

UNIVERSITE DE LIEGE
FACULTE DE MEDECINE
Laboratoire d'Anatomie Pathologique

LE MICROENVIRONNEMENT THYMIQUE ET LES CELLULES
PRELEUCEMIQUES AU COURS DU DEVELOPPEMENT DES
LYMPHOMES INDUITS CHEZ LA SOURIS
ROLE DES CELLULES "NURSES" THYMIQUES

Marie Paule DEFRESNE
CHERCHEUR AU FONDS DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE MEDICALE

Thèse présentée en vue de l'obtention du grade
d'Agrégé de l'Enseignement Supérieur

1986

DEFRESNE MP 25

THESES ANNEXES

1. Le composant épithélial des cellules "nurses" thymiques contient des hormones neurohypophysaires (Observations en collaboration).

2. L'hybridation in situ est une méthode de choix pour la détection des oncogènes au niveau tissulaire (Observations personnelles).

3. On peut mettre en évidence des modifications au niveau des sous-populations de lymphocytes T dans certains cas de thymomes humains (Observations en collaboration).

Mon Maître, le Professeur E.H.BETZ, a suivi attentivement toutes les étapes de ce travail et m'a fait part de ses conseils et critiques constructifs. Il a relu et discuté en détail ce mémoire. Je lui exprime ma profonde gratitude.

Mon premier contact avec la recherche s'est fait dans le Laboratoire d'Anatomie pathologique, où j'ai bénéficié des conseils du Professeur L.J.SIMAR; il a contribué à ma formation; je l'en remercie.

Le Docteur J.BONIVER m'a aidée tout au long de mes recherches par ses conseils judicieux et ses encouragements. Je désire tout particulièrement le remercier pour la confiance qu'il n'a cessé de me témoigner.

Je suis reconnaissante au Professeur H.WEKERLE de m'avoir accueillie dans son Laboratoire; j'ai eu l'occasion d'y rencontrer le Docteur NACHAYAMA qui m'a initiée à certaines techniques de culture cellulaire.

J'ai eu l'occasion de séjourner dans le Laboratoire de Biologie Cellulaire et de Génétique de l'Université Erasme à Rotterdam: je remercie les Docteurs W.VAN EWYJK, E.VAN VLIET, R.WILLEMSSEN, H.VAN DONGEN, ainsi que Mme M.MELIS et Mr P.VISSERS pour leur précieuse aide scientifique et technique.

Le Professeur J.CLOSON a bien voulu mettre à ma disposition l'un des irradiateurs de son Service. Je l'en remercie profondément.

Je suis reconnaissante au Professeur G.GOFFINET ainsi qu'aux Docteurs R.COURTOY, R.GREIMERS, P.LENAERTS, P.LELIEVRE DE STAUMONT et A.VARLET qui ont collaboré à la réalisation de certaines expériences.

J'ai trouvé une assistance technique précieuse auprès de Mmes J.NIESSEN-RENSON et E.FRANZEN et de MM.Th.DESSART, C.DUMOULIN, N.GONDA et R.LATET. Mr.G.CHEVALIER du Service de Radiothérapie m'a apporté son aide efficace. Madame A.LISIN a dactylographié le mémoire, MM. G.RIGHETTI et D.BOURGUIGNON en ont réalisé l'iconographie. A tous, j'adresse mes remerciements.

Mes recherches ont bénéficié du soutien matériel du Fonds de la Recherche Scientifique Médicale, du Centre Anticancéreux près l'Université de Liège et de la Fondation Braconnier-Lamarche.

TABLE DES MATIERES

	pages
INTRODUCTION GENERALE	1
BUT ET PLAN DU TRAVAIL	9
TECHNIQUES GENERALES	13
1. Animaux	13
2. Injections intrathymiques et thymectomies	13
3. Conditions d'irradiation	14
4. Méthodes de prélèvement	14
5. Greffe de moelle	15
6. Virus	15
7. Isolement des CNTs	16
8. Elimination des cellules Thy-1.2 par anticorps et complément	20
9. Culture de cellules	21
10. Test de détection des cellules préleucémiques	21
11. Méthodes d'examen	23

PREMIERE PARTIE

INTRODUCTION

31

CHAPITRE I.- IDENTIFICATION DES TYPES CELLULAIRES
DU MICRO-ENVIRONNEMENT THYMIQUE

Introduction	37
Réactivité de l'anticorps ER-TR3	45
Réactivité de l'anticorps ER-TR4	48
Réactivité de l'anticorps ER-TR5	48
Réactivité de l'anticorps ER-TR6	48
Réactivité de l'anticorps ER-TR7	50
Discussion	51

CHAPITRE II.- ETUDE DES CNTs DANS UN THYMUS NORMAL

Introduction	55
1. Morphologie des CNTs	57
2. Nombre de CNTs par thymus - nombre de lymphocytes par CNT	60
3. Localisation intrathymique des CNTs	63
4. Mise en évidence des CNTs <u>in situ</u>	65
5. Phénotype des cellules épithéliales des CNTs	71
6. Phénotype des lymphocytes des CNTs	73
7. Activité mitotique des lymphocytes associés aux CNTs	79
Discussion	81

CHAPITRE III.- ETUDE DU ROLE DES CNTs DANS LA
LYMPHOPOIESE THYMIQUE

Introduction	87
1. Evolution des CNTs après une irradiation corporelle totale à dose sub létale	89
2. Evolution des CNTs après une irradiation corporelle totale à dose sub létale suivie d'une greffe de moelle	92
3. Relations entre les prothymocytes migrant de la moelle vers le thymus et les CNTs	94
Discussion	99

<u>CHAPITRE IV.- ETUDE DES INTERACTIONS LYMPHO-EPITHE-</u>	105
<u>LIALES AU SEIN DES CNTs</u>	105
Introduction	107
Résultats	113
Discussion	116
Résumé des apports personnels de la 1ère partie	
 <u>DEUXIEME PARTIE</u>	
 <u>INTRODUCTION</u>	117
 <u>CHAPITRE I.- RELATIONS ENTRE LES CELLULES CIBLES,</u>	
<u>LES PREMIERES CELLULES LYMPHOIDES</u>	119
<u>PRODUCTRICES DE VIRUS ET LES CNTs</u>	119
Introduction	
1. Recherche des premières cellules productrices de virus dans les CNTs	120
2. Recherche des "cellules cibles" au sein des CNTs	128
3. Mise en évidence de la phosphatase alcaline sur la membrane des premières cellules assurant la réplication virale	131
Discussion.	133
 <u>CHAPITRE II.- DETECTION ET CARACTERISATION DES</u>	
<u>CELLULES PRELEUCEMIQUES APRES INJEC-</u>	137
<u>TION DE RADLV</u>	137
Introduction	
1. Recherche de cellules préleucémiques dans la moelle et dans le thymus après injection de RadLV/VL3	138
2. Recherche de cellules préleucémiques dans la moelle après élimination des cellules expri- mant l'antigène Thy-1	143
Discussion	147

<u>CHAPITRE III.- RELATIONS ENTRE LES CELLULES</u>	
	<u>PRELEUCEMIQUES THYMIQUES ET LES CNTs</u> 151
Introduction	151
1. Evolution des CNTs au cours de la période préleucémique	153
2. Recherche de cellules préleucémiques	155
Discussion	157
 <u>CHAPITRE IV.- RELATIONS ENTRE LA MOELLE ET LE THYMUS</u>	
	<u>AU COURS DE LA PERIODE PRELEUCEMIQUE</u> 163
Introduction	163
1. Activité prothymocytaire au sein des moelles prélevées chez des animaux préleucémiques	164
2. Interactions entre lymphocytes jeunes et cellules épithéliales provenant de CNTs préleucémiques	166
Discussion	168
 <u>CHAPITRE V.- CORRELATION ENTRE L'EXPRESSION DE</u>	
	<u>PHOSPHATASE ALCALINE ET L'APPARITION</u>
	<u>DE LYMPHOMES</u> 171
Introduction	171
Résultats	173
Discussion	177
Résumé des apports personnels de la 2e partie	180
 <u>TROISIEME PARTIE</u>	
 <u>INTRODUCTION</u>	 181
 <u>CHAPITRE I.- INTERACTIONS MOELLE-THYMUS ET EVOLUTION</u>	
	<u>DES CNTs APRES IRRADIATION FRACTIONNEE</u> 185
Introduction	185
1. Modifications induites par un schéma d'irradiation leucémogène (4 X 175 R)	187
2. Influence d'une greffe de moelle normale sur les effets du traitement leucémogène	190

3.	Interactions entre la moelle et le thymus pendant la période préleucémique	192
4.	Interactions lympho-épithéliales pendant la période préleucémique	198
	Discussion	200

CHAPITRE II.- DETECTION DE CELLULES PRELEUCEMIQUES APRES UNE IRRADIATION FRACTIONNEE EVENTUELLEMENT SUIVIE D'UNE GREFFE DE MOELLE NORMALE 207

Introduction 207

1.	Détection de cellules préleucémiques après une irradiation fractionnée	208
2.	Détection de cellules préleucémiques après une irradiation fractionnée accompagnée d'une greffe de cellules médullaires normales	212

Discussion 218
Résumé des apports personnels de la 3e partie 225

RAPPEL DES RESULTATS PERSONNELS 227

DISCUSSION GENERALE 231

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 251

INTRODUCTION GENERALE

Les tumeurs spontanées ou induites expérimentalement résultent de l'action d'un agent cancérigène sur des cellules qui sont particulièrement sensibles à ses effets (cellules cibles). La formation de tumeurs n'est pas immédiate : elle se fait le plus souvent en plusieurs étapes. Généralement, une longue période s'écoule entre le moment où l'agent cancérigène agit sur les cellules et le moment où la tumeur apparaît. Durant cette période de "latence", les cellules restent sous le contrôle de facteurs épigénétiques, soit des hormones, soit des facteurs de microenvironnement tissulaire. Des perturbations de ces facteurs pourraient contribuer au développement des cancers.

Les lymphomes (1) T murins représentent un modèle de choix pour étudier l'influence de ces facteurs épigénétiques. Ces tumeurs apparaissent spontanément dans certaines lignées de souris telles que AKR et C58 (Metcalf, 1966a); dans d'autres souches, telles C57BL et C3H, elles peuvent être induites par des facteurs exogènes, entre autres, les radiations ionisantes (Krebs et al., 1930; Furth et Furth, 1936), des agents chimiques (Gardner,

(1) Ces tumeurs, qui sont de vrais "lymphomes", sont désignées dans la littérature par les termes de "leucose", "leucémie", "lymphosarcome" ou "lymphome". Pour cette raison, les termes "leucémogène", "leucémogénèse" et "préleucémique" sont fréquemment utilisés.

1937; Lacassagne, 1937; Furth et Furth, 1938; Morton et Mider, 1938; Doell et Carnes, 1962), des stimulus immunologiques (Schwartz et Beldotti, 1965) ou des rétrovirus (Kaplan, 1967; Gross, 1970). L'apparition de ces lymphomes peut être prévenue par une thymectomie (Mc Endy et al., 1944; Kaplan, 1950, 1967; Kaplan et Lieberman, 1976; Lieberman et Kaplan, 1976;).

Un des modèles de leucémogénèse fréquemment étudié est l'induction de lymphomes chez la souris C57BL par une irradiation fractionnée ou par l'injection du virus des radioleucoses (RadLV).

Les animaux ainsi traités développent des tumeurs thymiques après une période de latence qui varie de 3 à 12 mois (Kaplan, 1967). Le RadLV est un rétrovirus de type C, obtenu initialement par Lieberman et Kaplan en 1959 à partir de lymphomes induits par une irradiation fractionnée chez des souris C57BL/Ka (Lieberman et Kaplan, 1959). De multiples travaux ont été consacrés à la définition des propriétés biologiques, sérologiques et structurales de ce virus (Lieberman et Kaplan, 1966, 1976; Declève et al., 1970, 1974 a b c, 1976, 1977 a b, 1978; Lieberman et al., 1973, 1977, 1978; Kaplan et Lieberman, 1976; Manteuil-Brutlag et al., 1980; Grymes et al., 1983). Ils ont permis de démontrer que le RadLV est un agent thymotrope et leucémogène (Declève et al., 1976). En effet, les premiers signes de répllication virale ainsi que les premiers foyers néoplasiques apparaissent dans le cortex externe du thymus (Declève et al., 1975).

La présence du thymus est essentielle pour le développement d'un lymphome, que ce soit après une irradiation (Kaplan, 1950) ou après une injection de virus (Kaplan et Lieberman, 1976; Lieberman et Kaplan, 1976).

Si, comme nous allons le voir, cet organe est une des sources de cellules cibles pour ces agents leucémogènes, il constitue aussi le site obligé pour que ces cellules puissent évoluer vers la formation d'une tumeur.

Le modèle de cancérogénèse que nous venons de décrire soulève de multiples questions, notamment celle du mode d'action des agents cancérogènes (irradiation ou virus des radioleucoses) et celle du thymotropisme sélectif de ces agents.

Le mode d'action du virus des radioleucoses est encore mal connu. Au contraire de certains virus leucémogènes aviaires ou murins, le génome du RadLV ne contient pas d'oncogène capable d'induire la transformation néoplasique des cellules cibles dans lesquelles il s'intègre. Des études de biologie moléculaire indiquent que RadLV, et d'autres virus analogues, s'insèrent sous forme de DNA proviral dans le génome cellulaire et agissent alors sur d'autres gènes cellulaires, qui eux seraient potentiellement oncogènes (Janowski et al., 1982).

Le mécanisme par lequel l'irradiation induit la cancérisation des cellules lymphoïdes est encore moins bien connu. Les travaux réalisés par Kaplan et Brown (1954) et par Kaplan et al. (1956) ainsi que par Law et Potter (1956) démontrent que les cellules qui subissent la cancérisation ne doivent pas nécessairement subir l'irradiation leucémogène. En d'autres termes, le traitement induirait la libération d'un "agent" ou d'un "facteur" capable de transformer les cellules lymphoïdes du thymus. On ignore encore si cet agent est un virus.

On a établi que les agents leucémogènes trouvent dans le thymus des cellules sensibles à leur action (Kaplan, 1961, 1967; Lieberman et Kaplan, 1966;

Kaplan et Lieberman, 1976). Ce sont des lymphocytes immatures. Dans le cas des lymphomes induits par le RadLV, elles ont été bien caractérisées. Leurs propriétés phénotypiques permettent de les situer au stade le plus précoce de la lymphopoïèse thymique (Boniver et al., 1981a) et leur sensibilité paraît directement liée à leur stade de différenciation. Toutefois, d'autres organes comme le foie foetal, la moelle osseuse et la rate des animaux adultes contiennent également des cellules qui, après infection in vitro par le RadLV, peuvent donner naissance à une tumeur lorsqu'on les injecte à un animal syngénique (Lieberman et Kaplan, 1966; Kaplan, 1967; Kaplan et Lieberman, 1976; Haran Ghera, 1977; Boniver et al., 1980).

La présence du thymus est absolument indispensable pour que ces cellules cibles, quelle que soit leur origine, donnent naissance à un lymphome. En effet, l'injection de thymocytes ou de cellules médullaires infectées in vitro n'aboutit à la formation d'un lymphome que si le receveur est intact ou encore si le receveur thymectomisé a préalablement reçu une greffe thymique (Kaplan et Lieberman, 1976). L'injection de cellules cibles infectées in vitro chez les animaux simplement thymectomisés est inefficace.

Le "microenvironnement" qui existe dans le thymus semble donc nécessaire pour que les cellules cibles évoluent vers la cancérisation (Law, 1957; Kaplan, 1967, 1974, 1977). Diverses observations indiquent même que cet effet s'exerce pendant une période assez longue au cours de la leucémogénèse. En effet, les animaux thymectomisés porteurs d'une greffe thymique et traités par le RadLV développent beaucoup moins de lymphomes si le greffon est enlevé, même si l'exérèse est réalisée 8 semaines après l'inoculation du virus. La transplantation de ces greffons à un deuxième receveur entraîne la formation de tumeurs après un délai très court. Cette observation suggère que,

au cours de la leucémogénèse, les cellules qui ont été touchées par le virus leucémogène restent pendant longtemps sous la dépendance du microenvironnement thymique tout en subissant des modifications qui les rendent capables d'induire une tumeur.

Ceci fut confirmé par la mise en évidence de "cellules préleucémiques" durant la longue période de latence qui précède l'apparition des tumeurs. Décrites pour la première fois par Haran Ghera (1973), elles furent d'abord décelées chez des souris qui avaient été traitées par des carcinogènes chimiques et ne présentaient aucun signe indiquant la présence d'une tumeur (Haran Ghera, 1973). Le comportement de telles cellules est différent des cellules récoltées à partir de lymphomes bien établis. Les cellules préleucémiques injectées à des animaux thymectomisés ne provoquent pas de lymphomes alors qu'elles donnent naissance à une tumeur chez des animaux porteurs d'un thymus (Haran Ghera, 1978a; Haran Ghera et al., 1978).

Toutes ces observations indiquent clairement que le microenvironnement thymique joue un rôle essentiel dans la leucémogénèse (Kaplan, 1950, 1967, 1974, 1977; Kaplan et Brown, 1954; Law, 1957; Kaplan et Lieberman, 1976; Lieberman et Kaplan, 1976), tout comme il intervient dans les mécanismes qui contrôlent normalement la production de lymphocytes T (Stutman et al., 1970; Cantor et Weissman, 1976; Bevan, 1977; Trainin et al., 1977; Zinkernagel et al., 1977, 1978; Zinkernagel, 1978; Stutman, 1978; Robinson, 1980; Jordan et Robinson, 1981). Certains auteurs ont même suggéré que la cancérisation du thymus était due au dérèglement de ces mécanismes physiologiques (Weissman et al., 1977; Mc Grath et Weissman, 1978, 1979.). Aussi, la connaissance des processus normaux de la lymphopoïèse thymique et l'analyse des perturbations qui y sont induites par les agents cancérogènes devraient-elles permettre de mieux comprendre la pathogénie des lymphomes.

Rappelons que c'est au sein du thymus que sont produits de façon constante les lymphocytes T. Leurs précurseurs, appelés prothymocytes, proviennent de la moelle hématopoïétique (Komuro et Boyse, 1973; Komuro et al., 1975; Basch et Kadish, 1976, 1977; Basch et al., 1978, Legrand et al., 1979). Durant leur séjour à l'intérieur du thymus, ils prolifèrent (Sainte-Marie et Leblond, 1964; Bryant, 1972) et se différencient en cellules T immunologiquement compétentes (Weissman, 1973; Fathman et al., 1975; Kapp et al., 1975; Cantor et Weissman, 1976; Stutman, 1978; Widmer et Cooper, 1979; Kruisbeek et al., 1980; Wagner et al., 1980a, b; Ceredig et al., 1982, 1983a; Ceredig et Mac Donald, 1982; Scollay, 1982, 1983; Chen et al., 1982, 1983 a, b; Good et al., 1983; Scollay et Shortman, 1983; Scollay et al., 1984a; Reichert et al., 1984; Smith, 1984; Van Ewijk, 1984; Kiesielow et al., 1984; Fink et al., 1984, 1985). Au cours de ce processus, les cellules T acquièrent la capacité de reconnaître et de tolérer les constituants de l'organisme. Selon Jerne (1971), des interactions entre des récepteurs présents sur la membrane des précurseurs lymphocytaires et des antigènes membranaires codés par les gènes du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) présents sur les cellules non lymphoïdes de la trame thymique sont indispensables pour l'acquisition de cette capacité de reconnaissance. Cette conception est étayée par de nombreux arguments expérimentaux (Jerne, 1971; Bevan, 1977; Zinkernagel et al., 1977, 1978, 1979, 1980; Bevan et Fink, 1978; Fink et Bevan, 1978; Von Boehmer et al., 1978; Zinkernagel, 1978; Doherty et Bennink, 1980; Jenkinson et al., 1980; Longo et Schwartz, 1980; Kruisbeek et al., 1983, 1985; Longo et Davis, 1983; Zepp et al., 1984 a, b; Golding et al., 1985).

Des interactions entre les cellules lymphoïdes thymiques (thymocytes) et les cellules de la trame semblent indispensables pour induire les différents phénomènes de différenciation. Il est probable qu'interviennent

une production de facteurs solubles (Komuro et Boyse, 1973; Bach et Carnaud, 1976; Kruisbeek et al., 1977, 1978, 1980; Trainin et al., 1977, 1983; Kruisbeek, 1979; Kruisbeek et Astaldi, 1979; Bach et Goldstein, 1980) et des contacts directs avec les cellules stromales (Jerne, 1971; Bevan, 1977; Zinkernagel et al., 1977, 1978, 1979, 1980; Bevan et Fink, 1978; Fink et Bevan, 1978; Von Boehmer et al., 1978; Zinkernagel, 1978; Doherty et Bennink, 1980; Jenkinson et al., 1980; Longo et Schwartz, 1980; Kruisbeek et al., 1983 et 1985; Longo et Davis, 1983; Golding et al., 1985). Le stroma thymique est formé de cellules épithéliales, de macrophages et de cellules interdigitantes (Clark, 1963; Hoshino, 1963; Van Haelst, 1967; Hwang et al., 1974; Bearman et al., 1978; Jordan et Crouse, 1979; Klug et Mager, 1979; Loor, 1979; Von Gaudecker et Müller-Hemelink, 1980; Duijvestijn et Hoefsmits, 1981; Kingston et al., 1984; Van de Wijngaert et al., 1984; Demaagd et al., 1985;). Quoique leurs rôles respectifs ne soient pas encore entièrement connus, le développement de méthodes d'isolement de populations pures a ouvert la voie à des recherches nouvelles. Ainsi en est-il de la mise au point d'une technique qui permet l'isolement des complexes lympho-épithéliaux dénommés "cellules nurses thymiques" (CNTs) (Wekerle et Ketelsen, 1980 a, b; Wekerle et al., 1980).

Les CNTs obtenues par dissociation enzymatique du thymus sont des éléments épithéliaux de grande taille associés à des lymphocytes (Wekerle et Ketelsen, 1980 a, b; Wekerle et al., 1980). Les prolongements cytoplasmiques des cellules épithéliales enveloppent complètement les cellules lymphoïdes qui ne sont pas altérées. Au contraire, tout indique que ces dernières bénéficient de conditions de microenvironnement idéales qui facilitent leur survie et leur différenciation; 50% de ces lymphocytes seraient engagés dans le cycle cellulaire et des figures mitotiques sont fréquemment observées (Wekerle et Ketelsen, 1980 a, b; Wekerle et al., 1980).

Selon Wekerle, ces complexes lympho-épithé-
liaux joueraient un rôle primordial dans les premières
étapes de la lymphopoïèse thymique. En effet, la membrane
plasmique des cellules épithéliales des CNTs contient des
glycoprotéines dont l'expression est codée par les gènes
du complexe majeur d'histocompatibilité (Wekerle et Ketel-
sen, 1980 b; Wekerle et al., 1980). Comme nous l'avons
déjà mentionné, de tels antigènes membranaires présents
sur les cellules du stroma thymique seraient reconnus par
les précurseurs des lymphocytes T et ces interactions
joueraient un rôle critique dans l'induction de la proli-
fération et de la différenciation des cellules T au sein
du thymus. Ces conceptions ont amené Wekerle à formuler
l'hypothèse suivante : la "reconnaissance" entre les pré-
curseurs des lymphocytes T et les antigènes codés par le
CMH se produirait au niveau de la membrane de la cellule
épithéliale de la CNT. Les précurseurs seraient alors
englobés par les replis cytoplasmiques de la cellule épi-
théliale et pourraient proliférer à cet endroit.

Ainsi, les premiers travaux sur les CNTs ont
rapidement apporté des informations importantes et de nou-
velles hypothèses sur les mécanismes de la lymphopoïèse
thymique normale. Nous avons pensé que l'étude de ces com-
plexes pourrait fournir une nouvelle approche pour analy-
ser le rôle du microenvironnement, ou tout au moins d'un
de ses constituants, dans l'induction des lymphomes.

Nous avons donc étudié les changements des
interactions lympho-épithéliales existant au sein des CNTs
après un traitement leucémogène. Les radiations ionisantes
et le RadLV ont été utilisés comme agents induisant le
processus leucémogène chez la souris C57BL/Ka.

BUT ET PLAN DU TRAVAIL

Notre recherche est destinée à analyser le rôle
des "cellules nurses thymiques" (CNTs) dans la pathogénie
des lymphomes thymiques induits soit par le virus des
radioleucoses (RadLV), soit par une irradiation frac-
tionnée.

Dans la première partie de notre mémoire, nous
définirons les caractères des CNTs dans le thymus normal
et nous analyserons leur rôle dans la lymphopoïèse thymi-
que.

Le premier chapitre rapportera notre contribution
à l'identification des différents types cellulaires qui
composent le microenvironnement thymique. Dans ce but,
nous avons traité des coupes à congélation ultrafines par
différents anticorps monoclonaux qui réagissent avec les
cellules non lymphoïdes du thymus.

Dans le deuxième chapitre, nous rapporterons nos
observations sur la morphologie des CNTs isolées à partir
de thymus normaux. Nous définirons leur nombre et nous
suivrons leur évolution en fonction de l'âge. Nous cher-
cherons à préciser leur localisation dans le thymus en
utilisant une méthode de marquage topique du cortex exter-
ne. Nous tenterons en outre de les identifier au sein même
de l'organe. Dans ce but, un examen de cryofractures de
thymus sera réalisé au microscope électronique à balayage.
Nous nous efforcerons ensuite de préciser la nature des

cellules épithéliales et des cellules lymphoïdes des cellules nurses. Nous rechercherons notamment si ces cellules ont des caractéristiques qui permettent de les différencier des autres cellules du stroma et des autres lymphocytes thymiques.

Le troisième chapitre sera consacré à définir le rôle des CNTs dans la lymphopoïèse thymique. Nous utiliserons un modèle expérimental qui a été souvent utilisé pour étudier la production de lymphocytes dans le thymus, à savoir la régénération après une irradiation corporelle totale à dose sublétales, suivie ou non d'une greffe de moelle normale. Nous nous efforcerons de préciser ainsi les relations éventuelles entre les CNTs et les précurseurs de thymocytes.

Nous consacrerons le quatrième chapitre à l'analyse du mode de formation des CNTs. Nous nous intéresserons au rôle joué par certaines structures antigéniques des cellules épithéliales dans les relations que celles-ci établissent avec les thymocytes immatures.

Dans la deuxième partie du mémoire, nous étudierons le rôle des CNTs dans le développement des lymphomes thymiques induits par une inoculation de RadLV.

Dans le premier chapitre, nous rechercherons si les cellules cible, sensibles à l'action du RadLV, ainsi que les premières cellules qui assurent la réplication virale sont localisées de manière élective dans les CNTs.

Nous consacrerons le deuxième chapitre à l'étude de la longue période de latence qui précède l'apparition des lymphomes. Nous nous intéresserons essentiellement aux conditions d'apparition des "cellules préleucémiques".

Leur relation avec les CNTs sera recherchée dans le troisième chapitre. Nous étudierons également l'évolution quantitative de ces complexes lympho-épithéliaux tout au long de la période préleucémique.

Dans le quatrième chapitre, nous aborderons les relations entre la moelle et le thymus au cours de la période préleucémique.

Dans le cinquième chapitre, nous tenterons d'établir si l'apparition de cellules préleucémiques dans le thymus et leur évolution vers la transformation néoplasique s'accompagnent de modifications des caractères de différenciation des lymphocytes thymiques.

La troisième partie de notre mémoire sera consacrée à l'étude des CNTs et des cellules préleucémiques au cours de la formation de lymphomes induits par une irradiation fractionnée.

Dans un premier chapitre, l'évolution des CNTs sera suivie au cours de l'application du traitement leucémogène, puis pendant la période préleucémique. Elle sera également analysée chez des souris qui, après une irradiation fractionnée, reçoivent une greffe de moelle destinée à prévenir le développement des lymphomes. Nous rechercherons si les modifications observées peuvent être mises en relation avec des altérations des précurseurs thymocytaires et/ou des cellules de la trame thymique.

Dans le deuxième chapitre, nous nous intéresserons à l'apparition de cellules préleucémiques après une irradiation fractionnée éventuellement suivie d'une greffe de moelle normale.

A la fin de notre mémoire, nous discuterons l'ensemble de nos résultats au vu des connaissances

actuelles sur la lymphopoïèse thymique et en particulier sur le rôle des cellules non lymphoïdes du thymus. Nous nous efforcerons de voir s'ils s'intègrent dans les hypothèses qui suggèrent que des modifications profondes des mécanismes contrôlant la lymphopoïèse thymique sont responsables, au moins en partie, du développement des lymphomes thymiques.