

## Sur les durées respectives du pouvoir attractif de l'épithélium germinatif et de la réactivité des cellules germinales à ce pouvoir, chez l'embryon de Poulet

Les travaux expérimentaux de Simon<sup>1</sup> chez l'embryon de Poulet ont ruiné en grande partie la thèse de la «filtration vasculaire» des gonocytes, émise par DANTCHAKOFF<sup>2,3</sup> pour expliquer la colonisation des ébauches gonadiques, et ont corroboré l'hypothèse du stimulus attractif exercé par l'épithélium germinatif sur les cellules germinales<sup>4</sup>. Les expériences d'associations tissulaires en culture *in vitro* réalisées par DUBOIS<sup>5</sup> et les études biochimiques de CUMINGE et DUBOIS<sup>6,7</sup> ont permis de confirmer l'existence de ce stimulus et d'en préciser le caractère électif ainsi que la nature chimique probable (substances protéiques rejetées par un processus de type mérocrine). Il apparaît cependant que ce chimiotactisme positif, s'il s'adresse à un type particulier et unique de cellules (les gonocytes), n'a point de spécificité zoologique puisqu'un épithélium germinatif de Poulet est capable d'attirer et de fixer des cellules germinales de Canard<sup>1</sup> ou même de Souris<sup>11</sup> et de Dindon<sup>8-10</sup>. Quelques études récentes permettent en outre d'éclairer un autre aspect intéressant du phénomène, à savoir la durée du pouvoir attractif de l'épithélium germinatif vis-à-vis des gonocytes et celle de la réactivité des gonocytes à ce stimulus.

1. *Durée du pouvoir attractif de l'épithélium germinatif.* Les dénombrements cellulaires effectués par Meyer<sup>12</sup> montrent qu'entre 50 et 55 h d'incubation (stades à 24-27 somites), 50% des cellules germinales se trouvent déjà rassemblées dans la future région gonadique, au niveau de l'angle coelomique. On doit donc admettre que l'épithélium germinatif qui est alors en train de s'individualiser à la face externe de la future crête génitale possède déjà son pouvoir attractif vis-à-vis des cellules germinales primordiales (CGP). Si l'on s'en réfère à Dubois<sup>5</sup> qui suppose l'existence d'une attraction à grande distance par l'intermédiaire du sang, c'est aussitôt après leur entrée dans le réseau vasculaire (environ 35 h d'incubation) que les CGP deviennent spécialement sensibles à l'attraction des épithéliums germinatifs. En fait, à ce moment-là, l'épithélium germinatif n'est pas encore individualisé morphologiquement (il se différencie vers la 55ème h seulement, au stade à 30 somites) mais on peut supposer que les cellules qui vont participer à son édification ont déjà commencé à exercer leur fonction sécrétive responsable de l'attraction des gonocytes. A notre connaissance, bien que l'on ait pu repérer à leur surface du blastoderme de 20 h le territoire gonadique présomptif - territoire surrénalo-gonadique ou aire adrénogonado-formative de WILLIER et RAWLES<sup>13</sup>, distinct du croissant germinal - aucune expérience portant sur ses éventuelles

propriétés attractives vis-à-vis des CGP n'a été tentée à ce jour. Nous considérerons donc le stade à 10 somites (vers 35 h d'incubation) comme le plus jeune chez lequel on puisse envisager l'intervention du pouvoir attractif de l'épithélium germinatif présomptif: c'est à ce stade seulement que débute, en effet, la migration des gonocytes vers les ébauches gonadiques.

D'après tous les auteurs récents, la colonisation des ébauches gonadiques par les gonocytes primordiaux s'achève entre le 3ème et le 4ème jour d'incubation chez le Poulet. On pourrait supposer que le pouvoir attractif de l'épithélium germinatif cesse dès cette époque; toutefois, deux résultats expérimentaux conduisent à modifier ce point de vue.

a) En associant *in vitro* des gonades embryonnaires indifférenciées provenant d'embryons normaux de 5 à 6 $\frac{1}{2}$  jours d'incubation à des régions gonadiques plus jeunes (2 $\frac{1}{2}$  jours) et stériles, DUBOIS<sup>6</sup> a observé la migration des gonocytes primaires contenus dans la gonade la plus âgée vers l'épithélium germinatif plus jeune de l'ébauche gonadique stérile. Pour l'auteur, «le fait que le jeune épithélium attractif provoque l'exode des gonocytes primaires hors d'une gonade de 5 jours d'incubation... constitue une preuve, à contrario, de la décroissance, sinon de la disparition, du pouvoir attractif avant le 5ème jour d'incubation». Il ressort en outre de travaux antérieurs du même auteur<sup>14</sup> que le pouvoir attractif serait perdu, ou du moins

<sup>1</sup> D. SIMON, Archs Anat. microsc. Morph. exp. 49, 93 (1960).

<sup>2</sup> V. DANTCHAKOFF, Actual. scient. ind. 119, 1 (1934).

<sup>3</sup> V. DANTCHAKOFF, Archs Anat. microsc. Morph. exp. 39, 185 (1950).

<sup>4</sup> J. FIRKET, Archs Biol., Liège 29, 201 (1914).

<sup>5</sup> R. DUBOIS, *L'origine et la migration des cellules germinales de l'embryon de Poulet, d'après les résultats d'expériences in vitro* (Thèse, Paris 1968).

<sup>6</sup> D. CUMINGE et R. DUBOIS, C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris 269, 74 (1969).

<sup>7</sup> R. DUBOIS et D. CUMINGE, C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris 269, 2018 (1969).

<sup>8</sup> G. REYNAUD, J. Embryol. exp. Morph. 21, 485 (1969).

<sup>9</sup> G. REYNAUD, Annls Biol. 9, 495 (1970).

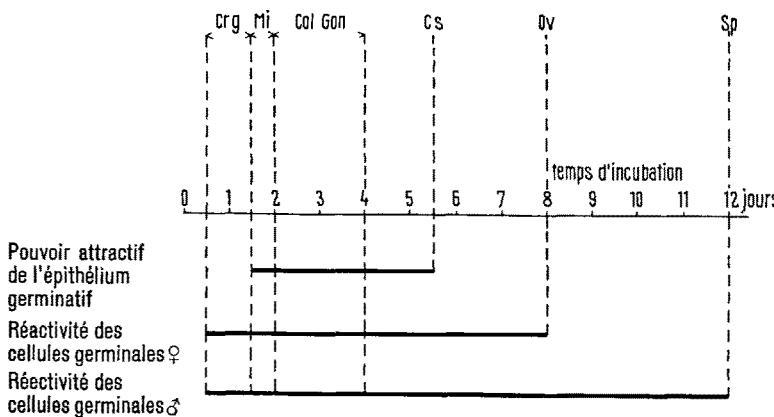
<sup>10</sup> G. REYNAUD, Annls Fac. Sci., Marseille 43 (B), 101 (1970).

<sup>11</sup> I. ROGULSKA, W. OZDZENSKI et A. KOMAR, J. Embryol. exp. Morph. 25, 155 (1971).

<sup>12</sup> D. B. MEYER, Devl Biol. 10, 154 (1964).

<sup>13</sup> B. H. WILLIER et M. E. RAWLES, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 32, 1293 (1935).

<sup>14</sup> R. DUBOIS, C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris 258, 5070 (1964).



Durées respectives du pouvoir attractif de l'épithélium germinatif et de la réactivité des cellules germinales mâles et femelles à ce pouvoir, chez l'embryon de Poulet. Cr g, période de regroupement des cellules germinales dans le croissant germinatif; Mi, période de leur migration intravasculaire; Col Gon, colonisation des ébauches gonadiques; C s, première poussée de cordons sexuels; Ov, apparition des ovogones chez la femelle; Sp, apparition des spermatogones chez le mâle.

considérablement diminué *in vitro*, dès le 4ème jour d'incubation.

b) Des expériences d'injection de CGP de Dindon dans le réseau vasculaire vitellin d'embryons de Poulet sexuellement stériles âgés de 3 à 6 jours ont démontré que les ébauches gonadiques stériles pouvaient fixer, jusqu'au 5ème jour d'incubation, les gonocytes primordiaux injectés, mais n'en étaient plus capables le 6ème jour<sup>8</sup>. Ce résultat, obtenu *in vivo*, conduit à repousser l'époque de la disparition du pouvoir attractif de l'épithélium germinatif entre le 5ème et le 6ème jour d'incubation, soit juste avant la première poussée de cordons sexuels, correspondant à une phase de différenciation du cortex gonadique. Ces différentes données étant reportées sur un graphique (Figure), on s'aperçoit que le pouvoir attractif de l'épithélium germinatif s'étend sur une durée de 4 jours environ (entre la 35ème et la 125ème h d'incubation) alors que la colonisation effective des ébauches gonadiques par les gonocytes ne nécessite que 2 jours, au maximum.

2. Durée de la réactivité des cellules germinales au stimulus attractif de l'épithélium germinatif. La réactivité des cellules germinales au stimulus attractif de l'épithélium germinatif se manifeste par la colonisation des ébauches gonadiques (du 2ème au 4ème jour d'incubation) et aussi, sans doute, par la migration intravasculaire qui la précède et qui débute une demi-journée plus tôt (35 h). Toutefois, ici encore, deux catégories de résultats expérimentaux tendent à prouver que cette propriété est bien plus étendue dans le temps qu'il n'y paraît.

a) Les travaux de ROGULSKA<sup>15</sup> ont montré que l'introduction d'un croissant germinal fertile, prélevé au stade de la ligne primitive terminale (18–20 h d'incubation), dans la cavité coelomique d'un embryon de 66 h (25–30 somites) aboutit à la migration rapide (en 1 h, dans certains cas) des CGP du croissant dans les crêtes génitales de l'hôte. Les CGP sont donc capables de répondre au pouvoir attractif de l'épithélium germinatif dès l'époque précoce de leur regroupement dans le croissant germinal extra-embryonnaire (18 h).

b) Les associations de fragments gonadiques en culture *in vitro* réalisées par DUBOIS<sup>5,14</sup> et rapportées plus haut ont montré que les gonocytes primaires contenus dans les ébauches gonadiques indifférenciées de 5–6 jours étaient encore capables de migrer hors de ces ébauches et, par suite, de réagir au stimulus attractif émanant de jeunes épithéliums germinatifs. D'autres associations faites par le même auteur<sup>5</sup> à partir d'ébauches gonadiques différenciées ont révélé que les gonocytes mâles conservaient leurs propriétés migratrices – et donc leur réactivité au stimulus attractif – jusqu'au 12ème jour d'incubation alors que les gonocytes femelles cessent de répondre à l'attraction

de jeunes épithéliums stériles dès le 8ème jour. Là encore, il est important de souligner que ces deux époques de disparition de la réactivité correspondent respectivement chez chacun des sexes au début de la période de multiplication cellulaire intense qui va donner naissance aux oogonies (8<sup>e</sup> jour) et aux spermatogonies (12<sup>e</sup>–13<sup>e</sup> jour) [SWIFT<sup>16</sup>]. La réactivité des cellules germinales disparaît donc, comme le pouvoir attractif de l'épithélium germinatif, peu de temps avant qu'intervienne une phase de différenciation cellulaire qui les concerne. Elle s'étend sur plusieurs jours (une semaine au minimum) et elle persiste davantage chez le mâle que chez la femelle dont les gonocytes se transforment plus précocement en gones. Toutes ces données concernant la réactivité des cellules germinales sont également portées sur le graphique (Figure) dont la lecture permet de tirer les conclusions générales suivantes:

1. La durée du pouvoir attractif de l'épithélium germinatif (4 jours) et celles de la réactivité des cellules germinales femelles (7 jours) et mâles (11 jours) à ce pouvoir sont chacune bien supérieures à la durée de la colonisation des ébauches gonadiques (2 jours) qui constitue la manifestation essentielle de ces deux propriétés complémentaires.

2. La réactivité des cellules germinales a pu être décelée un peu avant l'apparition du pouvoir attractif de l'épithélium germinatif (15–18 h plus tôt) et, de toute évidence, elle se perpétue bien au-delà du terme de celui-ci, notamment chez le sexe mâle.

3. Le pouvoir attractif de l'épithélium germinatif et la réactivité des cellules germinales à ce pouvoir cessent chacun au moment où se prépare une phase importante de leur différenciation cellulaire respective.

*Summary.* Experimental results of different authors show that the attractive stimulus of the germinal epithelium for the germ cells in the chick embryo lasts less long than the reactivity of these cells to the same stimulus. However, both of them (stimulus and reactivity) last far longer than the period of the incorporation of germ cells into the primordia of the gonads. Each of them disappears when an important phase of differentiation is about to start in the group of cells concerned.

G. REYNAUD

Laboratoire de Morphogénétique animale,  
Faculté des Sciences,  
1, Pl. Victor Hugo, F-13 Marseille-3<sup>e</sup> (France),  
27 janvier 1971.

<sup>15</sup> T. ROGULSKA, *Experientia* 25, 631 (1969).

<sup>16</sup> C. H. SWIFT, *Am. J. Anat.* 18, 441 (1915); 20, 375 (1916).

## Attempts to Prevent Acquired Immunological Insufficiencies in Mice by Bacillus Calmette-Guérin

The antigenicity of tumours induced by viruses, or by physical or chemical agents, the regression of compatible tumours by the action of active immunotherapy<sup>1,2</sup>, the immune deficiencies observed in mice<sup>3,4</sup> and in man<sup>5</sup> bearing certain types of malignant tumours raises the question of the correlation between the development of tumours and the spontaneous or acquired depression of immunity.

It is of interest to know what are the states of immune insufficiencies that can be prevented by using active immunotherapy, such as can be produced by BCG inoculations. We have examined whether under certain conditions treatment with BCG can prevent the immuno-

suppression caused by 6-mercaptopurine, a cytostatic immunosuppressive agent, or by the establishment of a transplanted syngeneic leukaemia.

1st experiment: 40 male adult F<sub>1</sub> (DBA/2 × C57Bl/6) mice were divided at random into 8 groups of 5 mice. On day 0 all the mice received 10<sup>8</sup> sheep red blood cells (SRBC) i.p.; on the 5th day they were killed and the number of haemolytic plaque-forming cells in their spleens assayed by the lysis in agar gel technique of Jerne and Nordin.

On day 15 the animals in groups II, VI, VII and VIII were given 1 mg (dry weight) of living BCG (Institut Pasteur) i.v.