

EFFET DE L'ETAT IMMUNITAIRE SUR LES CANCERS PULMONAIRES
INDUITS PAR L'OXYDE DE PLUTONIUM

D. NOLIBE, H. METIVIER, R. MASSE, J. LAFUMA

C.E.A. - DPr/LTE - BP 561 - 92542 MONTROUGE CEDEX

Les tumeurs pulmonaires induites par contamination α n'affectent, pour une dose donnée, qu'un pourcentage variable des animaux (1) (2). Il est donc possible d'envisager l'existence de facteurs individuels conduisant à la définition d'une population à haut risque. Parmi les mécanismes supposés, l'état immunitaire de l'animal peut être une cause importante dans le développement des tumeurs. En effet une immunosuppression favorise les cancers transplantés (3) ou induits par des virus (4). Par contre les résultats obtenus lors de l'induction par des cancérigènes chimiques sont contradictoires (5) (6). En déprimant de manière définitive (thymectomie) ou transitoire (azathioprine) ou, au contraire, en stimulant les capacités immunitaires (BCG) nous avons analysé quelles pouvaient être les conséquences sur l'incidence, le type cellulaire et l'invasivité des tumeurs pulmonaires radioinduites par l'oxyde de plutonium.

MATERIEL ET METHODES

Les rats femelles et mâles sont de souche Wistar "out bred" élevés en milieu conventionnel. Les conditions d'empoussiérage par l'oxyde de plutonium ($^{239}\text{PuO}_2$) ont été précédemment décrites (7). La dose délivrée aux poumons est estimée en rads.

Les animaux thymectomisés sont opérés moins de 24 heures après la naissance, l'absence de thymus est contrôlée histologiquement à l'autopsie. Soixante dix animaux thymectomisés et contaminés sont comparés à deux lots témoins soit uniquement thymectomisés (17 animaux) soit exposés mais non thymectomisés (43 animaux + 195 animaux (2) utilisés en raison de la parfaite similitude des deux lots).

Les modifications temporaires de l'état immunitaire des animaux ont été réalisées en soumettant les animaux pendant quatre mois, à dater du jour de l'inhalation, soit à un immunodépresseur : azathioprine (Imurel-Wellcome) 5 mg/kg, per os tous les dix jours, soit à un immunostimulant : BCG lyophilisé (Pasteur) 0,4 mg/kg tous les 15 jours. Le BCG est administré soit par voie sous cutanée (43 animaux dont 3 sont encore vivants) soit par voie intratrachéale (39 animaux). Ces animaux sont comparés à des lots témoins recevant les mêmes traitements, sans plutonium.

Les diagnostics de pathologie pulmonaire sont effectués à partir des poumons coupés in toto. Les métastases ainsi que les cancers extrapulmonaires sont décelés à l'autopsie et confirmés histologiquement. La taille des tumeurs pulmonaires ($T_1 \leq 2$ mm, T_2 2 à 5 mm, $T_3 > 5$ mm ou plusieurs et $T_4 >$ un poumon) l'invasion de la plèvre ou des ganglions locaux sont définies histologiquement pour chaque tumeur pulmonaire observée.

RESULTATS

1) Incidence des tumeurs

Les résultats obtenus figurent sur le tableau I. Le pourcentage d'animaux portant soit des cancers thoraciques, y compris sarcomes lymphatiques, soit des cancers extrathoraciques est exprimé par rapport au nombre d'animaux

à compter de l'apparition du premier cancer (animaux "at risk"). Afin de contrôler l'homogénéité des groupes, doses et survies moyennes sont calculées pour chaque lot.

L'immunodépression définitive ou temporaire augmentent l'incidence tumorale de manière non équivoque pour les doses élevées (> 5000 rads). Par contre l'augmentation observée à dose moyenne est d'interprétation plus délicate en raison de la survie accidentellement trop faible du groupe témoin. L'augmentation observée pourrait être en relation avec la survie moyenne supérieure dans le lot traité. A faible dose (< 1000 rads) aucun effet n'est mis en évidence.

L'action d'un immunostimulant type BCG produit dans les mêmes conditions un accroissement du nombre de tumeurs pulmonaires. Ce résultat est particulièrement net lorsque le BCG est délivré localement par voie intra trachéale : incidence augmentée de 50% bien que la survie moyenne ait diminuée d'un facteur 2.

L'accroissement du nombre de tumeurs extra pulmonaires très significatif dans chaque lot lorsque le temps de survie est suffisamment long (doses moyennes et doses faibles) doit être interprété en fonction des résultats obtenus chez les témoins (tableau 2).

Ceux-ci montrent une augmentation significative des tumeurs extrapulmonaires spontanées après immunodépression et à moindre degré après immunostimulation répétée par voie générale.

2) Type cellulaire

L'analyse histologique des tumeurs pulmonaires apparues dans les différents lots (tableau 3) indique chez les animaux immunodéprimés, une augmentation du pourcentage de tumeurs épidermoïdes et sarcomateuses au dessus de 1000 rads. A faible dose on ne note qu'une augmentation des sarcomes.

Le BCG n'entraîne également que peu de modifications, à l'exception de la fréquence plus élevée de sarcomes.

3) Invasivité

Pour des doses et des temps de survie comparables on enregistre un accroissement de la taille et du pourcentage de cancers pulmonaires envahissant la plèvre et les ganglions locaux (tableau 4). Cette action est valable pour les deux types de tumeurs étudiées. L'invasion ganglionnaire augmente de plus de 100% après thymectomie ou azathioprine et demeure en relation avec l'accroissement de la taille des tumeurs. L'introduction du BCG par voie cutanée favorise de façon comparable l'invasivité des tumeurs pulmonaires étudiées.

DISCUSSION

Il a été montré qu'un certain nombre de tumeurs induites chimiquement portaient des "néoantigènes", de ce fait leur développement pouvait être en partie sous contrôle immunitaire. Un tel processus a été vérifié dans le cas d'adénomes pulmonaires induits par le benzanthracène (8). Les résultats obtenus après inhalation d'oxyde de plutonium montrent également qu'une déficience immunitaire, même pendant une période limitée de la phase de latence, favorise l'apparition de tumeurs pulmonaires. Cette augmentation de l'incidence tumorale est mise en évidence aux doses moyennes et fortes, mais non à dose faible.

On peut penser que l'ablation thymique (9) de même que l'azathioprine (10) simulent les processus naturels de vieillissement immunologique et favori-

sent la croissance tumorale en déprimant principalement l'immunité à médiation cellulaire.

Outre cette action sur l'incidence des tumeurs pulmonaires induites par le rayonnement, α , thymectomie et immunosupresseurs favorisent l'apparition de tumeurs sarcomateuses probablement par un processus de stimulation antigénique chronique.

L'augmentation de l'incidence sous l'action des immunosupresseurs est accompagnée d'une modification des types cellulaires et une augmentation de l'invasivité. La fréquence plus élevée des tumeurs épidermoïdes peut s'expliquer par les différences d'antigénicité (6) tandis que l'augmentation des tumeurs lymphoïdes est liée à une stimulation antigénique classique.

Parallèlement on note un accroissement de l'invasivité mesurée par la taille, l'envahissement pleural ou ganglionnaire. Ce dernier point nous paraît particulièrement significatif en raison du rôle cytotoxique joué par les ganglions satellites des tumeurs (11).

Les effets facilitants obtenus après immunostimulation sont à rapprocher des travaux de BALNER (12) montrant que le BCG favorise le développement de tumeurs antigéniques. Par ailleurs les meilleurs résultats obtenus lorsque le BCG est en contact direct avec les lésions tumorales pourrait expliquer la plus faible invasivité observée lorsque la stimulation est locale. Toutefois l'incidence demeurant élevée, cette inhibition peut être également due aux modifications du tissu pulmonaire induits par l'injection intra trachéale du BCG. En particulier le passage lymphatique de cellules tumorales ou la migration des macrophages vers les ganglions pourraient être modifiés dans de telles conditions.

Ces résultats laissent penser que l'apparition de tumeurs n'obéit pas à un phénomène aléatoire en seule relation avec la dose, des facteurs individuels peuvent modifier l'incidence et la capacité invasive des tumeurs observées.

REFERENCES

- (1) LAFUMA J., NENOT J.C., MORIN M., MASSE R., METIVIER H., NOLIBE D., SKUPINSKI W., Respiratory carcinogenesis in rats after inhalation of radioactive aerosols of actinides and lanthanides in various chemical forms, "Experimental lung cancer carcinogenesis and bioassays, KARBE E., PARK J.F., Springer Verlag Berlin (1974) 443-453.
- (2) METIVIER H., MASSE R., NOLIBE D., LAFUMA J., 239PuO₂ aerosol inhalation with emphasis on pulmonary connective tissue modifications., Inhaled Particles and Vapours IV. Proceedings of 4th International Symposium on Inhaled Particles and Vapours - Edinbourg 22-26 Sept. (1975) Pergamon Press Oxford (sous presse).
- (3) CERILLI G.J., TREAT R.C., The effect of antilymphocyte serum on the induction and growth of tumor in the adult mouse, *Transplantation* 8 (1969) 774-782.
- (4) ALLISON A.C., FRIEDMAN R.M., Effects of immunosuppressants on Shope rabbit fibroma, *J. Natl. Cancer Inst.* 36 (1966) 859-864.
- (5) MILLER J.F.A.P., GRANT G.A., ROE F.J.C., Effect of thymectomy on the induction of skin tumours by 3-4 benzopyrene, *Nature* 199 (1963) 920-922.
- (6) BALNER H., DERSJANT H., Neonatal thymectomy and tumor induction with methylchloranthrene in mice, *J. Natl. Cancer Inst.*, 36 (1966) 513-521.
- (7) METIVIER H., RATEAU G., MASSE R., NOLIBE D., Description d'un dispositif permettant la contamination d'animaux de laboratoire par inhalation

d'aérosols radioactifs, Note CEA-N-1722 (1974) 14p.

- (8) TRAININ N., LINKER-ISRAELI M., SMALL M., BOIATO-CHEN L., Enhancement of lung adenoma formation by neonatal thymectomy in mice treated with 7-12 dimethylbenzanthracene or urethan. Int. J. Cancer, 2 (1976) 326-336.
- (9) DABROWSKI M.P., Further studies on the properties of lymphocytes from aging neonatally thymectomised rats., Transplantation 18 (1974) 531-537.
- (10) OTTERNESS G., HAN CHANG Y.J., Comparative study of cycTophosphamide, 6-mercaptopurine, azathiopurine and méthotrexate. Relative effects on the tumoral and the cellular immune response in the mouse., Clin. Exp. Immunol., 26 (1976) 346-354.
- (11) FISHER B., SAFFER E., FISHER E.R., Studies concerning the regional lymph node in cancer. IV. Tumor regional inhibition by regional lymph node cells. Cancer 33 (1974) 631-636.
- (12) BALDWIN R.W., PIMM M., BCG immunotherapy of rat tumors of defined immunogenicity., Natl. Cancer Inst. Monogr., 39 (1973) 11.

Remerciements.

Nous remercions Mesdames BEAUVILLET et L'HULLIER et Monsieur DISCOUR pour leur assistance technique.

TRAITEMENT APRES PuO ₂	LOT	ANIMAUX "AT RISK"	DOSE MOYENNE (rads)	SURVIE MOYENNE (Jours)	% ANIMAUX AVEC CANCERS NON THORACIQUES	% ANIMAUX AVEC CANCERS POUMONS THORAIQUES	
0	A*	27	9500	360	0	48	
	B*	40	2700	460	2	47	
	C*	24	500	700	8	33	
THYMECTOMIE	A	15	11800	390	7	67	
	B	24	2100	630	12	62	
	C	18	450	590	22	28	
IMUREL	A	12	10600	420	0	75	
	B	8	2300	670	12	75	
	C	17	440	640	6	26	
BCG	SC	A	5	8600	470	0	63
		B	8	2000	790	12	62
		C	13	530	720	8	31
IT	A	4	8400	150	0	87	
		8	1700	590	11	78	
		20	390	610	10	20	

*lot A = 5000 rads, * lot B 1000-5000 rads, * lot C = 1000 rads.

TABLEAU 1

TRAITEMENT APRES PuO ₂	LOT	NOMBRE CANCERS PULMONAIRES	% DES DIFFERENTS TYPES			
			EPID.	BR. ALV.	SARC.	
0	A	22	69	31	0	
	B	31	32	52	16	
	C	9	32	56	11	
THYMECTOMIE	A	11	82	9	9	
	B	17	54	23	23	
	C	5	20	60	20	
IMUREL	A	9	78	22	0	
	B	6	50	50	0	
	C	6	33	33	33	
BCG	SC	A	6	67	33	0
		B	8	25	50	25
		C	4	25	75	0
IT	A	4	50	50	0	
		7	43	67	0	
		5	20	80	0	

TABLEAU 3

TERMINIS	ANIMAUX		MORTALITE SDS (Jours)	ANIMAUX AVEC CANCERS (en %)
	MORTS	VIVANTS		
0	27	3	846	7
THYMECTOMIE	11	6	610	27
IMUREL	12	4	766	17
SC. BCG	23	1	813	13
IT. BCG	23	2	823	9

TABLEAU 2

TRAITEMENT APRES PuO ₂	TYPE CANCER	SURVIE MOYENNE	DOSE MOYENNE	TAILLE MOYENNE	INVASION (en %)	PLEURALE	GANGLIONNAIRE	
0	EpId.	495	4900	2,6	48	16		
	Br.Alv.	665	3200	1,8	26	13		
THYMECTOMIE	EpId.	500	6300	3,1	68	32		
	Br.Alv.	695	2700	2,4	39	25		
IMUREL	EpId.	520	7000	2,3	93	42		
	Br.Alv.	695	2500	2,2	67	33		
BCG	SC	EpId.	510	4900	3,6	86	57	
		Br.Alv.	695	2700	2,7	67	33	
IT	A	EpId.	555	3900	2,7	50	33	
		Br.Alv.	495	3200	1,9	30	0	

TABLEAU 4