Figure 1, la concentration tissulaire de cette protéine est profondément modifiée chez le rat exempt de germe. En effet, il nous est impossible à l'aide de ces conditions d'analyse, de déceler cette

glycoprotéine dans la rate et le poumon. Nous ne la retrouvons, chez ces animaux, que dans la moëlle et ce, à une concentration 3 fois inférieure à la normale. Le sexe exerce également une influence importante sur la distribution tissulaire de cette protéine. Elle est en effet en beaucoup moindre quantité dans la rate et le poumon mais, en ce qui concerne la moëlle, la concentration entre les 2 sexes est beaucoup plus comparable.

La comparaison de l'influence de la tumeur chimique induite au 2-AAF et de la greffe de la tumeur de Walker sur la concentration tissulaire de cette protéine montre aussi que, selon la nature des tumeurs les variations observées sont différentes tant au point de vue du taux maximum atteint qu'au point de vue du temps nécessaire pour obtenir ces valeurs.

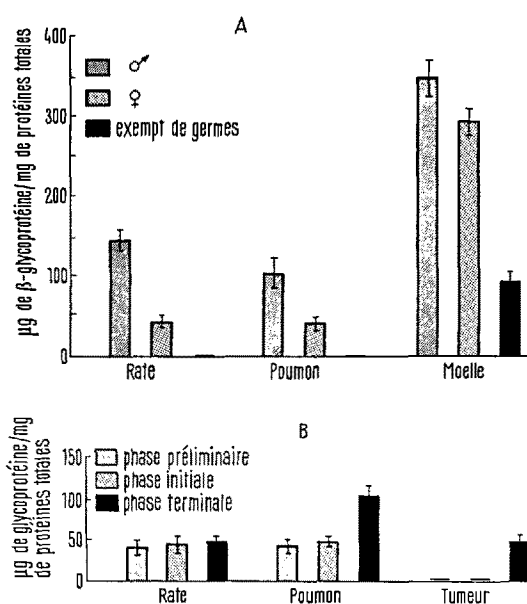


Fig. 1. Mesure quantitative, par diffusion radiale en gel d'agarose, mettant en évidence les différences de concentration tissulaire en β -glycoprotéine entre le rat mâle et le rat femelle et entre le rat conventionnel et exempt de germes (A). Nous montrons, en outre, l'influence de la carcinogénèse au 2-AAF sur la concentration de cette protéine dans la rate et le poumon (B).

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

² D. DUFOUR, A. BRASSARD, A. TREMBLAY et S. LEMIEUX, *Path. Biol.*, Paris 15, 757 (1967).

³ D. DUFOUR, A. TREMBLAY, J. P. POIRIER et A. BRASSARD, *Revue Immunol. Théor. antimicrob.* 31, 37 (1967).

⁴ S. LEMIEUX, A. TREMBLAY, S. TASKAR, A. BRASSARD et D. DUFOUR, *Path. Biol.* Paris 16, 41 (1968).

⁵ J. L. FAHEY et E. M. MCKELVEY, *J. Immun.* 94, 84 (1965).

⁶ D. DUFOUR, in *Protides of the Biological Fluids* (Ed. H. PEETERS, Proc. 11th Colloq. Bruges 1963; Elsevier, New York, Amsterdam 1964), p. 127.

⁷ J. HARDY, in *Pathology of Laboratory Rats and Mice* (Ed. COTCHIN et ROE; Blackwell Scientific Publications, Oxford and Edinburgh 1967), p. 501.

⁸ A. H. GORDON, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 78, 208 (1959).

⁹ C. HEIDELBERGER, in *Advances in Cancer Research* (Academic Press, New York 1953), p. 291.

¹⁰ D. B. LINH et D. DUFOUR, *Laval méd.* 34, 372 (1963).

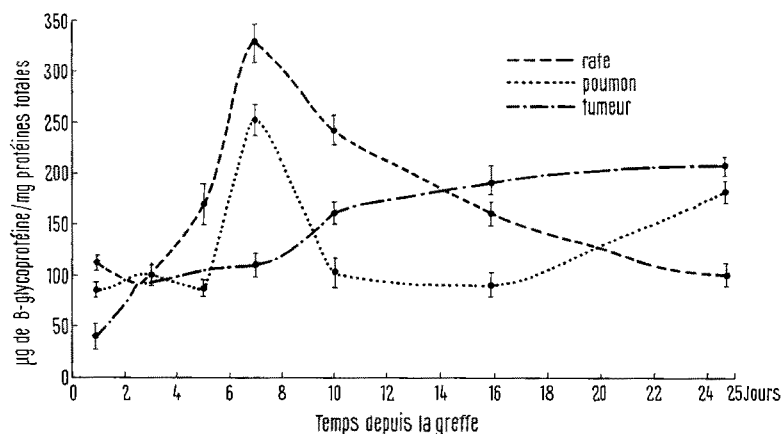


Fig. 2. Participation quantitative de la β -glycoprotéine de la rate, du poumon et de la tumeur au développement de la tumeur de Walker.

Dans le cas de la tumeur au 2-AAF, par exemple, comme l'illustre la Figure 1B, la concentration en β -glycoprotéine n'est augmentée que dans le poumon et seulement à la phase terminale du développement de cette tumeur.

Dans la greffe de la tumeur Walker, par ailleurs, il semble y avoir un cycle de fluctuation de la concentration de cette protéine dans la rate et le poumon, caractérisé par un maximum d'augmentation de concentration dans ces organes au 7^e jour, alors que, dans la tumeur même, l'augmentation relative de cette protéine est progressive tout au cours du développement de cette greffe (Figure 2).

Discussion. Il semble donc y avoir une corrélation entre la concentration tissulaire en cette protéine et le degré d'activité du système réticulo-endothélial. Par exemple, on ne retrouve cette protéine qu'en trace et dans la moëlle seulement, chez le rat exempt de germe; on sait que chez ces animaux, la population cellulaire du système réticulo-endothélial est beaucoup moins importante.

Il serait aussi intéressant, étant donné le rôle de participation de cette protéine au mécanisme de défense², d'établir un lien entre la différence de concentration tissulaire entre le mâle et la femelle et la différence de résistance entre les 2 sexes, vis-à-vis l'agression⁷.

La participation quantitative de cette protéine à la carcinogénèse semble varier suivant la nature de la tumeur induite; cette variation signifie peut-être qu'il existe un rapport direct entre le degré d'agression produit par chaque type de tumeur et l'importance de la réponse du système réticulo-endothélial. Si cette hypothèse s'avérait exacte, il serait alors possible de mesurer à travers cette protéine l'intensité de perturbation métabolique d'un animal par des agents physiques et chimiques variés.

Summary. We show by quantitative radial diffusion in agarose that a β -glycoprotein of tumoral origin present in the lungs, spleen, bone marrow and tumors is present in variable concentrations according to the sex, environment and cycle of experimental tumor development.

D. DUFOUR,
A. TREMBLAY et S. LEMIEUX

Centre de Biomédecine et Département de Biochimie,
Faculté de Médecine, Université Laval,
Québec 10^e (Canada), 26 juin 1968.

Thymus and Adoptive Transfer of Antibody Formation

Adoptive transfer¹ of antibody production in poultry has been achieved by spleen cells from immune donors²⁻⁴. The present experiment was principally designed to test the capacity of the thymus and bursa of Fabricius to transfer antibody formation in chicken embryos and young chickens.

Adult female New Hampshire chickens hyperimmunized by i.v. injections of human O erythrocytes were used as donors. On the day of sacrifice they showed 10-12 titers (\log_2) of anti-O agglutinins. The thymus, bursa, spleen and muscle were removed aseptically, cut into pieces varying in size from 2×3 to 2×4 mm, and washed in a kanamycin solution (100 mg/100 ml of Hanks solution). 1 piece of tissue was then placed on the chorio-allantoic membrane⁵ of 12-day-old New Hampshire embryos. An additional group of embryos was grafted with 'dead thymus' from immunized chickens; the thymus cells were killed by repeated freezings and thawings of the

tissue. A number of grafted embryos were sacrificed on the sixteenth, eighteenth and twentieth day of incubation. Young chickens hatched from grafted eggs were bled by cardiac puncture on the first, seventh and fourteenth day. Chickens reared from sham-grafted eggs, and chickens grafted in ovo with the thymus, bursa, spleen, muscle and 'dead thymus' from adult non-immunized chickens served as controls. Birds of all groups (Table) were sacrificed when 15 days old or earlier, and the thymus, bursa,

¹ R. E. BILLINGHAM, L. BRENT and P. B. MEDAWAR, Proc. R. Soc., Ser. B., 143, 58 (1954).

² T. N. MITCHISON, Folia Biol. Praha 3, 72 (1957).

³ Z. TRNKA, Nature 187, 55 (1958).

⁴ L. R. SIBAL and V. H. OLSON, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 97, 575 (1958).

⁵ D. L. BALLANTYNE, Transplant Bull. 6, 110 (1959).