

# Induction de la formation d'anticorps in vivo par des macrophages "sensibilisés" in vitro à la gammaglobuline humaine

Autor(en): **Cruchaud, A.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Bulletin der Schweizerischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften = Bulletin de l'Académie Suisse des Sciences Medicales = Bollettino dell' Accademia Svizzera delle Scienze Mediche**

Band (Jahr): **24 (1968)**

PDF erstellt am: **15.08.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-307742>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Laboratoire de Recherches (Laboratoire Wilsdorf),  
Clinique universitaire de Médecine, Hôpital cantonal, Genève

## **Induction de la formation d'anticorps in vivo par des macrophages «sensibilisés» in vitro à la gammaglobuline humaine<sup>1</sup>**

A. CRUCHAUD

Le rôle du système réticuloendothélial (SRE) dans le processus de synthèse des anticorps a été bien étudié tant sur le plan morphologique que sur le plan fonctionnel.

Sur le plan morphologique, on sait que les antigènes injectés sont retrouvés dans le cytoplasme des macrophages de la pulpe rouge de la rate et de la medulla des ganglions ainsi que sur les prolongements dendritiques des cellules réticuloendothéliales des follicules lymphoïdes [1-7]. Sur le plan fonctionnel, il a été établi que des macrophages ou des extraits de macrophages «sensibilisés» in vivo ou in vitro avec des antigènes corpusculaires ou des protéines sont capables d'induire une réponse immunologique primaire ou secondaire chez des animaux ou dans des cultures de tissu lymphoïde [8-12]. Certains auteurs ont attribué cette propriété à l'acide ribonucléique (ARN-messager) [8, 9, 12], tandis que d'autres ont associé le passage des antigènes à travers le SRE à une augmentation de leur immunogénicité due à leur combinaison avec l'ARN [10].

Les recherches rapportées ici ont été inspirées par les travaux mentionnés ci-dessus ainsi que par l'observation que le chloramphénicol inhibe la réponse immunologique primaire («priming») chez la souris [13] probablement en empêchant la liaison de l'ARN-messager aux ribosomes, rendant ainsi impossible la mise en séquence des acides aminés pour la synthèse des polypeptides [14]. L'utilisation du chloramphénicol est ainsi apparue comme une méthode susceptible d'éclairer le rôle de l'ARN dans le processus d'induction de la réponse immunologique par des macrophages «sensibilisés».

### *Matériel et méthodes*

*Animaux.* Des souris adultes de type suisse, d'environ 25 g, ont été utilisées dans toutes les expériences.

---

<sup>1</sup> Ce travail a été réalisé avec l'appui du Fonds national suisse de la Recherche scientifique (crédit No 3871).

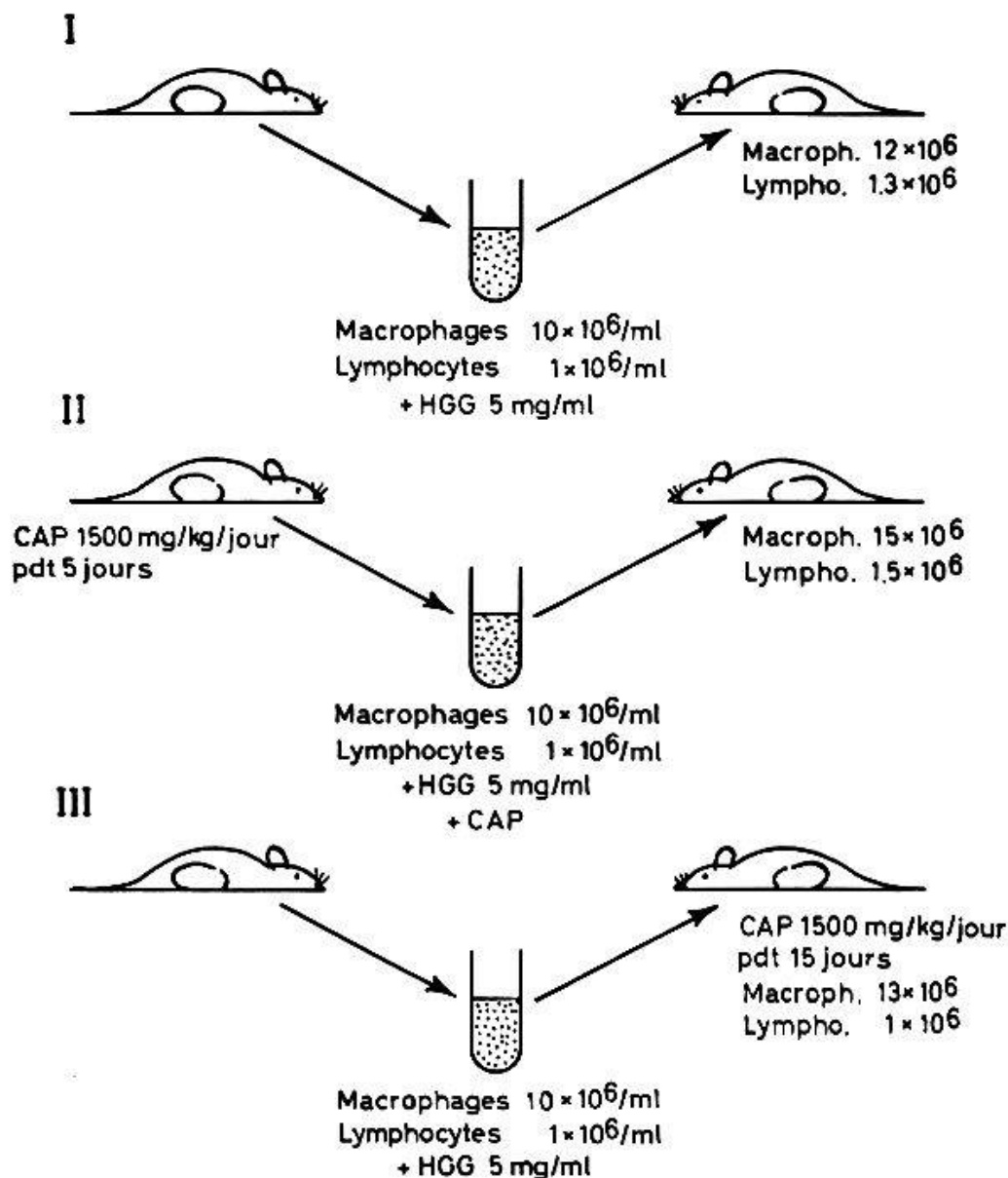


Fig. 1. Schéma des expériences pour les groupes 3 (I), 5 (II) et 6 (III). Les macrophages provenant des donneurs (à gauche) sont incubés 1 heure à  $37^\circ$  en présence de  $\gamma$ -globuline humaine (HGG) avant d'être injectés aux receveurs (à droite). - CAP: chloramphénicol.

*Macrophages.* Les macrophages ont été obtenus selon la méthode décrite par GALLILY et FELDMAN [11] avec un rendement de 87 à 90% de macrophages, 8 à 11% de lymphocytes et 1 à 2% de polynucléaires. Après lavage, ces cellules ont été incubées pendant une heure à  $37^\circ$  dans du milieu TC 199 (Difco) contenant 5 mg/ml de  $\gamma$ -globuline humaine (HGG, fraction II Pentex). Après deux nouveaux lavages, les macrophages ont été injectés à raison de  $12-15 \times 10^6$  par animal, dans la cavité péritonéale des receveurs.

*Immunisation.* La réponse immunologique primaire a été induite au jour 0, soit par l'injection i.v. de  $\gamma$ -globuline humaine (20-25 mg/kg), soit par l'administration i.p. de macrophages «sensibilisés». Une réponse secondaire a été provoquée, chez tous les animaux, par une injection i.v. de 20-25 mg/kg de  $\gamma$ -globuline humaine pratiquée au 40e jour.

*Anticorps.* Des prises de sang ont été effectuées aux 30e et 50e jours; les titres d'anticorps mesurés, chez chaque animal, par la technique d'hémagglutination passive d'hématies de mouton tannées et sensibilisées [15], sont exprimés comme le logarithme de

base 2 du dernier tube où se produit encore une agglutination et sont donnés sous la forme du titre moyen de chaque groupe.

Des groupes de 8 à 10 animaux ont été constitués, chez lesquels la réponse immuno-logique primaire a été induite de la manière suivante:

*Groupe 1:* Antigène injecté par voie veineuse.

*Groupe 2:* Antigène injecté par voie veineuse; administration de chloramphénicol (CAP) (1500 mg/kg/jour) toutes les 8 heures, par voie i.p., pendant 15 jours, en commençant 18 h avant l'immunisation.

*Groupe 3:* Immunisation au moyen de  $12 \times 10^6$  macrophages «sensibilisés» (Fig. 1, I).

*Groupe 4:* Immunisation au moyen de  $1.8$  à  $2.2 \times 10^6$  macrophages «sensibilisés» et de  $0.8$  à  $1.9 \times 10^6$  lymphocytes.

*Groupe 5:* Immunisation au moyen de  $15 \times 10^6$  macrophages «sensibilisés» provenant de donneurs soumis à un traitement de chloramphénicol de 5 jours, à raison de 1500 mg/kg/jour, par voie sous-cutanée. Ces macrophages ont été «sensibilisés» en présence de chloramphénicol ( $50 \mu\text{g/ml}$ ) (Fig. 1, II).

*Groupe 6:* Immunisation, au moyen de  $13 \times 10^6$  macrophages «sensibilisés», des receveurs traités au chloramphénicol (1500 mg/kg/jour) d'abord par voie sous-cutanée, puis par voie i.p. Début du traitement 18 h avant l'immunisation, durée 15 jours (Fig. 1, III).

### *Résultats (Fig. 2)*

*Groupe 1 (contrôle):* Un seul animal fait une réponse primaire: le titre moyen des anticorps est très bas. Tous les animaux font, en revanche, une réponse secondaire dont le titre moyen est de 4.8.

*Groupe 2:* L'administration de chloramphénicol inhibe totalement la réponse primaire; la seconde injection d'antigène ne provoque qu'une réponse semblable à la réponse primaire du groupe 1.

*Groupe 3:* L'induction de la réponse primaire au moyen de macrophages «sensibilisés» se révèle particulièrement efficace puisque 8 animaux sur 14 forment des anticorps avec un titre moyen de 2.6. Lors de la réponse secondaire, le titre est de 12.1.

*Groupe 4:* L'influence des 8-11% de lymphocytes qui contaminent régulièrement les populations de macrophages ne paraît pas être prépondérante dans l'induction de la réponse primaire. En effet, lorsqu'un nombre équivalent de lymphocytes est injecté avec 5-8 fois moins de macrophages «sensibilisés» que dans les groupes 3, 5 ou 6, la réponse primaire est comparable à celle du groupe 1; toutefois, la réponse secondaire est beaucoup plus importante que dans celui-ci.

*Groupe 5:* L'administration de chloramphénicol chez les donneurs de macrophages pendant la période de préparation de ces cellules a tendance à augmenter plutôt qu'à diminuer leur faculté d'induire une réponse primaire chez les receveurs (titre moyen 7.0). La réponse secondaire est très élevée (titre moyen 15.1).

*Groupe 6:* L'administration de chloramphénicol chez les receveurs de macrophages paraît avoir les mêmes conséquences que l'administration de cet antibiotique aux donneurs: augmentation des réponses primaire (titre moyen 5.8) et secondaire (titre moyen 14.5).

Pour chacun des groupes 3, 4 et 5, un volume du dernier liquide de lavage

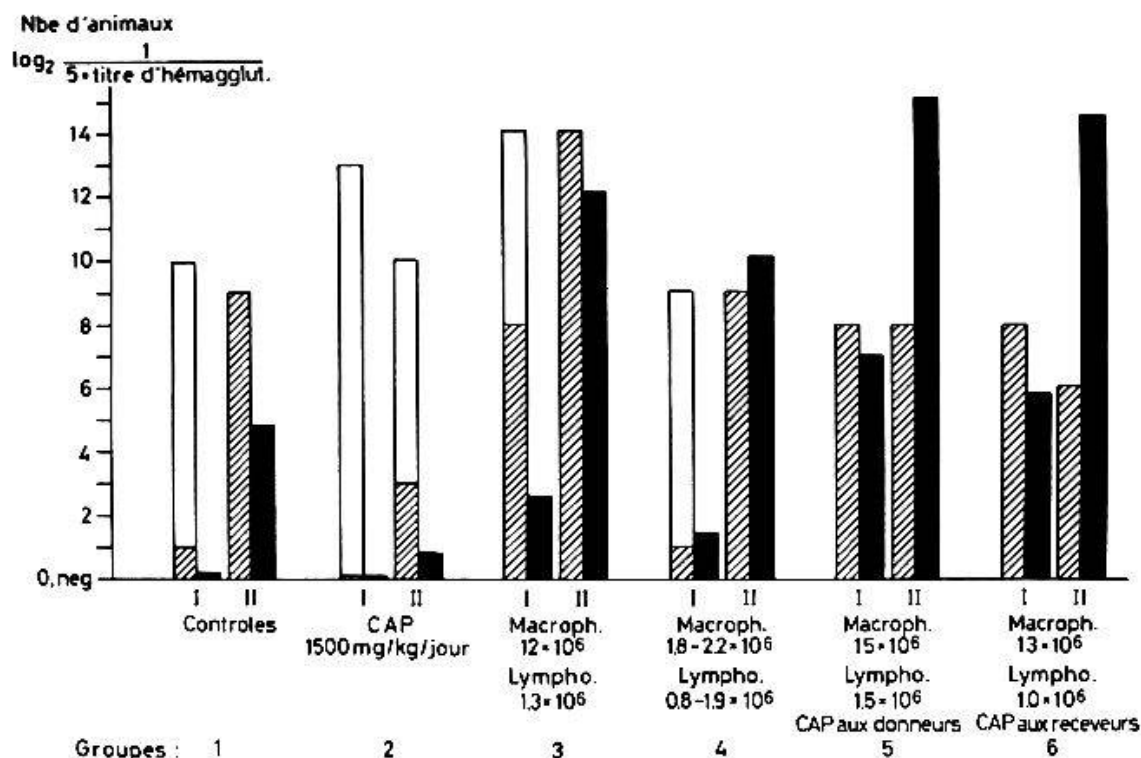


Fig. 2. Réponses immunologiques primaire (I) et secondaire (II) en fonction du mode d'immunisation et des divers traitements appliqués. La première colonne indique le nombre d'animaux de chaque groupe au moment où les réponses primaire et secondaire ont été mesurées; la partie hachurée donne le nombre des animaux qui ont fabriqué des anticorps, la partie blanche, le nombre des animaux qui n'ont pas fait de réponse. La seconde colonne indique le titre moyen des anticorps pour chaque groupe et pour chaque réponse.

des macrophages, équivalent au volume sous lequel ceux-ci ont été injectés aux receveurs, a été administré par voie i.p. à 4 souris. Dans tous les cas, celles-ci ont développé une réponse primaire identique à celle du groupe 1, démontrant ainsi que, s'il reste des traces d'antigène dans le milieu de suspension des macrophages au moment de leur injection chez les receveurs, ces traces d'antigène ne sont pas responsables de la réponse primaire. Dans ces 3 groupes, la réponse secondaire s'est située entre les valeurs du groupe 1 et celles des groupes injectés avec des macrophages «sensibilisés», avec des titres variant entre 9,8 et 12,2.

### Discussion

Les enseignements qu'on peut tirer de ces expériences nous paraissent porter essentiellement sur deux points:

1. Il est possible d'induire, au moyen de macrophages «sensibilisés» in vitro, une réponse immunologique *primaire* contre un antigène protéinique soluble.

2. Le chloramphénicol administré aux receveurs de macrophages «sensibilisés» n'inhibe pas la réponse primaire, comme il le fait lorsque l'antigène est injecté directement.

Plusieurs travaux antérieurs ont montré qu'il est possible d'induire une réponse primaire *in vivo* ou *in vitro* au moyen de macrophages «sensibilisés» avec des antigènes corpusculaires [8-12, 16] ou une réponse secondaire au moyen de macrophages «sensibilisés» avec un antigène soluble [10]. La possibilité d'induire une réponse primaire par des macrophages «sensibilisés» avec un antigène soluble, suggérée par nos expériences, doit être examinée de façon critique. En effet, DRESSER [17] ainsi que FREI et coll. [18] ont montré le rôle primordial que jouent les agrégats moléculaires spontanément présents dans les solutions de protéines; il n'est pas exclu que de tels agrégats, qui sont particulièrement immunogéniques et aisément phagocytés, aient joué un rôle prépondérant dans la «sensibilisation» de nos suspensions de macrophages. Des expériences sont actuellement en cours pour vérifier si des macrophages incubés en présence de  $\gamma$ -globuline humaine, préalablement débarrassée de ses agrégats par ultracentrifugation, induiraient également une réponse primaire.

Si l'induction de la réponse immunologique par des macrophages «sensibilisés» dépendait d'un ARN-messager passant de ces macrophages dans les cellules formatrices d'anticorps des receveurs, il semble que le traitement de ceux-ci par le chloramphénicol devrait inhiber le «priming». Ce fait n'ayant pas été démontré dans nos expériences, plusieurs hypothèses peuvent être envisagées:

a) Le chloramphénicol a été administré aux receveurs de telle manière qu'il n'a pas été immédiatement efficace sur les macrophages injectés. Ce problème du temps de latence entre l'immunisation et le début de l'action du chloramphénicol est important, puisque le fait de retarder d'une heure le début du traitement après l'injection de l'antigène diminue considérablement l'action inhibitrice de l'antibiotique [13].

b) L'effet inhibiteur du chloramphénicol sur la réponse immunologique n'est pas dû au fait qu'il empêche la liaison de l'ARN-messager aux ribosomes, mais il serait consécutif à son action secondaire sur la synthèse de l'ADN, comme l'a montré SHAH [19] et comme le suggèrent les effets immunosuppresseurs synergiques du chloramphénicol et de la 6-mercaptopurine [20].

c) L'ARN des macrophages «sensibilisés» ne joue pas de rôle prépondérant dans l'induction de la réponse immunologique, mais il agit en augmentant l'immunogénicité de l'antigène comme l'ont proposé ASKONAS et RHODES [10].

Nos résultats sont également compatibles avec l'idée, émise par UNANUE et ASKONAS [21], que le rôle des macrophages est de conserver son intégrité à une petite partie de l'antigène en la préservant d'une catabolisation rapide et en maintenant ainsi ses propriétés immunogéniques.

Les résultats des expériences rapportées ici ne permettent pas d'opérer un choix entre ces différentes hypothèses; ils doivent être de toute manière considérés comme préliminaires et des investigations sont actuellement en cours pour les confirmer et les préciser.

## Résumé

Une étude des réponses immunologiques primaire et secondaire chez des souris immunisées, soit par injection intraveineuse de  $\gamma$ -globuline humaine, soit par injection intrapéritonéale de macrophages «sensibilisés» in vitro avec cet antigène, a donné les résultats suivants:

1. L'immunisation par injection veineuse de l'antigène n'engendre pour ainsi dire pas de réponse primaire, mais elle permet, par la suite, une réponse secondaire à laquelle participent tous les animaux.

2. L'administration de chloramphénicol dès avant l'immunisation et pendant les 15 jours consécutifs inhibe la réponse primaire et le «priming».

3. L'immunisation par injection péritonéale de macrophages «sensibilisés» in vitro potentialise les réponses primaire et secondaire.

4. L'administration de chloramphénicol aux donneurs de macrophages pendant la période de préparation de ces cellules ne diminue pas leur capacité d'induire une forte réponse primaire.

5. L'administration de chloramphénicol aux receveurs de macrophages dès avant l'immunisation et pendant les 15 jours consécutifs ne diminue pas la réponse immunologique.

Ces expériences montrent la possibilité d'induire une réponse in vivo au moyen de macrophages incubés avec un antigène soluble; elles mettent en question l'importance de l'ARN-messager dans ce processus d'initiation à une synthèse d'anticorps au moyen de macrophages «sensibilisés».

## Zusammenfassung

Eine Untersuchung der primären und sekundären immunologischen Reaktionen an Mäusen, welche durch intravenöse Injektion menschlichen  $\gamma$ -Globulins oder durch intraperitonäale Injektion von «in vitro» mit diesem Antigen «sensibilisierten» Makrophagen immunisiert worden waren, zeitigte folgende Ergebnisse:

1. Die durch venöse Injektion des Antigens erfolgte Immunisierung verursacht sozusagen keine primäre Reaktion; sie ermöglicht jedoch, in der Folge, eine sekundäre Reaktion, die bei allen Tieren vorkommt.

2. Die Verabreichung von Chloramphenikol vor der Immunisierung und während 15 darauffolgender Tage hemmt die Primärreaktion und das «priming».

3. Die Immunisierung durch intraperitonäale Injektion von «in vitro» «sensibilisierten» Makrophagen verstärkt die primäre und sekundäre Reaktion.

4. Die Verabreichung von Chloramphenikol an die Makrophagenspender während der Vorbereitung dieser Zellen vermindert ihre Fähigkeit, eine starke primäre Reaktion hervorzurufen, nicht.

5. Die Verabreichung von Chloramphenikol an die Makrophagenempfänger vor der Immunisierung und während der 15 darauffolgenden Tage schwächt die immunologische Reaktion nicht ab.

Diese Untersuchungen beweisen die Möglichkeit, eine «In-vivo»-Reaktion mittels Makrophagen hervorzurufen, die mit einem löslichen Antigen inkubiert worden waren; sie stellen aber die Bedeutung des RNS-messengers in diesem zur Antikörpersynthese mittels «sensibilisierter» Makrophagen führenden Initiationsvorgang in Frage.

### Riassunto

Lo studio delle risposte immunologiche primarie e secondarie sperimentate sui topi immunizzati, sia mediante iniezione endovenosa di  $\gamma$ -globulina umana, che mediante iniezione intraperitoneale di macrofagi «sensibilizzati» in vitro con questo antigene, ha dato i risultati seguenti:

1. L'immunizzazione mediante iniezione endovenosa dell'antigene non provoca per così dire alcuna risposta primaria, ma permette in seguito una risposta secondaria alla quale partecipano tutti gli animali.

2. La somministrazione di cloramfenicolo già prima dell'immunizzazione e durante i quindici giorni consecutivi, inibisce la risposta primaria ed il cosiddetto «priming».

3. L'immunizzazione mediante iniezione peritoneale di macrofagi «sensibilizzati» in vitro potenzia le risposte primarie e secondarie.

4. La somministrazione di cloramfenicolo ai donatori di macrofagi durante il periodo di preparazione di queste cellule, non diminuisce la loro proprietà di indurre una forte risposta primaria.

5. La somministrazione di cloramfenicolo ai ricevitori di macrofagi già prima dell'immunizzazione e durante i quindici giorni consecutivi, non diminuisce la risposta immunologica.

Queste esperienze dimostrano la proprietà di indurre una risposta in vivo mediante macrofagi incubati con una sostanza antigenica solubile; tali esperienze mettono in dubbio anche l'importanza del cosiddetto ARN-messenger in questo processo d'inizio della sintesi di anticorpi mediante macrofagi «sensibilizzati».

### Summary

Primary and secondary immunologic responses have been studied in mice immunized with either human  $\gamma$ -globulin injected intravenously, or macrophages "sensitized" in vitro with this antigen and subsequently injected intraperitoneally. The following results have been obtained:

1. Intravenous immunization did not result in primary response; however it prepared all animals for a secondary response.

2. Chloramphenicol given prior to immunization, and for 15 days subsequently, inhibited the primary response and the "priming".

3. Immunization with intraperitoneal injection of macrophages "sensitized" in vitro increased both the primary and secondary responses.

4. The administration of chloramphenicol to donors of macrophages during the time of preparation did not decrease the capacity of these cells to induce a potent primary response.



5. Chloramphenicol administered to recipients of macrophages prior to immunization, and for 15 days thereafter, did not decrease immunologic response.

These results demonstrate the possibility of inducing a primary response *in vivo* with macrophages incubated *in vitro* with a soluble antigen; they question the importance of mRNA from sensitized macrophages as an inducer of immunologic response.

Nous tenons à remercier très vivement Mme CLAIRE-LISE DE MARIGNAC et M. PIERRE MEYLAN de leur précieuse collaboration.

1. KAPLAN M. H., COONS A. H. et DEANE H. W.: *J. exp. Med.* 91, 15 (1950). – 2. WHITE R. G., in: *The immunologically competent cell: its nature and its origin*, pp. 6–16 (publié par G. E. W. WOLSTENHOLME et J. KNIGHT), J. & A. Churchill Ltd., Londres 1963. – 3. NOSSAL G. J. V. et ADA G. L.: *Nature (Lond.)* 201, 580 (1964). – 4. NOSSAL G. J. V., ADA G. L. et AUSTIN C. M.: *J. Immunol.* 95, 665 (1965). – 5. COHEN S., VASSALLI P., BENACERRAF B. et McCLUSKEY R. T.: *Lab. Invest.* 15, 1143 (1966). – 6. NOSSAL G. J. V., ABBOT A. et MITCHELL J.: *J. exp. Med.* 127, 263 (1968). – 7. NOSSAL G. J. V., ABBOT A., MITCHELL J. et LUMNUS Z.: *J. exp. Med.* 127, 277 (1968). – 8. FISHMAN M.: *J. exp. Med.* 114, 837 (1961). – 9. FISHMAN M. et ADLER F. L.: *J. exp. Med.* 117, 595 (1963). – 10. ASKONAS B. A. et RHODES J. M.: *Nature (Lond.)* 205, 470 (1965). – 11. GALLILY R. et FELDMAN M.: *Immunology* 12, 197 (1967). – 12. BISHOP D. C., PISCIOTTA A. V. et ABRAMOFF P.: *J. Immunol.* 99, 751 (1967). – 13. CRUCHAUD A. et COONS A. H.: *J. exp. Med.* 120, 1061 (1964). – 14. WEISBERGER A. S., WOLFE S. et ARMENTROUT S.: *J. exp. Med.* 120, 161 (1964). – 15. STAVITSKY A. B.: *J. Immunol.* 72, 360 (1954). – 16. ARGYRIS B. F.: *J. Immunol.* 99, 744 (1967). – 17. DRESSER D. W.: *Immunology* 5, 378 (1962). – 18. FREI P. C., BENACERRAF B. et THORBECKE G. J.: *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* 53, 20 (1965). – 19. SHAH V. C.: *Cancer Res.* 23, 1137 (1963). – 20. CRUCHAUD A.: *J. Immunol.* 96, 832 (1966). – 21. UNANUE E. R. et ASKONAS B. A.: *J. exp. Med.* 127, 915 (1968).

Adresse de l'auteur: Dr A. Cruchaud, Clinique universitaire de médecine, Hôpital Cantonal, 1200 Genève.

### Discussion

H. J.-P. RYSER, Boston:

Comme l'indique l'exposé du Dr CRUCHAUD, les immunologistes acceptent implicitement que les macrophages et les cellules formatrices d'anticorps absorbent des antigènes solubles et corpusculaires. Puisque la différence d'antigénicité entre antigènes solubles (Ag) et complexés (ARN-Ag) est encore en quête d'une explication, je me demande si l'on pourrait invoquer la manière dont ces deux formes d'antigènes sont ingérés. L'une des généralisations assez inattendues de nos expériences est que les macromolécules semblent pénétrer de mieux en mieux, lorsque leur taille augmente. On pourrait ainsi proposer que les complexes ARN-Ag agissent différemment parce que leur capture est plus efficace. Cette vue serait en accord avec celle de UNANUE et ASKONAS.

A. CRUCHAUD répond:

On sait que les agrégats que constituent les complexes antigène-anticorps sont mieux phagocytés que ne le sont les molécules d'antigène isolées. Il est donc vraisemblable, en effet, que la simple liaison de l'antigène au RNA en fasse un complexe plus effica-

gement pris en charge par le système réticuloendothélial et augmente ainsi son immunogénicité.

A. DE WECK, Berne:

Est-il possible de tirer des conclusions quant à l'activité macrophagique in vivo de telles expériences in vitro? Il me semble que la concentration d'antigène utilisée lors de ces expériences est nettement plus élevée que celle à laquelle il faudrait s'attendre in vivo.

A. CRUCHAUD répond:

Il est fort possible que la concentration d'antigène relativement élevée dans le milieu d'incubation des macrophages favorise une bonne prise en charge de cet antigène, augmentant ainsi son immunogénicité. Il n'est évidemment pas possible de calculer à quelles concentrations d'antigène les macrophages sont exposés in vivo, mais il serait intéressant de varier ces concentrations in vitro et de voir si ces modifications entraînent des variations de la réponse immunologique chez les receveurs de macrophages.