

CANCERS PULMONAIRES INDUITS CHEZ LE RAT PAR IRRADIATION INTERNE α ;
CELLULES CIBLES ET CELLULES SENSIBLES

P. FRITSCH, R. MASSE, D. NOLIBE, H. METIVIER, M. MORIN, J. LAFUMA
R. PERRAUD, J. CHAMEAUD

C.E.A. - DPr/SPTE - BP 6 - 92260 FONTENAY AUX ROSES
*COGEMA - Service Médical - 87640 RAZES

Si la fréquence d'apparition des tumeurs pulmonaires apparaît particulièrement révélatrice de la relation dose-effet (1) ce paramètre ne peut être seul considéré comme représentatif du dommage causé par l'irradiation α du poumon. En ne retenant que la fréquence tumorale on sous entend le résultat d'un phénomène aléatoire comme facteur exclusif. Or, pour une même dose, la médiane de survie des animaux n'apparaît pas diminuée chez les porteurs de tumeurs par rapport aux animaux qui n'en ont pas (2).

De ce fait il apparaît nécessaire de définir clairement la nature de ces tumeurs par rapport aux tumeurs humaines, de préciser les relations entre cellules renouvelées et irradiées et cellules considérées comme "cibles" de rechercher les composants cellulaires et tissulaires radiosensibles non directement impliqués dans la génèse tumorale elle même, mais étroitement associés au tissu dans lequel la tumeur prend naissance.

MATERIEL ET METHODES

1) Analyses histopathologiques

401 tumeurs du poumon ont été analysées selon les techniques histologiques usuelles. L'ultrastructure de 36 de ces tumeurs a été observée, 20 tumeurs ont été greffées chez la souris nude ; 5 tumeurs ont pu être cultivées in-vitro. Deux lignées, un carcinome bronchioalvéolaire et un angiosarcome sont établies chez le rat Wistar isogénique et régulièrement létales.

2) Analyses morphométriques

L'évaluation des cellules totales du poumon est obtenue après mesure absolue du nombre de macrophages alvéolaires pour les techniques de lavage pulmonaire (3). La répartition des cellules est ensuite déterminée par comptage du pourcentage relatif des noyaux cellulaires appartenant aux différentes lignées, après identification au microscope électronique (4). L'évaluation des cellules en phase S est obtenue par injection de thymidine tritiée.

RESULTATS

La fréquence des tumeurs observées apparaît dans le tableau I. Les 20 tumeurs greffées se sont révélées fertiles chez la nude. 7 d'entre elles ont pu être transplantées successivement sans perte de la malignité représentant tous les types étudiés. Du point de vue histopathologique, ces tumeurs sont de types très variables. Parmi les tumeurs épithéliales le groupe le plus homogène est constitué par les carcinomes bronchioalvéolaires et les carcinomes alvéolaires. A l'exception de la variété compacte, dont l'ultrastructure révèle qu'il s'agit d'une tumeur composée uniquement de pneumocytes II plus ou moins altérés, ces tumeurs sont typées par l'aspect papillo-végétant qui est aussi bien caractéristique chez l'homme. Comme chez l'homme deux variétés peuvent être distinguées (5) l'une sécrétant une sérosité PAS positive et composée de cellules proches des cellules séreuses bronchiques (6),

l'autre composée pour la plupart de cellules indifférenciées, ou comparable soit aux pneumocytes II; soit aux cellules de Clara ; jamais dans ces tumeurs ne se remarquent de cellules évoquant les cellules basales, ni de cellules à caractère épidermoïde fût il très indifférencié. Les jonctions sont du type "zona occludens".

Les carcinomes épidermoïdes sont plus ou moins différenciés, et constitués soit des cellules de type épidermique, soit des cellules proches des cellules basales des bronches souches. De ces tumeurs se rapproche immédiatement la variété rare de type adénoacanthome, tumeur de caractéristique tubulaire pluristratifiée comportant une assise de cellules identiques aux cellules basales et une couche luminale à microvillosités trappues riches en cell-coat donnant au microscope optique l'aspect d'une bordure en brosse. Le réticulum endoplasmique est peu développé, les jonctions cellulaires sont des desmosomes. L'exagération du caractère sécrétoire, la disparition de l'assise basale, conduisent à l'adéno carcinome bronchogénique. Le type est tubulo acinaire, aspect tumoral fréquemment associé aux carcinomes épidermoïdes différenciés pour donner la variété composite. Toutes les étapes de transition existent dans la même tumeur entre l'aspect ultrastructural du carcinome épidermoïde différencié, indifférencié, et les variétés "anaplasiques" à grandes cellules à cellules géantes et à cellules polygonales. Dans la tumeur compacte muco épidermoïde analysée en ultrastructure des cellules à caractère évident de cellules basales sont présentes parmi les cellules à mucus.

L'ensemble de ces caractéristiques justifie que les tumeurs épithéliales soient regroupées en deux types simples : carcinomes bronchogéniques d'une part, carcinomes bronchioloalvéolaires de l'autre. Quand ces tumeurs gagnent le médiastin leur aspect est quelque peu modifié par la prolifération mésothéliale et l'apparition d'une composante fibroblastique fréquemment tumorale. Un fibrosarcome typique a été obtenu à partir de culture d'un bronchioloalvéolaire suivie de greffe.

Les mésothéliomes sont rares et d'interprétation difficile, les deux tumeurs retenues étaient exclusivement pleurales et gagnaient la cavité péritonéale. Les angiosarcomes sont beaucoup plus fréquents, tous à l'exception d'un ont été observés à forte dose délivrée de manière hétérogène. Leur ultrastructure est très simple et caractéristique des cellules endothéliales peu différenciées. Les réticulosarcomes pulmonaires sont d'apparition tardive ils ont été pour la plupart observés après de faibles doses 100 - 1000 rads. Du point de vue de l'ultrastructure deux types cellulaires constitutifs coexistent, l'un caractérisé par des cellules riches en réticulum lisse, l'autre par des cellules à aspect T blastique.

La malignité des tumeurs décrites ne peut faire de doute malgré un très faible taux de métastases extrapulmonaires. Les cultures et les greffes en montrent nettement les caractéristiques.

De cette analyse ressortent nettement les cellules originelles : une cellule d'origine bronchique observée constamment dans la bronche métaplasique donne naissance à la variété bronchogénique ; la cellule bronchiolaire indifférenciée et sans doute le pneumocyte II alvéolaire et bronchiolaire sont à l'origine de la variété bronchioloalvéolaire, les cellules endothéliales, les fibroblastes et le tissu lympho réticulaire constituant les autres cellules cibles du parenchyme. Les cellules de Kultchisky, origine probable des carcinomes oat cells humains ne sont pas représentées dans cette série.

Cellularité pulmonaire

Dans le cas du rat de 250g sans traitement, le nombre total de cellules ap-

paraît dans le tableau 2. Les cellules bronchiques et bronchiolaires représentent 20 à 25% des cellules épithéliales totales chez le rat. L'indice de marquage moyen de ces cellules est faible voisin de 0,5% cependant il existe des foyers irrégulièrement répartis où la prolifération est très rapide atteignant 25 à 50% des cellules. Quantitativement ce phénomène n'affecte pas l'équilibre global du pool. Il peut néanmoins avoir une signification importante pour la localisation des tumeurs. Il permet notamment, par phénomène de bronchiolisation (7), le glissement de cellules bronchiques dans les alvéoles ce qui explique le caractère apparemment distal des néoplasmes bronchogéniques. Les cellules de Kultchisky représentent moins de 50.000 cellules. Les modifications de la cellularité après irradiation : PuO₂ 2500 rads, Radon 6000 WLM en 3 mois apparaissent dans le tableau 3.

L'une des caractéristiques les plus étonnantes est la constance des rapports des populations malgré l'influence de l'âge de l'irradiation. Elle témoigne d'une stricte régulation. Dans les conditions choisies (animaux non infectés non porteurs de tumeurs) la cellularité bronchique demeure également stable. Il n'existe que de très minimes variations individuelles. Sont significatives les différences portant sur la diminution du rapport pneumocytes II/pneumocytes I, l'augmentation des macrophages chez les irradiés, l'augmentation des cellules septales inflammatoires : mastocytes, plasmocytes polynucléaires, histiocytes. Chez les animaux soumis au Radon, l'augmentation de monocytes est également significative. Chez les animaux âgés le rapport pneumocyte II/pneumocyte I diminue également significativement, les lymphocytes diminuent et les cellules septales augmentent.

Les tissus de 3 animaux irradiés par PuO₂ ont donné naissance à des proliférations bronchioloalvéolaires après greffe chez la souris Nude (8), aucun des témoins n'a donné ce type de prolifération, les tissus des trois animaux témoins Radon un an ont été très rapidement remaniés par la sclérose sans prolifération après greffe chez la nude.

DISCUSSION

Aucune caractéristique de la cellularité pulmonaire ne permet de prévoir la fréquence des tumeurs observées chez le rat. Le type de cellules intermitotiques dominant est endothélial ; le type tumoral dérivé ne représente que 3,2% des tumeurs totales. Le pool total des cellules bronchiques engagées dans le cycle est lui-même faible, il s'oppose nettement par exemple au pool des cellules de l'oesophage en continuel renouvellement et qui n'a donné naissance à aucune tumeur dans cette expérimentation. De nombreux foyers d'adénomatose précèdent l'apparition des tumeurs. Ces lésions n'ont cependant jamais proliféré après greffe chez la souris nude. Ce résultat s'oppose à la fréquence des proliférations observées lors de la greffe de parenchyme irradié histologiquement normal (8).

Le tissu pulmonaire est donc capable de maintenir son homeostasie malgré une irradiation sévère tout en acquérant progressivement le caractère prètumoral. Malgré les faibles variations numériques, les lignées même très différenciées comme les macrophages alvéolaires sont très radiosensibles (9) cette sensibilité apparaît lors de la dernière mitose de différenciation (10). Il est donc possible de concevoir que les cellules cibles pour la cancérogénèse sont également des cellules senescentes accidentellement conduites à la prolifération. Le pool de cellules marginées dans les capillaires pulmonaires représente 30% des lymphocytes circulants et 200% des monocytes circulants, il est vraisemblable qu'intervient une action directe de l'irradiation sur ces cellules qui assurent la surveillance immunitaire. L'homéostasie de cette population montre que le phénomène de margination se fait aux dépens de l'économie immunitaire générale. Aucune variation n'est notable dans la lignée fibroblastique,

cependant des modifications temporaires du métabolisme du conjonctif ont été observées en phase de latence prëtumorale (11). Ce phénomène ne coïncide pas étroitement avec la cancérisation sur cicatrice et indique qu'une altération générale du rapport épithélium conjonctif doit être recherchée.

REFERENCES

- (1) BAIR W.J., THOMAS J.M., "Transuranium Nuclides in the Environment", (1976) 569 (IAEA-SM-199/58).
- (2) LAFUMA J., NENOT J.C., MORIN M., MASSE R., METIVIER H., NOLIBE D., SKUPINSKI W., "Experimental Lung Cancer", KARBE E., PARK J.F. Ed. Vol I, Springer Verlag New York (1974) 443.
- (3) SEDAGHAT B., MASSE R., NENOT J.C., LAFUMA J., MARTIN J.C., C.R. Acad. Sci., Série D, Paris 273 (1971) 229.
- (4) FRITSCH P., MASSE R., LEBAS F., LAFUMA J., CHRETIEN J., C.R. Acad. Sci. Série D, Paris 281 (1975) 1105.
- (5) GREENBERG S.D., SMITH M.N., SPJUT H.J., J. Clin. Path., 63 (1975) 153.
- (6) JEFFERY P.K., REID L., J. Anat. 120 (1975) 295.
- (7) NETTESHEIM P., Lab. Invest. 26 (1972) 210.
- (8) NOLIBE D., MASSE R., FRITSCH P., LAFUMA J., "Biological and Environmental Effects of Low Level Radiation". Vol II (1976) 95 (IAEA-SM-202/403).
- (9) MASSE R., "Inhaled Particles III" W.H. WALTON Ed. Vol I, Unwin Brothers Limited, (1971) 247.
- (10) MASSE R., FRITSCH P., NOLIBE D., LAFUMA J., CHRETIEN J., "Pulmonary macrophage and epithelial cells" Sixteenth Annual Hanford Biology Symposium. Richland U.S.A. 27-29 Sept. (1976) (sous presse).
- (11) METIVIER H., MASSE R., NOLIBE D., LAFUMA J., Symposium Inhaled Particles and Vapours IV - Edinbourg 22-26 Sept. (1975) Pergamon Press Oxford (sous presse).

Tableau 3 : Cellularité du poumon exprimé en pourcentage relatif (1000 cellules examinées en moyenne).

	TEMPOINS 3 MOIS N = 7	TEMPOINS 1 AN N = 5	TEMPOINS 18 MOIS N = 3	PO ₂ 1 AN N = 3	RADON 1 AN N = 3	RADON 18 MOIS N = 3
ENDO.	39,3	39,0	40,3	37,2	37,8	38,6
FIBRO.	22,3	20,2	21,2	21,0	19,4	20,8
PI	7,8	9	9,9	11,3	9,9	8,3
PII	10,7	11,7	10,9	11,3	7	9,7
MAC.	2	2	1,8	2,6	3,2	4,8
NOMO.	5	6,6	5,7	5,2	7,8	7,3
LYMPHO.	9,2	7,4	6,6	8,3	7,9	6,2
POLY.	2,6	2,2	3,1	2,8	2,8	4,1
SEPTALES NON INCLUES	< 1	1,6	2,5	2,7	4	5

Tableau 2 : Cellularité du parenchyme ajustée pour $23,6 \times 10^6$ macrophages.

TYPE	ENDO.	FIBRO.	P.I.	P.II	MAC.	CIRCULANTES
N/10 ⁶	449,1	254,8	89,1	122,3	23,6	192
a	7,9	20,6	13,7	16,0	6,8	14,8
Indice de marquage X	1	0,25	0	1,7	2,5	1

Tableau 1 : Types histologiques des tumeurs pulmonaires analysées.

TYPE	NOMBRE	MICROSCOPE ELECTRONIQUE	GAFFE
<u>EPIDERMIOIDE</u>	143		
très différencié	101	5	8
peu différencié	42	2	
<u>ADENOCARCINOME BRONCHOALVEOLAIRE</u>	17		
<u>TUMEURS COMPOSITES</u>	17	2	
<u>ANAPLASIQUES A C²⁰⁰ CELLULES</u>	3	1	
<u>ANAPLASIQUES A CELLULES POLY- MORPHES</u>	1	1	
<u>TUMEURS MUCO-EPIDERMIOIDE</u>	2	1	
<u>ADENOCARCINOMES</u>	2	1	
<u>ADENOCARCINOME BRONCHOALVEOLAIRE</u>	109		7
a cellules hautes	36	2	
a cellules basses	134	12	
<u>CARCINOMES ALVEOLAIRES COMPACTS</u>	10	1	
<u>ADENOCARCINOMES</u>	13	3	2
<u>HEMOTHÉLIOMES</u>	2		
<u>FIBROSARCOMES</u>	1	1	1
<u>METASTASIS</u>	10	4	2
	401	36	20