

Radiothérapie tumorale et status immunitaire de l'hôte dans un système allogénique

par

Jean-Marie DENEUFBOURG

I. — Introduction

L'efficacité de la radiothérapie anti-tumorale dépend en grande partie de l'action létale des radiations ionisantes sur les cellules néoplasiques. Les paramètres de l'effet direct ont été étudiés en détail tant *in vitro* que chez l'animal et paraissent actuellement bien établis (Puck et Marcus 1956, Hewitt et Wilson 1959).

Le résultat thérapeutique est toutefois tributaire de certains effets indirects de l'irradiation. Les modifications du tissu conjonctif et du réseau vasculaire produites au niveau du lit tumoral et des tissus sains péri-tumoraux jouent un rôle non négligeable (Stenstrom 1955).

A la suite des travaux de Foley (1953), Prehn (1957) et Klein (1960), la présence de néo-antigènes au niveau des cellules cancéreuses est unanimement reconnue. Compte tenu de cette propriété, certains auteurs estiment que l'irradiation d'une tumeur peut provoquer une réaction immunitaire favorable à l'éradication des cellules malignes (Maruyama 1969). La compétence immunologique de l'hôte paraît, en effet, moduler le degré de radiocurabilité de la tumeur (Cohen 1960) (Powers 1967). D'autres auteurs, avec Rubin (1968), pensent, au contraire, que ce mode d'action indirecte est purement hypothétique.

Utilisant comme système expérimental le sarcome J en transplantation allogénique chez la souris CBA, nous avons étudié les répercussions de la radiothérapie tumorale sur le status immunitaire de l'hôte. Le rejet d'un second greffon sarcomateux a été pris comme test d'immunité.

La réaction immunologique de l'hôte contre sa tumeur a été évaluée au cours de la croissance du sarcome J ainsi qu'après son traitement par une dose unique de radiations.

L'immunité des animaux guéris par exérèse chirurgicale ou ligature a été comparée à celle conférée par une radiothérapie à doses croissantes. Le bénéfice d'une immunothérapie active spécifique associée à l'irradiation tumorale a été inventorié.

II. — Matériel et Méthodes

1. *La tumeur.* — Le sarcome J est une tumeur spontanée découverte chez une souris C57 Black de sexe féminin. Greffée en lignée isogénique, cette tumeur guérit spontanément dans un certain pourcentage de cas. De telles régressions confèrent une immunité spécifique durable, laquelle obéit aux lois générales de l'immunité de transplantation (Betz 1959).

Greffé à des souris CBA, le sarcome J croît plus rapidement que dans sa lignée d'origine et ne présente plus de régression spontanée. Un certain degré d'immunisation de l'hôte a cependant pu être mis en évidence (Chevalier 1965).

Par transplantations sous-cutanées régulières, effectuées de 15 en 15 jours, nous entretenons une souche de sarcome J chez des souris CBA de race pure et de sexe masculin. Nous en sommes actuellement à la 90^e transplantation.

2. *Les animaux.* — Nous utilisons des souris CBA mâles, issues de notre propre élevage. Leur pureté raciale est contrôlée périodiquement par des greffes cutanées croisées. L'âge moyen des animaux d'expérience est de 2 mois. Le poids moyen d'une souris, au moment de la greffe tumorale, s'élève à 22 g environ. L'alimentation est constituée d'un régime composé complet (U.A.R.-France) et d'eau à volonté. Les animaux vivent par cage de 4. Un conditionnement d'air maintient constante la température du local à 21 ± 1 °C.

3. *Greffe tumorale.* — Une souris porteuse d'une tumeur-souche est sacrifiée par dislocation cervicale. Des fragments tumoraux de 2 mm de côté environ sont prélevés aseptiquement. A l'aide d'un trocart, ils sont introduits en situation intradermique au niveau de la région dorsale médiane des animaux d'expérience.

4. *Mesure et expression de la croissance tumorale.* — Le plus grand (a) et le plus petit (b) diamètres de la tumeur sont mesurés tous les 2 jours au moyen d'un vernier au 1/10. Tenant compte des variations de forme de la tumeur en fonction du temps, nous avons choisi \sqrt{ab} , comme valeur traduisant le mieux la croissance néoplasique dans les limites de notre expérience.

\sqrt{ab} exprime, en effet, le rayon du cercle qui a même surface que la section passant par le plan de croissance tumorale.

Pour chaque animal, un relevé est établi des diverses valeurs de \sqrt{ab} en fonction du temps après la greffe. Ces données sont traitées par ordinateur selon un programme offrant, pour chaque cas, le choix entre une croissance tumorale selon une progression linéaire, selon une fonction de Gompertz et selon une exponentielle simple.

5. *Conditions de l'irradiation.* — La souris, non anesthésiée, est introduite en décubitus dorsal dans un cylindre de plexiglas fendu sur toute sa longueur. Le lambeau cutané porteur de la tumeur est extériorisé par la fente avec un minimum de traction afin d'éviter tout traumatisme et toute altération circulatoire. La tumeur est entièrement plongée dans de l'eau à température ambiante. Elle est maintenue dans un plan perpendiculaire à l'axe central du faisceau au moyen de deux sutures lâches à un barreau parallèle au dispositif de contention de l'animal (fig. 1).

Le volume-cible peut ainsi être centré correctement dans l'axe du faisceau. L'irradiation est effectuée au moyen des rayons γ du Co60 (appareil Picker) avec un champ de 30×20 mm et une D.F.P. de 29 cm. Le débit de dose mesuré au centre du cylindre contenant l'animal au maximum à 2 p. 100 de la dose délivrée à la tumeur.

6. *Expression de la dose/tumeur.* — Au 8^e jour après la greffe, moment de l'irradiation, la tumeur a la forme d'un ellipsoïde de révolution. La mesure de son plus grand et de son plus petit diamètre permet d'en tracer le contour. Celui-ci est ensuite porté sur la carte d'isodoses appropriée. Pour chaque cas, est dressé un graphique de répartition modale de la dose-tumeur.

Les volumes-cibles à distribution de dose homogène sont seuls pris en considération; tous ceux pour lesquels l'écart entre la dose minimum et la dose modale est supérieur à 15 p. 100 sont rejetés (fig. 2).

7. *Traitement chirurgical.* — Chez un premier lot de souris, une ligature au moyen d'un fil de nylon est posée à la base du pédicule tumoral le 8^e jour après la greffe. La vascularisation se trouvant interrompue, la masse tumorale se nécrose progressivement. Un pourcentage variable d'animaux peuvent ainsi être guéris de leur sarcome.

Dans le second groupe expérimental, l'exérèse chirurgicale de la tumeur est pratiquée au 8^e jour de sa croissance. Sous anesthésie générale, le lambeau cutané porteur du sarcome est excisé avec une marge de sécurité de 1 cm environ.

La plaie est suturée au fil de nylon après saupoudrage d'un antiseptique. Dans ces conditions opératoires, la cicatrisation intervient endéans 2 à 3 semaines. Le taux de guérison avoisine 100 p. 100 chez les animaux ainsi traités.

8. *Mise en évidence d'une immunité anti-tumorale.* — Des animaux porteurs d'une tumeur en croissance active et des animaux guéris d'une première tumeur reçoivent une seconde greffe tumorale intra-dermique selon la technique décrite

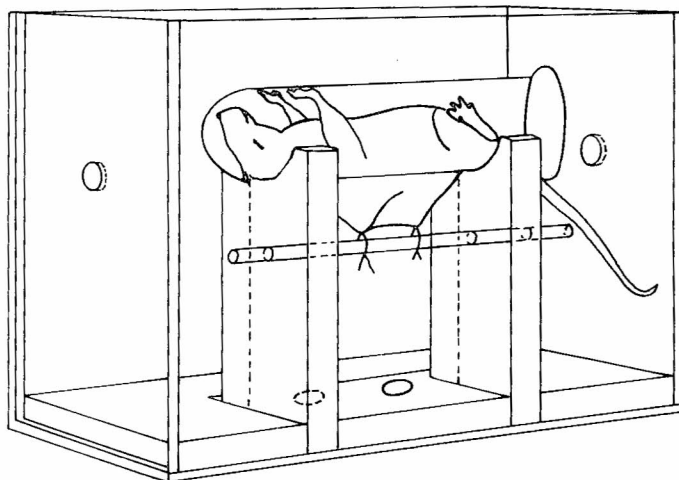


FIG. 1. --- Dispositif assurant la contention de l'animal lors de l'irradiation de sa tumeur.

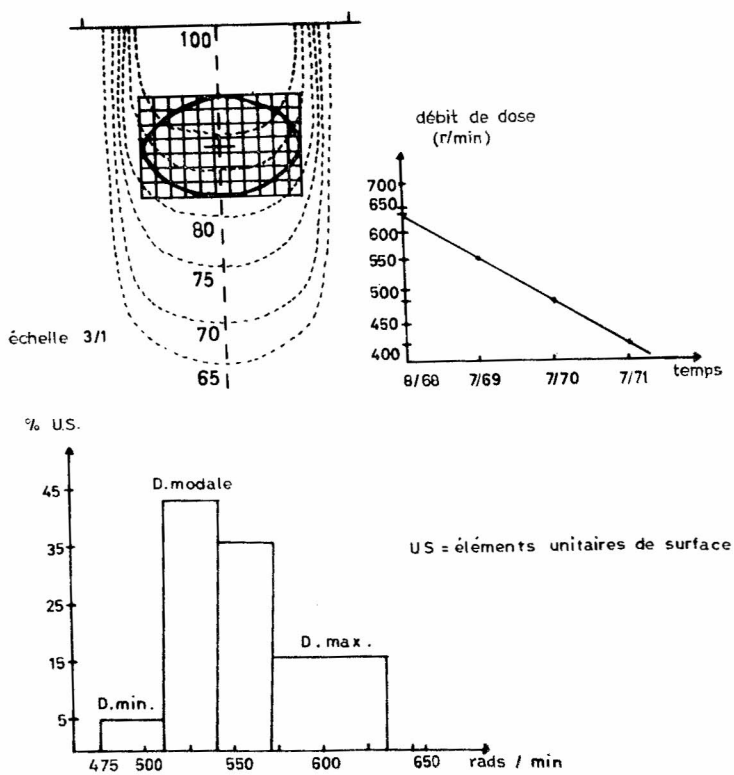


FIG. 2. --- Expression de la dose/tumeur.

précédemment. Cette greffe-test est pratiquée au niveau de la région ventrale de la souris; elle est contrôlée périodiquement et son rejet ou sa croissance sont enregistrés.

9. *Immunothérapie active spécifique.* — Une souris porteuse d'une tumeur-souche est sacrifiée. Des fragments tumoraux sont prélevés aseptiquement et immergés dans un liquide physiologique stérile à température ambiante. Ils sont inactivés à 100 p. 100 par une dose de 10 000 rads. Les greffons ainsi irradiés sont introduits en situation intra-dermique au niveau de la région ventrale d'animaux porteurs d'un sarcome. Cette immunothérapie a lieu 4 heures avant l'irradiation de la tumeur primaire.

III. — Résultats

1. *Croissance du sarcome J chez la souris CBA.* — Le pourcentage de prise des greffons est de 100 dans des conditions strictement aseptiques. La tumeur est palpable dès le 4^e jour après l'inoculation; elle devient mesurable à partir du 6^e jour. Au début, la masse tumorale a une forme sphérique. Elle s'allonge ensuite progressivement et peut alors être assimilée à un ellipsoïde de révolution. Finalement, la progression ne s'effectue plus que selon 2 dimensions, et la tumeur prend un aspect en galette. Le mode d'expression choisi (\sqrt{ab}) fournit donc une appréciation qui reste valable quelle que soit la forme de la tumeur.

La croissance tumorale est purement locale, sans envahissement du plan sous-cutané, ni métastases visibles et l'ulcération est rarissime. La croissance du sarcome J chez la souris CBA s'effectue selon une progression linéaire jusqu'à la mort de l'animal. Elle ne présente ni variation temporaire ni ralentissement terminal; nous n'avons jamais observé de régression spontanée (fig. 3).

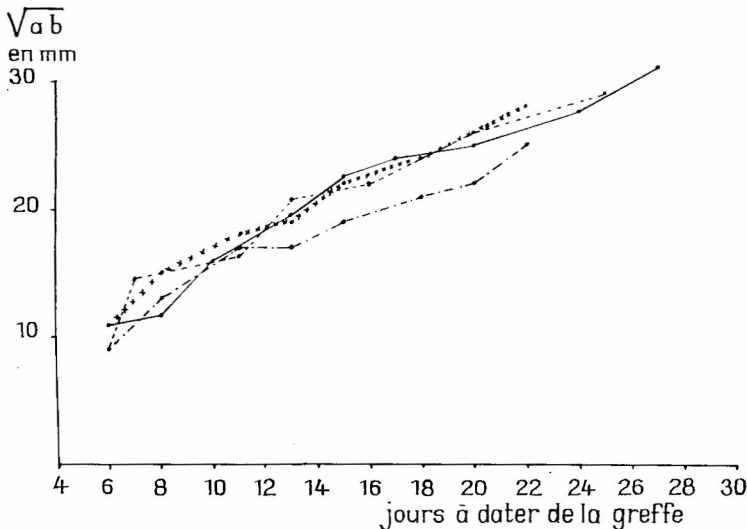


FIG. 3. — Croissance du Sarcome J chez la souris CBA mâle.

Le coefficient de croissance moyen, déterminé à partir des coefficients angulaires individuels, est égal à 0,9 (Tableau I).

La durée moyenne de survie est de 24 jours (Tableau I, fig. 4). Les observations portent sur un lot de 90 souris.

TABLEAU I. -- PARAMÈTRES DE LA CROISSANCE TUMORALE

Pente moyenne de la croissance tumorale exprimée par son coefficient angulaire et durée moyenne de survie des animaux. Les observations portent sur un lot de 90 souris mâles

Coefficient de croissance moyen	$0,9 \pm 0,22$
Durée moyenne de survie (en j).	$24 \pm 5,4$

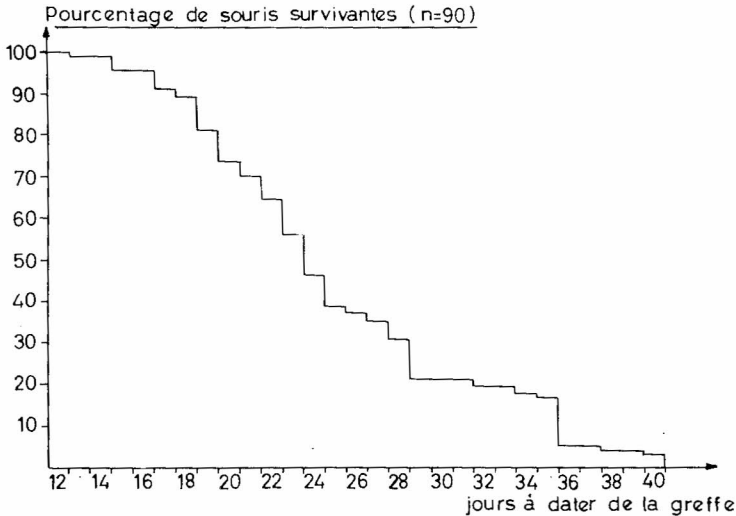


Fig. 4. — Durée moyenne de survie des animaux porteurs d'une greffe sarcomateuse.

2. *Immunisation de l'hôte au cours de la croissance tumorale.* — Des souris porteuses de sarcome J reçoivent un second greffon tumoral isologue après un délai variable par rapport à la greffe primaire. On peut distinguer trois types de réponse :

- a) le greffon tumoral ne se développe pas et est complètement résorbé;
- b) le greffon donne naissance à un petit nodule de la taille d'un grain de riz lequel reste stationnaire durant quelques jours puis finit par disparaître;
- c) le greffon se développe normalement et donne une tumeur mortelle.

Les résultats sont consignés dans le tableau II. Le taux de rejet d'une greffe-test pratiquée au 8^e jour de la croissance tumorale est de 40 p. 100. Ce taux de rejet tombe à 25 p. 100 si la greffe test a lieu au 15^e jour de la croissance du greffon primaire.

TABLEAU II. — DEGRÉ D'IMMUNISATION DE L'HÔTE AU COURS DE LA CROISSANCE TUMORALE
Taux de rejet d'une seconde greffe sarcomateuse pratiquée au 8^e et au 15^e jour de la croissance
d'un premier greffon tumoral

NOMBRE DE JOURS APRÈS LA GREFFE PRIMAIRE	TAUX DE REJET DE LA GREFFE-TEST	
	Nombre	%
8	21 / 52	40
15	11 / 43	25

3. *Réponse du sarcome J à une irradiation unique.* — Selon l'importance de la dose de radiations administrée, plusieurs éventualités peuvent se présenter :

a) CROISSANCE RETARDÉE : la croissance tumorale se ralentit durant 3 à 4 jours puis elle reprend selon un coefficient angulaire voisin de celui de la pente de croissance originelle et l'animal finit par mourir de sa tumeur.

b) GUÉRISON TEMPORAIRE : après une phase d'arrêt de croissance, la tumeur régresse régulièrement et disparaît. Une récurrence locale survient néanmoins dans un délai de 4 à 6 semaines après l'irradiation.

c) GUÉRISON DÉFINITIVE : la guérison locale persiste 2 mois après l'irradiation : l'animal est alors à l'abri de toute récurrence, il est définitivement guéri.

Le tableau III indique le degré de radiocurabilité du sarcome J sous l'effet de doses uniques croissantes. Pour chaque dose considérée, nous avons utilisé des lots d'une cinquantaine d'animaux. Cinquante pour cent des souris sont guéries

TABLEAU III. — RADIOCURABILITÉ DU SARCOME J

Influence de doses uniques croissantes (rayons γ de Co60, irradiation au 8^e jour de la croissance tumorale) sur le taux de guérison à 2 mois

DOSE MODALE (rads / tumeur)	TAUX DE GUÉRISON	
	Nombre	%
600	0 / 45	0
1 300	1 / 46	2
2 000	1 / 46	2
2 750	4 / 50	8
4 500	10 / 49	20
5 500	18 / 38	47
8 000	39 / 48	81
10 500	39 / 46	83
20 000	28 / 29	97

avec une dose/tumeur de 6 000 rads; il faut atteindre des doses de l'ordre de 20 000 rads pour guérir la quasi totalité des animaux d'expérience (fig. 5).

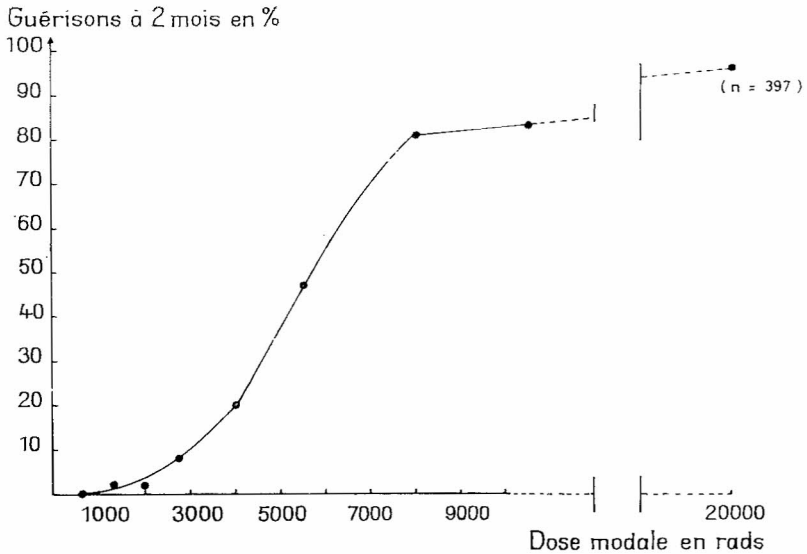


FIG. 5. — Degré de radiocurabilité du Sarcome J sous l'influence de doses uniques croissantes.

4. *Réaction auto-immune liée à l'irradiation tumorale.* — Huit jours après qu'une dose de 4 000 rads ait été délivrée à la tumeur, les animaux voient leur capacité de rejeter un isogreffon tumoral passer de 25 à 65 p. 100. Remarquons qu'une phase transitoire de dépression immunitaire est observée le lendemain de l'irradiation tumorale (Tableau IV).

TABLEAU IV. — RÉACTION AUTO-IMMUNE LIÉE A L'IRRADIATION TUMORALE
Taux de rejet d'une seconde greffe sarcomateuse pratiquée au 1^{er} et au 8^e jour après irradiation de la tumeur primaire (4 000 rads)

	TAUX DE REJET DE LA GREFFE-TEST	
	Nombre	%
Jour (1) après irradiation tumorale	6 / 38	16
Témoins non irradiés.	21 / 52	40
Jour (8) après irradiation tumorale	31 / 48	65
Témoins non irradiés.	11 / 43	25

5. *Effet d'une immunothérapie active spécifique.* — L'animal reçoit, 4 heures avant l'irradiation de sa tumeur, une inoculation de matériel tumoral isologue

stérilisé par 10 000 rads *in vitro*. Le tableau V indique que cette immunothérapie active spécifique améliore de façon notable la radiocurabilité du sarcome J : une dose moyenne de 4 000 rads guérit 2 fois plus d'animaux. Il est à noter la présence d'un « effet-seuil » : une dose de 500 rads ne voit pas ses effets modifiés par l'immunothérapie.

TABLEAU V. — INFLUENCE D'UNE IMMUNOTHÉRAPIE ACTIVE SPÉCIFIQUE SUR LE DEGRÉ DE RADIOCURABILITÉ DU SARCOME J

DOSE MODALE (rads /tumeur)	TAUX DE GUÉRISON			
	Nombre		%	
	Immunothérapie		Témoins	
600	0 /46	0	0 /45	0
1 300	6 /42	14	1 /46	2
4 000	21 /53	40	10 /49	20

6. *Immunité des souris guéries.* — Rappelons que dans ce protocole, les animaux reçoivent une greffe-test 2 mois après l'acte thérapeutique curatif (ligature, excrèse ou irradiation). Du tableau VI, il ressort que le degré d'immunité des souris

TABLEAU VI. — IMMUNITÉ DES SOURIS GUÉRIES

Taux de rejet d'une seconde greffe sarcomateuse pratiquée deux mois après traitement curatif d'un premier greffon tumoral

TRAITEMENT CURATIF	TAUX DE REJET DE LA GREFFE-TEST	
	Nombre	%
Ligature	5 /25	20
Excrèse	10 /30	33
4 000 rads	9 /27	33
8 000 rads	17 /33	51
10 500 rads	21 /35	60
20 000 rads	16 /28	57
4 000 rads + immunothé- rapie	13 /20	65

guéries diffère selon le mode thérapeutique. Les souris guéries par la méthode chirurgicale sont immunisées dans la proportion de 1 sur 3 environ. Une dose de 4 000 rads confère une immunité équivalente; de plus, le taux de rejet de la greffe-test croît à mesure que la dose curatrice augmente.

Le taux maximum est atteint pour des doses de l'ordre de 10 000 rads environ.

Les animaux guéris par la combinaison irradiation locale plus immunothérapie active spécifique, présentent un degré d'immunisation double de celui des animaux témoins.

IV. — Discussion

1. *Choix du système expérimental*

Notre modèle expérimental s'apparente aux greffes tumorales allogéniques : le sarcome J découvert chez une souris femelle C57 Black, est transplanté en série sur des souris CBA de race pure et de sexe masculin. Un double déterminant antigénique se trouve donc à l'origine des phénomènes observés. A la réponse immunologique aux antigènes de transplantation spécifiques de la tumeur s'ajoute inévitablement la réaction d'homogreffe dirigée contre les antigènes d'histocompatibilité tissulaire. Nous ne sommes pas en mesure d'évaluer la part de chaque facteur dans l'effet global. Toutefois, l'étroite parenté des deux types d'antigènes de transplantation (tumoral et tissulaire) est bien établie quant à leur contrôle génétique, leur pouvoir d'induire une immunisation, une tolérance ou une facilitation sérologique. Leurs caractères biochimiques, leur localisation cellulaire et leur sensibilité aux agents physiques et chimiques sont également fort voisins (Koldowsky, 1969).

Pour Möller (1965), l'étude des réactions immunitaires liées au développement des tumeurs allogéniques présente un intérêt considérable en tant que modèle expérimental de la croissance progressive d'une tumeur chez son hôte d'origine. De par la possession de néo-antigènes, une tumeur primaire peut, en effet, être considérée comme une homo-greffe vis-à-vis de cet hôte (Kaliss, 1965).

Il nous a donc paru justifié d'utiliser un système de transplantation tumorale allogénique pour aborder l'étude d'éventuels mécanismes d'ordre immunologique liés à la radiothérapie des cancers.

2. *Croissance tumorale et immunisation de l'hôte*

Chez la souris CBA mâle, la croissance tumorale s'effectue selon une progression linéaire, sans aucun ralentissement ni régression spontanée. Un certain degré d'immunisation de l'hôte peut être mis en évidence dès le 8^e jour après la greffe. La capacité de rejeter un isogreffon sarcomateux diminue ensuite à mesure que la tumeur primaire se développe. Notons que notre méthode ne décèle qu'une immunisation relativement forte (inoculation d'un nombre de cellules tumorales de l'ordre de 10^6).

Les réactions immunologiques associées à la croissance d'une tumeur transplantée chez un hôte histo-incompatible ont fait l'objet de plusieurs études (Möller, 1965, Takasugi, 1969, Gershon, 1969, Jacobs, 1970). Il semble que le développement progressif d'une tumeur allogénique soit la résultante d'une compétition entre processus immunitaires à effets contradictoires. Dans la plupart des cas, en

effet, une réponse immunologique de l'hôte peut être mise en évidence. Elle implique les mécanismes de l'immunité tant cellulaire qu'umorale : présence de lymphocytes spécifiquement sensibilisés et d'anticorps cytotoxiques en présence du complément.

Toutefois, cette défense active serait rendue inopérante par l'apparition d'une classe d'anticorps bloquants, responsables eux, d'une facilitation de la croissance tumorale.

Ce « self-enhancement » reçoit selon les auteurs, une interprétation du type central (Mikulska 1966, Barski 1969) ou de type efférent (Klein, 1970). La chronologie d'apparition des types de réaction immunitaire en présence, ainsi que que leur déterminisme, restent mal connus.

La réduction du pouvoir de rejet de la greffe-test que nous avons observée au cours de la croissance tumorale pourrait être l'expression de la prépondérance progressive de l'immunité humorale à effet facilitant. Elle ne peut pas, selon nous, être expliquée par un amoindrissement global du potentiel de défense de l'hôte. Une telle paralysie immunitaire n'apparaît en effet qu'au stade terminal des leucoses expérimentales et ne se rencontre pas au cours de l'évolution des tumeurs solides (Gelzer, 1968, Hellstrom, 1968).

3. Réaction auto-immune liée à l'irradiation tumorale

Une dose unique de 4 000 rads est délivrée à la tumeur au 8^e jour de sa croissance. Ce traitement ne ralentit le développement tumoral que durant quelques jours et 20 % seulement des animaux seront guéris deux mois plus tard.

Le lendemain de l'irradiation, le taux de rejet de la greffe-test est tombé de 40 à 16 p. 100. Cette réduction des capacités immunitaires pourrait être la conséquence d'une destruction de cellules immuno-compétentes, l'irradiation tumorale s'accompagnant inévitablement d'une exposition de l'hôte entier. Dans notre dispositif expérimental, la dose corporelle peut être estimée à 80 rads pour une dose de 4 000 rads à la tumeur.

La phase de dépression immunitaire n'est toutefois que transitoire. En effet, 8 jours après le traitement radiologique, 65 p. 100 des animaux rejettent un isogreffon tumoral. A ce moment, le taux de rejet chez les souris témoins, à tumeur non irradiée, n'est que de 25 p. 100. La radiothérapie a donc modifié la balance immunitaire de l'hôte vis-à-vis de sa tumeur. Un matériel antigénique supplémentaire a été mis à la disposition des macrophages et des conditions plus favorables à un rejet du greffon se sont installées.

Ainsi que nous en discuterons par après, l'irradiation pourrait, en outre, avoir provoqué une altération antigénique dans le sens d'une meilleure immunogénicité.

La question reste posée de déterminer dans quelle mesure cette réaction auto-immune liée à l'irradiation tumorale participe réellement à l'éradication

des cellules cancéreuses. Nous ne pouvons actuellement avancer aucune preuve directe d'un tel rôle. D'après les données de la littérature, il semble néanmoins qu'un hôte immunologiquement compétent constitue un facteur important de la radiocurabilité d'une tumeur. Les expériences de Van den Brenk (1961) ont en effet montré que la dose curatrice pour 50 p. 100 des animaux greffés d'une tumeur d'Ehrlich était 3,5 fois plus élevée chez les souris préalablement soumises à une irradiation totale de 250 rads que chez les animaux témoins.

Utilisant un adénocarcinome mammaire spontané en système isogénique chez les souris C3H, Cohen (1956 et 1960) a constaté qu'une immunosuppression (irradiation totale ou administration de cortisone) faisait passer la TCD 50 de 5 660 à 7 500 rads.

Powers (1967) a déterminé les variations de la TCD 50 pour le lymphosarcome de Gardner transplanté dans sa lignée d'origine. Elle est respectivement de 1 500 rads chez les hôtes témoins, de 3 200 rads chez les animaux à défenses immunologiques déprimées et de 400 rads chez des souris guéries d'une première greffe tumorale isologue.

Par contre, Suit (1968) a mis en évidence un certain degré d'immunisation chez des souris C3H guéries d'un adénocarcinome mammaire mais cette immunité était toutefois trop faible pour modifier la réponse d'une seconde greffe tumorale à une dose unique de radiations.

La dépression immunitaire transitoire consécutive à la radiothérapie nous paraît lourde d'implications pratiques. On peut en effet se demander si un tel phénomène n'est pas susceptible de se rencontrer en clinique cancérologique. Nous songeons plus particulièrement à certaines modalités thérapeutiques où de fortes doses de radiations sont administrées au niveau d'un grand volume-cible peu de temps avant l'exérèse chirurgicale de la tumeur.

Il se pourrait que l'intervention ait lieu à un moment où l'hôte est au plus bas de ses capacités de défense anti-tumorale et donc dans une phase éminemment propice à une dissémination métastatique. La recherche d'un intervalle de temps optimum séparant les deux actes thérapeutiques contribuerait à lever cette hypothèque.

4. Immunothérapie active spécifique et radiocurabilité

Une immunothérapie active spécifique est susceptible de modifier favorablement la réponse tumorale à une dose unique de radiations.

Cohen (1956) mentionne la « radiosensibilisation » obtenue vis-à-vis d'un adénocarcinome mammaire spontané par implantation d'un fragment tumoral isologue pré-irradié : dans ces conditions 4 200 rads guérissent 50 p. 100 des souris contre 0,1 p. 100 chez les animaux témoins.

Haddow et Alexander (1964) ont démontré, chez le rat, que l'effet de 2 000 rads

sur un fibrosarcome induit au benzopyrène, peut être considérablement augmenté par l'inoculation d'une autogreffe tumorale irradiée.

Dans l'un et l'autre cas, l'implantation de matériel tumoral stérilisé par irradiation est pratiquée dans le but d'amplifier les défenses immunitaires de l'hôte vis-à-vis de sa tumeur. Haddow et Alexander n'ont toutefois pas pu prouver la nature immunologique de la potentiation ainsi observée : ni la surrénalectomie, ni l'emploi d'adjuvants (BCG-acide oléique) ne modifient le phénomène.

Nous confirmons l'influence bénéfique d'une immunothérapie active spécifique sur la radiocurabilité tumorale :

- l'implantation préalable d'un isogreffon irradié double l'efficacité d'une dose donnée de radiations.

Nous démontrons, en outre, que dans nos conditions expérimentales le mécanisme d'action est bien d'ordre immunologique : les souris guéries de leur tumeur par l'association thérapeutique présentent un degré d'immunité double de celui des animaux témoins.

5. Immunité de guérison selon le mode thérapeutique

Nos expériences indiquent qu'un traitement chirurgical ou une radiothérapie à dose modérée, ne confère qu'une faible immunité aux animaux guéris. Par contre l'immunisation croît à mesure que la dose de radiations administrée augmente. Maruyama (1968) a montré que le « démasquage antigénique » des cellules lymphomateuses croissait avec leur durée d'exposition aux radiations ionisantes. Dans notre modèle expérimental l'importance de l'irradiation pourrait conditionner de la même manière le degré d'altération du matériel antigénique. La dose de 10 000 rads constituerait l'optimum de dose nécessaire à l'exaltation de l'antigénicité.

Ainsi s'expliquerait l'immunisation maximum obtenue par une immunothérapie active spécifique administrée conjointement à une dose de radiations qui, par elle-même, ne se révèle que très faiblement inductrice (isogreffon irradié à 10 000 rads et dose/tumeur de 4 000 rads).

Tout en nous gardant de transposer directement à la thérapie des cancers humains en général une situation existant au niveau d'un système hôte-tumeur bien particulier, nous pensons que certaines implications pourraient découler de nos expériences. Eu égard au problème de la dissémination métastatique et à celui des récidives tardives, il ne nous paraît pas indifférent d'obtenir l'éradication d'une tumeur primaire par l'une ou l'autre forme de traitement quelle qu'elle soit. Certaines associations radiochirurgicales judicieusement combinées ou des modalités particulières de radiothérapie pourraient présenter sur d'autres types de traitement l'avantage d'induire une meilleure immunisation de l'hôte. A l'opposé, une séquence thérapeutique appliquée sans discernement aurait pour conséquence d'affaiblir la défense anti-tumorale.

RÉSUMÉ

Utilisant comme système expérimental le sarcome J en transplantation allogénique chez la souris CBA, nous avons étudié les répercussions de l'irradiation tumorale sur le status immunitaire de l'hôte. Le rejet d'un second greffon sarcomateux a été pris comme critère d'immunité anti-tumorale.

Dans ces conditions expérimentales, nous avons démontré les faits suivants :

1° Après une phase transitoire de dépression immunitaire le traitement radiologique est à l'origine d'une réaction auto-immune de l'hôte contre sa tumeur.

2° Chez les animaux guéris d'un premier sarcome, le taux de rejet d'une greffe-test est d'autant plus important que la dose curatrice est élevée.

3° L'immunité des souris traitées par de hautes doses de radiations est supérieure à celle des souris guéries par la chirurgie.

4° Une immunothérapie active spécifique augmente notablement la réponse tumorale à une dose unique de radiations. De plus, cette association thérapeutique confère aux animaux guéris un degré d'immunité maximum.

Ces résultats sont discutés.

Service de Radiothérapie (Pr CLOSON), Hôpital Universitaire de Bavière, Liège.

REMERCIEMENTS

M. G. LENNES, Chef de travaux au Service de Génétique humaine, a bien voulu se charger du traitement de nos données par ordinateur. Nous le remercions vivement de son aide compétente et toujours aimable.

Tout au long de la conduite de ces expériences, M. E. PIERARD et M^{lle} M. ÉVRARD nous ont apporté leur aide technique en ne ménageant ni leurs efforts ni leur temps. Nous tenons à leur exprimer nos plus vifs remerciements.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) BARSKI (G.) et KOO (J.). — Evolution of cell-mediated immunity in mice bearing an antigenic tumor. Influence of tumor growth and surgical removal. *J. nat. Cancer Inst.*, 1969, **43**, 111-120.
- (2) BETZ (E. H.). — Immunisation de souris C57 Bl par un sarcome spontané provenant d'une souris de même race. Biological problems of Grafting. Les Congrès et Colloques de l'Université de Liège, 1959.
- (3) CHEVALIER (P.). — Mise en évidence d'une immunité chez la souris CBA greffée de sarcome J. *C. R. Soc. Biol. (Paris)*, 1965, **159**, 2271.
- (4) COHEN (A.) et COHEN (L.). — Radiobiology of the C3H mouse mammary carcinoma : increased radiosensitivity of the tumour induced by inoculation of the host with radiation attenuated isografts. *Brit. J. Cancer*, 1956, **10**, 312-317.
- (5) COHEN (A.) and COHEN (L.). — Estimation of the cellular lethal dose and the critical cell number for the C3H mouse mammary carcinoma from radiosensitivity studies *in vivo*. *Nature (Lond.)*, 1960, **185**, 262-263.

- (6) FOLEY (E. J.). — Antigenic properties of methylcholantrene induced tumors in mice of the same strain of origin. *Cancer Res.*, 1953, **13**, 835-837.
- (7) GELZER (J.) et DIETRICH (F.). — Haemagglutinin production in tumour bearing and leukaemic mice. *Int. J. Cancer*, 1968, **3**, 51-60.
- (8) GERSHON (R. K.) et CARTER (R. L.). — Factors controlling concomitant immunity in tumor bearing hamsters : effects of prior splenectomy and tumor removal. *J. nat. Cancer Inst.*, 1969, **43**, 533-543.
- (9) HADDOW (A.) et ALEXANDER (P.). — An immunological method of increasing the sensitivity of primary sarcomas to local irradiation with X rays. *Lancet*, 1964, **1**, 452-457.
- (10) HELLSTROM (I.), HELLSTROM (K.) et PIERCE (G.). — *In vitro* studies of immune reactions against autochthonous and syngenic mouse tumors induced by cholantrene and plastic discs. *Int. J. Cancer*, 1968, **3**, 467-482.
- (11) HEWITT (H. B.) et WILSON (C. W.). — A survival curve for mammalian leukemia cells irradiated *in vivo* : implications for treatment of mouse leukemia by whole-body irradiation. *Brit. J. Cancer*, 1959, **13**, 69-75.
- (12) JACOBS (B.). — Altered host-allograft relationships for mouse tumors modified by prior passage *in vitro* and *in vivo*. *J. nat. Cancer Inst.*, 1970, **45**, 263-268.
- (13) KALISS (N.). — Immunological enhancement and inhibition of tumor growth : relationship to various immunological mechanisms. *Fed. Proc.*, 1965, **24**, 1024-1029.
- (14) KLEIN (G.), SJOGREN (H. O.), KLEIN (E.) et HELLSTROM (K. E.). — Demonstrations of resistance against methylcholantrene induced sarcomas in the primary autochthonous host. *Cancer Res.*, 1960, **20**, 1561-1572.
- (15) KLEIN (E.). — The cell surface in immune response. *Europ. J. Cancer*, 1970, **6**, 15-22.
- (16) KOLDOVSKY (P.). — *Tumor-specific transplantation antigens. Recent results in Cancer Research*. (Springer, édit.), Berlin, 1969.
- (17) MARYAMA (Y.). — Dose-dependent recognition of irradiated isogenic mouse lymphoma cells : study by terminal dilution assay. *Int. J. Cancer*, 1968, **3**, 593-602.
- (18) MARYAMA (Y.), ACKERMAN (E.) et KHAN (F. M.). — Inactivation of an X-irradiated tumor by independent processus *in vivo*. *Int. J. Cancer*, 1969, **4**, 793-798.
- (19) MIKULSKA (Z. B.), SMITH (C.) et ALEXANDER (P.). — Evidence for an immunological reaction of the host directed against its own actively growing primary tumor. *J. nat. Cancer Inst.*, 1966, **36**, 29-35.
- (20) MOLLER (E.). — Interaction between tumor and host during progressive neoplastic growth in histo-incompatible recipients. *J. nat. Cancer Inst.*, 1965, **35**, 1053-1059.
- (21) POWERS (W. E.), PALMER (L. A.) et TOLMACH (L. J.). — Cellular radiosensitivity and tumour curability. *Nat. Cancer Inst. Monogr.*, 1967, **24**, 169-185.
- (22) PREHN (R. T.) et MAIN (J. M.). — Immunity to methylcholantrene-induced sarcomas. *J. nat. Cancer Inst.*, 1957, **18**, 769-778.
- (23) PUCK (T. T.) et MARCUS (P. I.). — Action of X rays on mammalian cells. *J. exp. Med.*, 1956, **103**, 653-666.
- (24) RUBIN (P.) et CASARETT. — *Clinical radiation pathology*. Vol. II (W. B. Saunders Co, édit.), Philadelphia, 1968.
- (25) STENSTROM (K. W.), VERMUND (H.), MOSSER (D. G.) et MARVIN (J. F.). — Effect of roentgen irradiation in the tumor bed. The inhibiting action of local pretransplantation roentgen irradiation on the growth of mouse mammary carcinoma. *Radiat. Res.*, 1955, **2**, 180-191.
- (26) SUIT (H.) et KASTELAN (A.). — Tumor control by irradiation : a C3H/He mouse mammary carcinoma MTA + and MTA - mice. *J. nat. Cancer Inst.*, 1968, **40**, 945-950.
- (27) TAKASUGI (M.) et HILDEMAN (W. H.). — Regulation of immunity towards allogenic tumors in mice.
 - I. Effect of antiserum fractions on tumor growth.
 - II. Effect of antiserum and antiserum fractions on cellular and humoral response.*J. nat. Cancer Inst.*, 1969, **43**, 843-868.
- (28) VAN DEN BRENK (H. A. S.). — Effect of high pressure oxygen on radiosensitivity of Ehrlich's tumor in mice after immunological approximation. *Brit. J. Cancer*, 1961, **15**, 61-84.

*SUMMARY***Tumour radiotherapy and immune status
of the host in an allogenic system**

by J. M. DENEUFBOURG

Using as an experimental system J sarcoma allogenic transplant through the CBA mouse, the authors studied the effects of irradiation of tumour on the immune status of the host. Rejection of a second sarcoma graft was used as the criterion of anti-tumour immunity.

Under these experimental conditions, the following factors were demonstrable :

- 1) After a transitory phase of depression of the immune system radiotherapy forms the basis of an auto-immune reaction of the host against its tumour.
- 2) In animals cured of the first sarcoma, the level of rejection using a graft test is of rising importance as the curative dose is raised.
- 3) The immunity of mice treated by high doses of irradiation is superior to that of mice cured by surgery.
- 4) A specific active immunotherapy markedly increases the tumour response to a single dose of radiation. Moreover, this therapeutic association confers on the cured animals a maximum degree of immunity.

The results are discussed.

*RESUMEN***Radioterapia tumoral y estatus inmunitario del huésped
en un sistema alógeno**

por J. M. DENEUFBOURG

Utilizando como sistema experimental el sarcoma J en trasplante alogénico en el ratón CBA, el autor ha estudiado las repercusiones de la irradiación tumoral sobre el estatus inmunitario del huésped. El rechazo de un segundo injerto sarcomatoso fue tomado como criterio de inmunidad antitumoral.

En estas condiciones experimentales, el autor ha demostrado los hechos siguientes :

- 1) Después de una fase transitoria de depresión inmunitaria el tratamiento radioterápico está en el origen de una reacción autoinmune del huésped contra su tumor.
- 2) En los animales curados de un primer sarcoma, la tasa de rechazo de un injerto es tanto más importante cuanto la dosis curativa es elevada.
- 3) La inmunidad de los ratones tratados por altas dosis de radiaciones es superior a la de los ratones curados por la cirugía.
- 4) Una inmunoterapia activa específica aumenta notablemente la respuesta tumoral a una dosis única de radiaciones. Además, esta asociación terapéutica confiere a los animales curados un grado de inmunidad máximo.

Estos resultados son objeto de discusión en este trabajo.